



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR**

POLLYANA CRISTINA VASCONCELOS DE MORAIS

DIAGNÓSTICO AMBIENTAL DA POLUIÇÃO POR ESGOTOS UTILIZANDO  
INTERFERENTES ENDÓCRINOS E ESTERÓIS FECAIS - LAGOA DO CATÚ,  
AQUIRAZ – CEARÁ.

FORTALEZA-CE

2014

POLLYANA CRISTINA VASCONCELOS DE MORAIS

DIAGNÓSTICO AMBIENTAL DA POLUIÇÃO POR ESGOTOS UTILIZANDO  
INTERFERENTES ENDÓCRINOS E ESTERÓIS FECAIS - LAGOA DO CATÚ,  
AQUIRAZ – CEARÁ.

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar, Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre, outorgada pela Universidade Federal do Ceará.

Orientador: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.

FORTALEZA-CEARÁ

2014

POLLYANA CRISTINA VASCONCELOS DE MORAIS

DIAGNÓSTICO AMBIENTAL DA POLUIÇÃO POR ESGOTOS UTILIZANDO  
INTERFERENTES ENDÓCRINOS E ESTERÓIS FECAIS - LAGOA DO CATÚ,  
AQUIRAZ – CEARÁ.

Dissertação submetida à coordenação de Curso de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais, outorgado pela Universidade Federal do Ceará.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante (Orientador)

Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Francisco Wagner de Sousa

Membro interno

---

Prof. Dra. Mona Lisa Moura de Oliveira

Membro externo

Fortaleza, 03 de fevereiro de 2014

A Deus.

A minha mãe, Sheila.

Ao meu irmão, Júnior .

Ao sol, lua, vento, mar, ar, ao Universo, a Vida.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pois se não fosse minha fé não teria esperança na vida.

À minha mãe, pelo exemplo de força e mulher. Você é minha estrela guia. Fonte de tranquilidade, segurança e apoio.

Ao meu irmão Júnior, pelas cobranças por vitórias, ideais e sentimentos. Suas cobranças me fazem querer ser melhor a cada dia, superar a mim mesmo todos os dias.

Ao meu pai, que mesmo sem entender os meus objetivos de vida se orgulha de quem sou.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante pela dedicação, incentivo, apoio, puxões de orelha, conselhos. Quando eu crescer quero ser uma pesquisadora como você.

Aos meus colegas do Laboratório de Análise de Contaminantes Orgânicos (LACOr), Andrezão, Allyne, Camile, Danielle, Gabi, Lara, Marcy, Melissa, Felipe e Wersângela, e também aos agregados queridos Vitor e Artemizia, pelo companheirismo e momentos de descontração, principalmente pela ajuda na realização deste trabalho. Pela felicidade que é estar junto de vocês.

Ao Programa Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar (Labomar), da Universidade Federal do Ceará, na pessoa do seu coordenador Prof. Dr. Tito Lotufo, pelo apoio recebido.

Aos Laboratório de Análise de Traço (LAT), Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP), Laboratório de Geologia e Geomorfologia Costeira e Oceânica (LGCO), pelo apoio para a execução do trabalho.

À professora Lidriana Pinheiro e Lysandra, pelo apoio e colaboração para o desenvolvimento e finalização desta pesquisa.

Aos meus amigos da turma de Mestrado 2012.1: Juliana, Carol, Renan, Daku, Sansil, Eduardo, Maciel, Natália.

Aos amigos que essa fase da minha vida me trouxe: Erika, Nívia, Andrea, Ana Luzia, Lidiane, Liana Pinho, Marcela, Daniel, Pedro Filipe. Aprendi e tenho muito a aprender tanto na vida com um todo.

Aos meus amigos que me acompanham a muito tempo, Luciane (Luh), Diana, Michelle, Alana, Felipe, Isabel, Dina, as boas vibrações que vocês me transmitem me fazem ser melhor e maior. Em especial a Luh, porque ela é especial e duradoura na minha vida.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições e disponibilidade em avaliar o trabalho

Ao projeto PRONEM-FUNCAP/CNPQ - Análise integrada dos recursos hídricos na Zona Costeira do Estado do Ceará: Potencialidades de usos, impactos e conservação ambiental, na pessoa da coordenadora do projeto professora Dr. Lidriana de Souza Pinheiro e do órgão financiador FUNCAP, pelo suporte financeiro, infraestrutura e apoio logístico.

A CAPES e CNPq pela bolsa de pesquisa cedida e recursos.

*“Entrego,  
Confio,  
Aceito e  
Agradeço.”*

*Professor Hermógenes*

## RESUMO

O aporte de esgotos sanitários em áreas costeiras ocorre frequentemente em locais que possuem urbanização rápida e sem ordenamento adequado para tal processo impactante. O ecossistema aquático receptor de efluentes contém sedimentos contaminados, devido a acumulação de compostos tóxicos, esse cenário pode apresentar eutrofização, alterações na biodiversidade; danos à saúde ambiental e conseqüentemente à saúde humana, além dos prejuízos ao turismo, à balneabilidade e às atividades econômicas. Os esteróis fecais e interferentes endócrinos são marcadores moleculares usados como indicadores de poluição por esgotos domésticos, devido sua estabilidade ambiental e alta especificidade com a fonte. O trabalho foi feito na lagoa costeira do Catú, localizado em Aquiraz/CE. A área de estudo apresenta grande urbanização e deficiência na infraestrutura de saneamento básico, além de apresentar relevante importância para a região. Portanto, este trabalho tem como objetivo principal avaliar o grau de contaminação promovido pelo lançamento de esgoto através da determinação de marcadores moleculares por CG-EM. Foram realizadas amostragens de sedimento superficial em 14 pontos da área de estudo. Em laboratório foram realizadas técnicas analíticas para a identificação e quantificação dos compostos de interesse no sedimento (extração, *clean-up*, derivatização e análise cromatográficas) e para sua correlação com as características sedimentar (granulometria e matéria orgânica). A concentração de esteróis totais variou de 1189,53 a 30308,02 (ng/g) e dos interferentes endócrinos variou de 1335,16 e 11567,83 (ng/g). Ambos os marcadores não apresentaram correlação significativa com a matéria orgânica. Para confirmar o diagnóstico de contaminação foram usados os índices diagnósticos de impacto dos esteróis, onde foi constatado que a área está contaminada.

**Palavras-chave:** Marcador molecular. Esteróis Fecais. Interferentes Endócrinos. Sedimento.

## ABSTRACT

The contribution of sewage in coastal areas often occurs in places that have quickly and without proper planning process for such impact urbanization. The aquatic ecosystem effluent's receiving contains contaminated sediments due to accumulation of toxic compounds, this scenario could present eutrophication, changes in biodiversity, damage to environmental health and consequently human health, besides the damage to tourism, bathing and economic activities. The fecal sterols and endocrine interfering molecular are markers used as indicators of pollution by domestic sewage, due to its environmental stability and high specificity to the source. The work was done in the Catú coastal lagoon, located in Aquiraz / CE. The study area presents a great urbanization and impaired in basic sanitation, as well as presenting relevant importance to the region. Therefore, this study aims to assess the degree of contamination promoted by discharge of sewage through the determination of molecular markers by GC-MS. Samples of surface sediment were taken at 14 points of the study area. Laboratory analytical techniques were performed for the identification and quantification of compounds in the sediment of interest (extraction, clean-up, derivatization and chromatographic analysis) and its correlation with the sediment characteristics (grain size and organic matter). The concentration of total sterols varied from 1189.53 to 30308.02 (ng / g) and estrogens varied from 1335.16 and 11567.83 (ng / g). Both markers showed no significant correlation with organic matter. To confirm the diagnosis of contamination diagnoses impact indices of sterols were used, it was found that the area is contaminated.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura básica dos esteróis.....	21
Figura 2 - Localização e acesso a Lagoa do Catú.....	30
Figura 3 - Pontos de amostragem de sedimentos superficiais na lagoa do Catú. ....	33
Figura 4 - Fluxograma do procedimento de análise realizado com o sedimento.....	38
Figura 5 – Equipamentos usados no procedimento de extração: rotaevaporador (A), banho ultrassom (B), centrífuga (C). ....	41
Figura 6 - Coluna de <i>clean up</i> .....	42
Figura 7 – Exemplo da reação de derivatização.....	43
Figura 8 - Rampa de temperatura para separação dos analitos de interesse.....	44
Figura 9 - Comparação entre os cromatogramas do branco da coluna e do ponto da curva para IE (A) e esteróis (B).....	49
Figura 10 - Mapa de distribuição de IEs na lagoa do Catú .....	58
Figura 11 - Mapa de distribuição de esteróis na lagoa do Catú.....	62

**LISTAS DE TABELAS**

Tabela 1- Características dos esteróis estudados.....	22
Tabela 2 – Descrição dos esteróis para identificação de suas possíveis fontes. ....	23
Tabela 3 – Índices diagnósticos: relações entre esteróis aplicados neste estudo.....	24
Tabela 4- Características dos interferentes endócrinos estudados. ....	27
Tabela 5 - Frações retiradas do extrato, solventes utilizados e compostos obtidos. ....	42
Tabela 6 - Tempos de retenção (TR) e relação massa/carga (m/z) dos esteróis e IEs .....	45
Tabela 7 – Parâmetros para determinação da linearidade do método. ....	50
Tabela 8 – Dados de estimativa da linearidade por meio dos LD e LQ. ....	51
Tabela 9 - Estimativa da fidelidade pela repetibilidade do padrão interno.....	52
Tabela 10 - Classificação granulométrica das amostras de sedimentos e resultados do teor de MO..	53
Tabela 11 – Concentrações de IEs na lagoa do Catú. ....	54
Tabela 12 – Valores de concentração de IEs em sedimentos observados na literatura. ....	56
Tabela 13 - Gráfico de comparação das concentrações obtidas pelo COP e $\Sigma$ Esteróis totais .....	59
Tabela 14 – Faixas de concentração do esterol fecal coprostanol em sedimentos em diferentes estudos.....	60
Tabela 15 – Resultados dos índices utilizados neste estudo.....	63
Tabela 16 – Valores de referência dos índices diagnósticos usados para avaliação de aporte de esgoto na área de estudo.....	65
Tabela 17 – Diagnóstico da lagoa com base nos índices de relação entre os esteróis .....	65
Tabela 18 - Valores usados para calcular o coeficiente de correlação <i>pearson</i> ( <i>r</i> ) entre esteróis e frações granulométricas e matéria orgânica (MO) .....	67

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>2.1.</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	17
<b>2.2.</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	17
<b>3.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
<b>3.1.</b>	<b>Ambientes costeiros</b> .....	18
<b>3.2.</b>	<b>Marcadores moleculares</b> .....	20
<b>3.1.1</b>	<b>Esteróis</b> .....	21
<b>3.1.2</b>	<b>Interferentes endócrinos (IE)</b> .....	25
<b>3.3.</b>	<b>Sedimento</b> .....	28
<b>4.</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO</b> .....	30
<b>4.1.</b>	<b>Localização e acesso</b> .....	30
<b>4.2.</b>	<b>Características gerais de Aquiraz</b> .....	31
4.2.1.	Aspectos climáticos.....	31
4.2.2.	Componentes Ambientais.....	31
4.2.3.	Aspectos socioeconômicos.....	31
<b>5.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
<b>5.1.</b>	<b>Procedimento experimental</b> .....	33
5.1.1	Coletas.....	33
5.1.2	Preparação das amostras.....	34
<b>5.2.</b>	<b>Análise granulométrica</b> .....	35
5.2.1.	Peneiramento Úmido e Pipetagem.....	35
5.2.2.	Peneiramento seco.....	36
<b>5.3.</b>	<b>Determinação do teor de Matéria Orgânica (MO)</b> .....	36
<b>5.4.</b>	<b>Determinação de Esteróis e Interferentes Endócrinos (IE)</b> .....	37
5.4.1.	Preparo das soluções para curva de calibração.....	39
5.4.2.	Técnica de extração.....	40
5.4.3.	Procedimento de <i>clean-up</i> .....	41
5.4.4.	Derivatização.....	43
5.4.5.	Identificação dos Esteróis e Interferente Endócrinos.....	43

5.4.6.	Validação do método cromatográfico.....	45
5.4.7.	Controle de qualidade .....	47
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>6.1.</b>	<b>Validação do método de análise por CG-EM .....</b>	<b>49</b>
6.1.1.	Seletividade .....	49
6.1.2.	Linearidade e Curva de calibração .....	50
6.1.3.	Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ).....	51
6.1.4.	Fidelidade .....	51
<b>6.2.</b>	<b>Caracterização sedimentar .....</b>	<b>53</b>
<b>6.3.</b>	<b>Distribuição IE em sedimento da Lagoa do Catu.....</b>	<b>54</b>
<b>6.4.</b>	<b>Distribuição de esteróis em sedimento.....</b>	<b>58</b>
<b>6.5.</b>	<b>Índices para diagnóstico ambiental.....</b>	<b>63</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A água é um dos bens naturais mais importantes para diversos setores da vida humana, porém sua utilização está comprometida, em razão do uso irracional que resulta em poluição muitas vezes a níveis irreversíveis. Diante dessa realidade Chong, Jin e Saint (2010) afirmam que com o rápido crescimento populacional, a forte industrialização, condições climáticas cada vez mais extremas vêm se esgotando a porção de água potável existente no planeta. Isso tem mobilizado as pesquisas científicas com o objetivo de preservar e recuperar esse importante recurso natural.

As lagoas costeiras são exemplos concretos dessa situação, pois sofrem com a intensa de utilização, uma vez que estão alocadas em regiões de forte pressão demográfica. Devido à proximidade a centros urbanos, esses ecossistemas representam áreas de interesse para uma ampla variedade de atividades humanas e, conseqüentemente, estão sujeitos a diversos aportes antrópicos (SEYFFERT, 2008).

Nascimento e Carvalho (2003) afirmam que na zona costeira há o desenvolvimento de diversas atividades que influenciam seus ambientes: atividades urbanas, recreativas, portuárias, industriais, pesqueiras e desmatamentos que acabam por modificar a estrutura dos ciclos biogeoquímicos. Levando em consideração que saúde, o bem-estar e, em alguns casos, a própria sobrevivência das populações costeiras depende das condições ambientais dos sistemas costeiros pode-se declarar que essa realidade é preocupante. Essa situação tem causado preocupação crescente a todos que se beneficiam direta ou indiretamente da zona costeira (EGANHOUSE; SHERBLUM, 2001).

Os aportes antropogênicos mais comumente encontrados nas regiões estuarinas e costeiras referem-se a despejos de material dragado, efluentes urbanos e industriais, lixiviação de áreas rurais e aportes atmosféricos, os quais podem acarretar na contaminação e/ou poluição ambiental (CLARK, 2001).

O lançamento de esgotos sanitários, com ou sem tratamento prévio, em corpos hídricos é um dos tipos de impacto negativo mais frequente em locais com rápido crescimento da população, urbanização desenfreada e sem infraestrutura que suporte esse desenvolvimento (ISOBE *et al.*, 2002). Esse quadro é consequência da carência em infraestrutura de

saneamento básico enfrentada pelo Brasil e desrespeito a legislação ambiental brasileira, como por exemplo, a Resolução CONAMA 357/2005, que estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

Devido ao reconhecimento da ampla diversificação e distribuição de contaminantes presentes nos ecossistemas marinhos e costeiros, surge à necessidade de ir além da identificação e quantificação dos contaminantes, é imprescindível relacioná-los com suas fontes e origens. Assim será possível avaliar os impactos provenientes dos compostos e propor medidas mitigadoras para cada situação, além de facilitar o cumprimento das legislações ambientais.

Dentro dessas circunstâncias há a utilização de moléculas ou grupo de moléculas que possam ser relacionadas inconfundivelmente a origens específicas, conceito de marcadores moleculares (EGANHOUSE, 1997). Um grande grupo de moléculas tem sido usado como marcadores moleculares de origem biogênica e antrópica, entre eles destacam-se os traçadores de contaminação urbana (esteróis fecais, alquilbenzenos, cafeína, perturbadores endócrinos) e os traçadores de contaminação por combustíveis fósseis (hidrocarbonetos) (BAYONA e ALBAIGÉS, 2006).

Uma das características mais evidentes dos marcadores moleculares, em geral, é a hidrofobicidade, ou seja, segundo Takada e Eganhouse (1998) se ligam preferencialmente nos compartimentos particulados (material particulado em suspensão, sedimento de fundo e biota), não sendo significativamente encontrados na fração dissolvida. E também são resistentes às mudanças ambientais (MARTINS, 2001; SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006) o que os difere dos biomarcadores (bactérias coliformes, estreptococos, dentre outros), que é outra forma de identificar a contaminação por efluentes sanitários (ISOBE *et al.*, 2002).

No presente estudo foram usados esteróis fecais e interferentes endócrinos como marcadores moleculares antropogênicos na matriz ambiental sedimento para diagnosticar a contaminação existente na Lagoa do Catú.

A contaminação por esgotos domésticos no ambiente aquático é o principal tipo de contaminação avaliada através do mapeamento dos esteróis, valendo-se das vantagens de boa especificidade e do elevado tempo de meia-vida nos sedimentos anaeróbicos, da ordem de décadas (TAKADA e EGANHOUSE, 1998). A avaliação desse tipo de contaminação é

reforçada pela identificação de interferentes endócrinos, já que os excrementos humanos presentes no esgoto sanitário representam a principal fonte de contaminação por estrogênios no meio ambiente (PESSOA, 2012).

A representatividade da Lagoa do Catú para ser área de estudo é explicada pela “litoralização” do município de Aquiraz-Ce (OLIVEIRA e MEIRELES, 2010) que intensificou o setor imobiliário na região, havendo o uso e ocupação das suas áreas de proteção permanentes do ecossistema por mansões e *resorts*. E o principal fator de importância desse ambiente lacustre é a sua responsabilidade por 30% do abastecimento de água de Aquiraz, município que de acordo com IPECE (2012) apresenta uma frágil infraestrutura de saneamento, com taxa de cobertura urbana de esgoto de apenas 22,41 (%). Assim, o presente trabalho visa diagnosticar o tipo de contaminação existente na Lagoa do Catú e com isso alertar sobre o indevido lançamento de esgotos no ambiente e fornecer subsídios para programas de monitoramento e gestão ambiental do local.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

O presente estudo tem como objetivo principal realizar um diagnóstico ambiental da Lagoa do Catu, localizada no município de Aquiraz, Região Metropolitana de Fortaleza, através da identificação e quantificação dos marcadores moleculares antropogênicos: Esteróis Fecais (EFs) e Interferentes Endócrinos (IEs).

### **2.2. Objetivos específicos**

- Validação da metodologia cromatográfica para a quantificação de Esteróis e Interferentes Endócrinos extraídos de sedimento.
- Determinar as concentrações de Esteróis e Interferentes Endócrinos.
- Diagnóstico ambiental através dos índices de impacto.
- Verificar parâmetros governantes na distribuição de Esteróis e Interferentes.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1. Ambientes costeiros**

Os Ambientes Costeiros e Marinhos constituem um bioma com uma grande diversidade de ecossistemas, que são responsáveis por diferentes tipos de paisagens existentes na costa brasileira, tais como: os estuários, os manguezais, a restinga, as praias, os recifes de coral e muitos outros. Esses ambientes abrigam uma alta diversidade de espécies animais e vegetais, que costumam circular nesses ecossistemas durante seus ciclos de vida, essas características explicam o interesse do ponto de vista socioambiental pelos mesmos (PROBIOEA, 2011).

Para Brandão (2008) “a zona costeira é o resultado da interconexão entre componentes da geosfera (continente), hidrosfera (oceano) e atmosfera. Caracterizam-se como áreas de elevada vulnerabilidade à degradação de seus recursos naturais, frente a atividades humanas inadequadas”.

De acordo com a Resolução nº 005/97, a zona costeira abrange um mosaico de ecossistemas de alta relevância ambiental, cuja diversidade é marcada pela transição de ambientes terrestres e marinhos, que por consequência dessa transição tem caráter de fragilidade que requer atenção especial do poder público (MMA - MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 1997).

Em termos de área de abrangência a região costeira brasileira se estende por 7.300 km e sua diversidade biológica não se encontra igualmente distribuída. Nesse contexto há praias arenosas e lodosas que exemplificam os sistemas de baixa diversidade, devido a ausência de superfícies disponíveis para fixação e pela limitada oferta de alimentos; As restingas e costões rochosos são consideradas intermediárias em relação à biodiversidade, enquanto as lagoas costeiras e os estuários são sistemas férteis, servindo de abrigo e região de criadouro para numerosas espécies; Os manguezais apresentam elevada diversidade estrutural e funcional, atuando, juntamente com os estuários, como exportadores de biomassa para os sistemas adjacentes. E Finalmente, os recifes de corais comportam uma variedade de espécies animais próxima àquela observada nas florestas tropicais úmidas (MMA, 2002).

Diante de tal riqueza ambiental há o uso indiscriminado, que traz consequências socioambientais negativas. Isso pode ser confirmado no relatório GEO Brasil 2002 – Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil onde afirma-se que os ambientes marinhos

e costeiros do Brasil sofrem com a degradação ambiental, gerada pela crescente pressão sobre seus recursos naturais e pela capacidade limitada de absorverem os impactos resultantes. Os principais impactos ambientais ocorrentes na zona costeira brasileira são: a introdução de nutrientes, alteração e destruição de habitats, alterações na sedimentação, superexploração de recursos pesqueiros, poluição industrial, principalmente de poluentes persistentes, e até a introdução de espécies exóticas (IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2002).

Esses impactos são comuns nesses ambientes porque “a maior parte da população mundial vive em zonas costeiras, e há uma tendência permanente ao aumento da concentração demográfica nessas regiões” (MMA, 1997). O Brasil é um país de formação colonial, a ocupação de seu território ocorreu a partir dos núcleos costeiros. Com isso, suas primeiras áreas de adensamento populacional se localizaram na zona litorânea, essa estrutura condicionou uma concentração populacional na zona costeira, a qual perdura até a atualidade (IBAMA, 2002).

Além da contribuição histórica a ocupação desse ambiente é influenciada por diversos fatores como: atividades de lazer, pesca comercial e recreativa, maricultura, transporte marinho, esportes aquáticos, uso dos terminais portuários, indústrias de pesca e turismo, entre muitas outras (SERAFIM & HAZIM, 2006).

Em meio aos múltiplos usos dos sistemas lacustres é necessário reconhecer água como essencial à vida, pois é um recurso ambiental imprescindível para quase todas as atividades humanas, sendo elas atividades básicas, atividades econômicas ou até atividades de lazer.

Tucci, Hespanhol, Cordeiro Netto (2001) afirmam que as grandes concentrações urbanas brasileiras apresentam condições críticas de sustentabilidade devido ao excesso de cargas de poluição doméstica e industrial e à ocorrência de enchentes urbanas, que contaminam um dos recursos naturais imprescindíveis a manutenção da vida: os mananciais hídricos.

De maneira geral, a contaminação do ambiente marinho ocorre principalmente em águas costeiras onde os estuários são particularmente afetados (KENNISH, 1997). Pois de acordo com Weber (1992) a introdução de material antrópico no ambiente marinho além de ser pontual, normalmente é feita nas partes rasas da zona costeira, onde a circulação local não permitirá a distribuição dos resíduos na condição da diluição infinita esperada.

Diante do exposto a definição de estuário explica o porquê de esse sistema ser especialmente afetado: “os estuários podem ser definidos como corpos d`água parcialmente fechados, localizados na interface entre o ambiente terrestre e o oceânico, onde a água do mar sofre diluição mensurável com a água doce proveniente da drenagem terrestre” (PRITCHARD, 1952).

Essa contaminação certamente é proveniente dos usos feitos do ambiente costeiro, então seus agentes são: os esgotos domésticos, barcos, deposição atmosférica, agricultura e atividades de aqüicultura intensivas em algumas regiões costeiras (GOLDBURG et al., 2001).

Em meio da situação exposta dos ambientes costeiros Connel e Hawer (1991) e Unep (1992) corroboram que é de total necessidade o levantamento das fontes de contaminação do ambiente para elaborar medidas que possam diminuir os efeitos negativos da introdução de xenobiontes nesses ecossistemas.

### **3.2. Marcadores moleculares**

Devido da ampla distribuição e a abundância de contaminantes presentes nas matrizes ambientais (ar, água, solo, sedimento e biota), em especial, nos ecossistemas marinhos e costeiros, muitos estudos vem sendo realizados nessas regiões, a fim de identificar e quantificar os contaminantes (EGANHOUSE, 1997). Com essas informações é possível voltar às pesquisas para entender o comportamento, destino, efeitos e impactos de contaminantes potencialmente tóxicos. Para entender todas as características de determinado contaminante é imprescindível relacioná-los com as fontes e origens da contaminação.

Diante da necessidade de se conhecer as fontes de contaminantes entra o uso dos marcadores moleculares. Na literatura o termo marcador molecular tem sido aplicado para designar compostos ou grupo de compostos que, a partir de sua estrutura distinta, possam ser relacionados inequivocamente aos suas origens específicas (PHILP, 1985; EGANHOUSE, 1997; PETERS *et al.*, 2005; TAKADA E EGANHOUSE, 1998).

Assim sendo, a observação de um desses compostos no ambiente necessariamente indica a presença de uma fonte específica (EGANHOUSE, 1997). Tais compostos são relativamente

estáveis, possuindo elevada resistência aos processos de intemperismo e biodegradação, sendo, dessa forma, facilmente correlacionadas às fontes de contaminação (EGANHOUSE, 1997). EGANHOUSE *et al.* (1983) ainda afirma que os marcadores químicos podem permanecer no sedimento por longos períodos devido essas propriedades químicas.

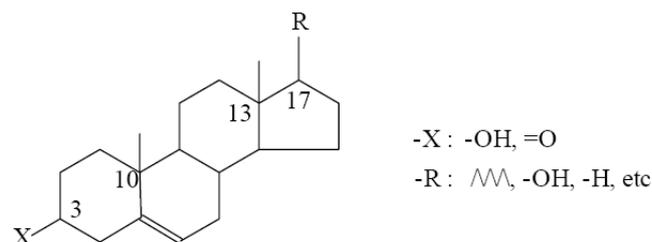
Quando o marcador molecular é utilizado para obter informações sobre fonte a similaridade e/ou a diferença entre as propriedades físico-químicas do marcador molecular e do contaminante de interesse devem ser consideradas. A propriedade mais importante que controla a concentração de poluente num ambiente aquático é a solubilidade, daí a relevância de se conhecer o coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) (chamado também de índice de hidrofobicidade) e da solubilidade dos compostos (TAKADA E EGANHOUSE, 1998).

No presente estudo os marcadores moleculares estudados foram os esteróis e os interferentes endócrinos que serão descritos melhor abaixo.

### 3.1.1 Esteróis

Os esteróis são compostos com uma grande variedade estrutural e que apresentam um esqueleto carbônico básico constituído de 17 a 30 átomos de carbono, podendo apresentar grupos metílicos em especial nos carbonos 10 e 13 (LOURENÇO, 2003). Apresentam um grupo hidroxila ligado na posição 3, o que lhes garante propriedades químicas semelhantes aos álcoois, sendo assim chamados de esteróis. Em alguns casos, o grupo hidroxila na posição 3 pode estar protegido, sob a forma de um grupo cetônico, caracterizando as esteronas e estanonas (SEYFFERT, 2008)(Figura 1).

**Figura 1-** Estrutura básica dos esteróis.

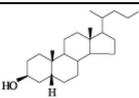
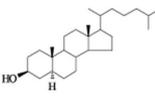
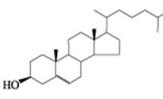
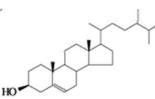
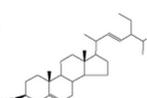
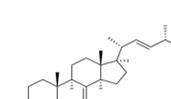
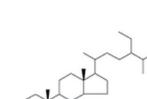


Fonte: Martins, 2008

Álcoois, esteróis e cetonas são classificados como bons marcadores moleculares por apresentarem especificidade com a fonte, resistência à ação microbiana e possível quantificação em baixas concentrações (CANUEL, 2001; SALIOT *et al.*, 1991). Os esteróis apresentam resultados satisfatórios na determinação da origem de matéria orgânica (CARREIRA *et al.*, 2009; WATERSON; CANUEL, 2008), bem como na detecção de aporte de esgotos em ambientes aquáticos (MARTINS *et al.*, 2008a)

O uso dos esteróis como indicadores de contaminação fecal é particularmente aplicável a regiões onde há um adensamento alto das zonas populacionais e industriais (SEYFFERT, 2008), principalmente em locais que não há tratamento de esgoto e seu despejo é feito sem critério algum (Tabela 1).

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

Composto	Estrutura	Nome oficial (IUPAC)	Fórmula molecular	Log Kow
Coprostanol		5b-colestan-3b-ol	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O	9,4
Colestanol		5a-colestan-3b-ol	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O	9,4
Colesterol		colest-5-e-m-3b-ol	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O	8,7
Campesterol		24-metilcolest-5-em-3b-ol	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O	8,8
Estigmasterol		24-etilcolest-5,22(E)-dien-3b-ol	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	8,6
Ergosterol		Ergosta-5,7,22-trien-3β-ol	C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O	7,4
β - sitosterol		24 β -etil-colestan-5-en-3β-ol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	9,3

A determinação de esteróis fecais é proposta como uma avaliação alternativa da poluição ambiental de origem fecal (MARTINS *et al*, 2008). Alguns esteróis encontrados nos sedimentos podem ter sua origem de fontes naturais, podendo citar o colesterol, campesterol,  $\beta$ -sitosterol, colestanol, estigmasterol, entre outros (Tabela 2). Além desses naturais, são também encontrados o coprostanol e o epicoprostanol, sendo denominados esteróis fecais (BRAUN, 2006), esses são os esteróis mais citados em estudos de determinação do impacto dos esgotos (MARTINS, 2008a). Três esteróis (colesterol, coprostanol e colestanol) receberam maior enfoque na realização desse trabalho por serem utilizados em índices que viabilizam o estudo da contaminação fecal humana no ambiente, sendo denominados esteróis fecais. Contudo outros esteróis foram identificados e quantificados, pois fornecem informações sobre os níveis naturais dos compostos orgânicos no local e sobre como os aportes antrópicos podem ser responsáveis por alterá-los.

**Tabela 2** – Descrição dos esteróis para identificação de suas possíveis fontes.

<b>Nome usual</b>	<b>Descrição da fonte</b>	<b>Informação ambiental</b>
<b>Coprostanol</b>	Bio marcador fecal; quantidade relativa indica contaminação fecal recente	Contaminação fecal humana
<b>Colesterol</b>	Esterol mais onipresente; abundante no fito e no zooplâncton	Fito e zooplâncton
<b>Colestanol</b>	Redução química do colesterol	Atividade microbiana
<b>Campesterol</b>	Origem terrestre, tipicamente de plantas superiores	Fonte de matéria orgânica
<b>Estigmasterol</b>	Usualmente usado como esteroide terrestre; plantas superiores	Fonte de matéria orgânica
<b>Ergosterol</b>	Decomposição realizada por fungos	Biomassa de fungos
<b><math>\beta</math> - sitosterol</b>	Usualmente usado como esteroide terrestre; plantas superiores	Fonte de matéria orgânica

Fonte: Adaptado de Pratt (2005); Pratt *et al.* (2008)

Segundo Volkman (2005) o coprostanol é um esteroide amplamente utilizado, desde os anos 60, como marcador molecular para avaliar e monitorar a contaminação por efluentes domésticos em ambientes aquáticos. Fattore *et al.* (1996) e Carreira *et al.* (2001) explicam que o coprostanol é considerado de origem fecal devido a sua presença nas fezes de animais

superiores, principalmente, o homem, sendo formado pela da hidrogenação (redução) bacteriana do colesterol no intestino desses animais

O coprostanol é o esteroide fecal mais utilizado como marcador de poluição por esgotos em corpos hídricos (TAKADA; EGANHOUSE, 1998). Porém, não existe um consenso sobre uma concentração de coprostanol que determine uma contaminação fecal, por isso é necessária a determinação de intermediários da redução do colesterol em coprostanol (coprostanona, colestano e colestanol) para o uso de índices derivados da relação entre a concentração de coprostanol e de outros compostos estruturalmente relacionados (CARREIRA *et al.*, 2001; GRIMALT *et al.*, 1990; TAKADA; EGANHOUSE, 1998).

Diversos índices considerando razões de concentração de diferentes marcadores moleculares podem ser utilizados na avaliação tanto do grau de impacto no ecossistema como para obter informações sobre sua persistência no ambiente (TAKADA E EGANHOUSE, 1998).

No presente trabalho, foram calculados alguns índices comumente encontrados na literatura, de forma a avaliar a condição ambiental do ambiente de estudo. Uma lista dos índices utilizados, assim como as informações ambientais que podem ser obtidas de cada um deles, estão apresentados na tabela 3.

Os valores obtidos nessas relações tendem a distinguir as fontes dos esteróis e a estimar o grau de contaminação da área estudada (CORDEIRO, 2006).

**Tabela 3** – Índices diagnósticos: relações entre esteróis aplicados neste estudo.

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

COL/(COL+ COLN)	Degradação preferencial e contribuição de esgoto	> 0,7	< 0,7	CHALAUX <i>et al.</i> (1995)
COP/∑esteróis (%)	Contribuição de esgoto	>5-6 %	-	HATCHER E MCGILIVARY (1979)

Legenda: COP (coprostanol); COLN (colestanol); COL (colesterol).  
Fonte: Adaptado de CORDEIRO (2006)

### 3.1.2 Interferentes endócrinos (IEs)

Há diferentes denominações dadas para esses compostos na literatura tais como: disruptores endócrinos, interferentes endócrinos e agentes hormonalmente ativos, perturbadores endócrinos, desreguladores endócrinos e na literatura internacional corresponde aos endocrine disrupting compounds (EDC). Para facilitar o desenvolvimento do presente texto o termo que será usado será interferentes endócrinos (IEs).

Também existem muitas definições para as substâncias capazes de interferir no sistema endócrino. Assim sendo, a Comunidade Científica Europeia, em 1996, durante a Conferência de Weybridge apresentou uma definição mais precisa “um disruptor endócrino é uma substância exógena que causa efeitos adversos para a saúde num organismo intacto, ou seus descendentes, devido a mudanças na função endócrina” (GHISELLI E JARDIM, 2007).

Os interferentes endócrinos são considerados uma classe de contaminantes emergentes que nos últimos 20 anos vêm evidenciando sua importância na comunidade científica no mundo (DALLEGRAVE, 2012), porém no Brasil o estudo desses contaminantes ainda é reduzido.

A importância de se conhecer a contaminação de um determinado ambiente por IE está relacionada com o seu potencial de ameaça principalmente à vida aquática e ao ser humano. Para Clara *et al.* (2004) o comportamento dos IEs nas ETE, solo e sedimentos marinhos tem sido investigado, bem como seu transporte e destino no meio ambiente. O conhecimento do destino e dos processos de transporte desses poluentes no meio ambiente é essencial para avaliar seus impactos potenciais no solo e águas naturais. (BILA E DEZOTTI, 2007)

Os IE, mesmo em nível de traços, podem provocar efeito hormonal em seres vivos causando alterações tais como: diminuição da fertilidade em aves, peixes, mariscos e mamíferos, além de alteração da função imune em aves e mamíferos e alteração na tireóide das aves (CHOL; YOO; LEE, 2004). Os IE podem também levar ao aumento da incidência de câncer de mama em humanos, feminilização dos machos e masculinização das fêmeas em animais selvagens (MULLER *et al.*, 2008)

Segundo Bila e Dezotti (2007) as substâncias classificadas como interferentes endócrinos, incluindo as naturais e sintéticas, usadas ou produzidas para diversas finalidades podem ser agrupadas em quatro classes:

a) substâncias sintéticas utilizadas na agricultura e seus subprodutos, como pesticidas, herbicidas, fungicidas e moluscicidas;

b) substâncias sintéticas utilizadas nas indústrias e seus subprodutos, dioxinas, policlorados (PCBs), compostos orgânicos de estanho, retardante de chama bromados, parabenos, alquilfenóis e seus subprodutos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs), metais pesados, ftalatos e bisfenol A;

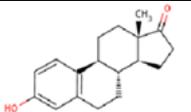
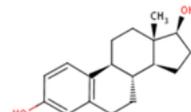
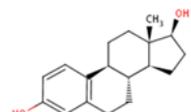
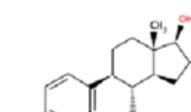
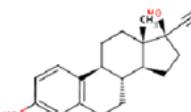
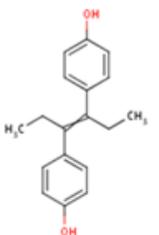
c) substâncias naturais, como fitoestrogênios e os estrogênios naturais  $17\beta$ -estradiol, estrona e estriol e;

d) compostos farmacêuticos, como o  $17\alpha$ -etinilestradiol e Dietilestilbestrol.

Na presente pesquisa foram estudados os compostos naturais: Estrona (E1),  $17\beta$ -estradiol (E2),  $17\alpha$ -estradiol (E2) e estriol (E3) e os sintéticos foram:  $17\alpha$ -etinilestradiol e Dietilestilbestrol (DES), suas características químicas e estrutura estão descritos na Tabela 4.

O hormônio  $17\beta$ -estradiol é o estrogênio mais potente produzido pelo organismo humano, seguido do estrona e do estriol (SODRÉ *et al.*, 2010). Já o  $17\alpha$ -Etinilestradiol é um estrogênio sintético e o principal componente das pílulas contraceptivas mais comuns, também utilizados em terapias de reposição hormonal assim como o Dietilestilbestrol (CICEK *et al.*, 2007).

**Tabela 4-** Características dos interferentes endócrinos estudados.

Composto	Esutura	Fórmula molecular	Log Kow
Estrona (E1)		C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	3,13
17 $\alpha$ estradiol (E2)		C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	-
17 $\beta$ estradiol (E2)		C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	4,01
Estriol (E3)		C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	2,45
17 $\alpha$ Etilnilestradiol (EE2)		C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	4,8
Dietilestilbestrol (DES)		C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	5,07

O valor do coeficiente log octano/ água (log kow) para os IEs livres variam de 2,81 a 5,15, sendo evidente que estes compostos são lipofílicos e ligeiramente solúveis em água e mesmo quando dissolvidos, podem ser rapidamente removidos da fase aquosa, como resultado da ligação com os sólidos suspensos (BIRKETT E LESTER, 2003). O conhecimento das características físicas e químicas dos hormônios facilita o planejamento de métodos para a determinação analítica em matrizes ambientais (GONSCHOROWSKI, 2013).

Muitas destas substâncias são persistentes no meio ambiente, acumulam-se no solo e no sedimento de rios, são facilmente transportadas a longas distâncias pela atmosfera de suas fontes. Acumulam-se ao longo da cadeia trófica, representando um sério risco à saúde daqueles que se encontram no topo da cadeia alimentar, ou seja, os humanos (MEYER *et al.*, 1999). A grande maioria dos IEs possui características lipofílicas e, frequentemente, apresentam baixa biodegradabilidade no ambiente (LINTELMANN *et al.*, 2003).

### **3.3. Ambiente sedimentar**

Os sedimentos são caracterizados como uma matriz complexa, constituída de frações orgânicas e inorgânicas (ARINE; WATANABE; SILVA, 2013).

O sedimento é uma matriz ambiental composta por detritos e partículas orgânicas e inorgânicas, onde a fase inorgânica é composta por rochas, fragmentos de conchas e grãos minerais. Já a fase orgânica é composta por restos de vegetais e animais (matéria orgânica), sendo esses componentes os mais importantes dos sedimentos, devido à função de regular a sorção e biodisponibilidade de alguns contaminantes (POWER E CHAPMAN, 1992).

Para a Abessa *et al.* (2006) e Riba *et al.* (2004) os sedimentos constituem um importante compartimento dos sistemas aquáticos e é reconhecido como o principal destino das substâncias introduzidas nos estuários, podendo acumular esses compostos em níveis mais elevados que os observados na coluna d'água.

Essa matriz ambiental tem uma relação dinâmica com a coluna de água, ora retém os poluentes existentes, ora disponibiliza esses mesmos compostos para a coluna de água, diante das condições ambientais. Dessa maneira, o estudo do comportamento de agentes químicos retidos pelos sedimentos naturais pode ser mal interpretado ou de difícil avaliação (ARINE; WATANABE; SILVA, 2013).

No ambiente marinho, os sedimentos agem como um substrato cromatográfico, podendo ocorrer adsorção, fracionamento, eluição e dessorção de poluentes orgânicos e inorgânicos (BROWNAWELL e FARRINGTON, 1986). Os compostos orgânicos, por serem hidrofóbicos, tendem a ser adsorvidos no material particulado e ser depositados no sedimento subsuperficial (LAW E BISCAYA, 1994).

Burgess e Scott (1992) afirmam que após os contaminantes podem ser alterados por processos químicos, físicos e biológicos ao atingirem os sedimentos, isso resulta no aumento ou baixa do seu poder tóxico.

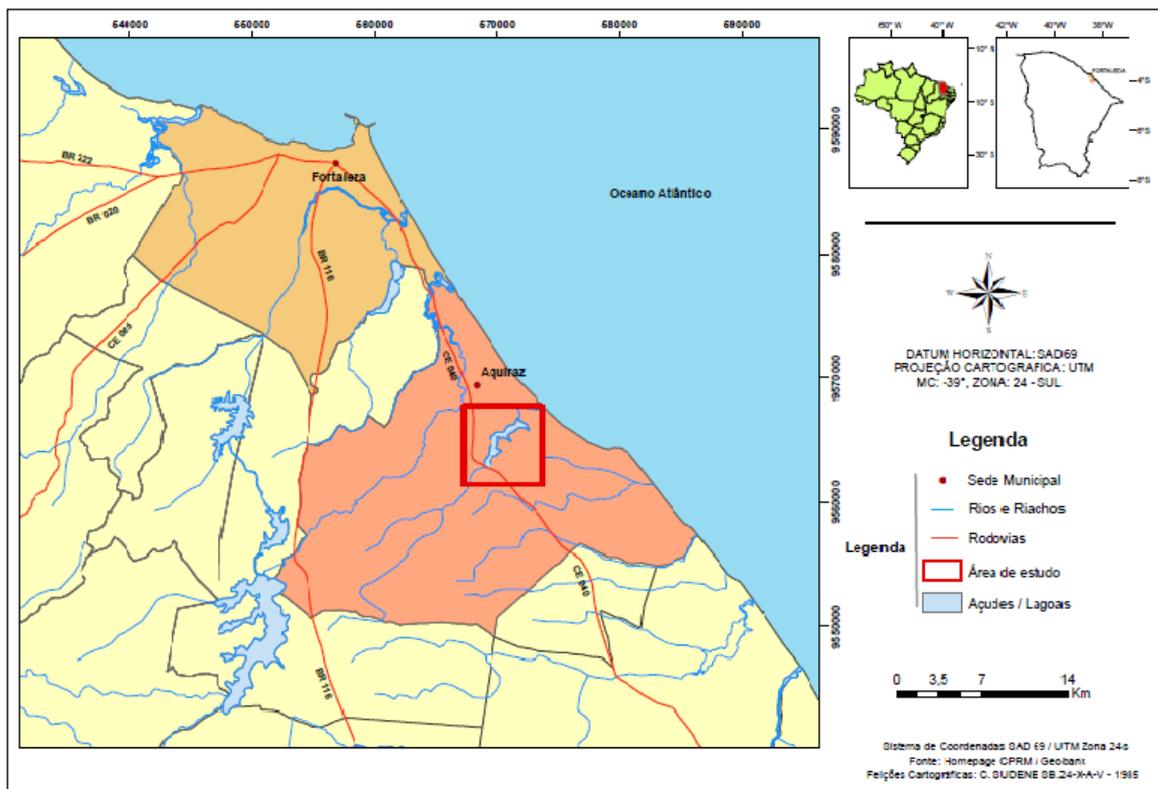
O reconhecimento dos sedimentos como reservatórios de substâncias tóxicas ao ambiente aquático é uma importante decisão que traz como consequência estudos voltado a avaliação da contaminação dessa matriz ambiental. Com isso, há o desenvolvimento de instrumentos importantes para a proteção dos ecossistemas e da saúde pública, o monitoramento desses sedimentos, identificação e recuperação de áreas impactadas, além do controle das fontes poluidoras (ABESSA, 2006b).

## 4. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

### 4.1. Localização e acesso

A Lagoa do Catú está situada na Região Metropolitana de Fortaleza no município de Aquiraz, mais especificamente no distrito de Prainha. Estando limitada pelas coordenadas UTM 0567000E, 9561273N e 0575000E, 9569000N. (Figura 2).

**Figura 2** - Localização e acesso a Lagoa do Catú



Fonte: Autora

A lagoa está localizada a 26 km de Fortaleza- CE e, o acesso é feito pela rodovia CE-040. Essa lagoa é componente do estuário da bacia hidrográfica do rio Catú, que nasce no Município de Horizonte, porém a sua maior área de drenagem ocorre no município de Aquiraz, onde deságua na localidade de Prainha (GONDIM *et al*, 2009).

A lagoa do Catú apresenta uma área superficial de 2.420.000,00m<sup>2</sup>, um perímetro de 17.430,00m e volume de água é aproximadamente de 7.455.610m<sup>3</sup> (GONDIM *et al*, 2009).

Segundo Pinheiro e Moraes (2010) a formação da lagoa do Catú está relacionada com morfodinâmica das dunas móveis que migraram na direção do canal estuarino dando origem

ao espelho de água. Em 1993 com a construção da barragem no sangradouro, para manter o nível de armazenagem de água, ocorreu à redução significativa do fluxo das águas para o sistema.

De acordo com dados da Companhia de Água e Esgoto do Ceará - CAGECE – é responsável por 30% do abastecimento de água em Aquiraz e também há os usos para irrigação, pesca artesanal e esportiva, lazer com práticas esportivas náuticas como: barco, embarcações a motor, “jet ski” e lancha. Esses múltiplos usos tornam a lagoa do Catú um reservatório de suma importância para a região (PINHEIRO e CABRAL, 2007).

## **4.2. Características gerais de Aquiraz**

### **4.2.1. Aspectos climáticos**

Na região em estudo, predominam o clima Tropical Quente sub-úmido, com pluviosidade geral de 1.379,9 mm, temperatura média de 26° a 28°C e período chuvoso de janeiro a maio (FUNCEME/IPECE, 2012).

### **4.2.2. Componentes Ambientais**

O relevo é classificado como Planície Litorânea e Tabuleiros Pré-Litorâneo. Os solos são classificados como areias quartzosas distróficas, areias quartzosas marinhas, bruno não cálcico, podzólico vermelho-amarelo. E a vegetação é considerada Complexo Vegetacional da Zona Litorânea (FUNCEME/IPECE, 2012).

### **4.2.3. Aspectos socioeconômicos**

O município de Aquiraz, de acordo com o IPECE (2012) tem população residente total de 72.628 habitantes, onde 92,37 (%) estão na zona urbana e 7,63 (%) na zona rural. Tem densidade demográfica de 150,50 (hab./km<sup>2</sup>) e a taxa de urbanização é de 92,37 (%).

Quanto aos dados de saneamento Aquiraz tem taxa de cobertura d'água urbana de 47,34 (%), taxa de cobertura urbana de esgoto de 22,41 (%). Domicílios particulares ligadas a rede geral de abastecimento de água 19,69 (%) e com abastecimento proveniente de poço ou nascente 58,24 (%). Para tipos de esgotamento sanitário utilizados na região as porcentagens são: 9,72 (%) para rede geral ou pluvial, 27,05 (%) fossa séptica, 60,54 (%) outra, 2,69 (%) não tinham banheiros (IPECE, 2012).

A porcentagem relativa aos domicílios particulares tem seu lixo coletado é de 75,24 (%) (IPECE, 2012). A coleta de resíduos sólidos é gerenciada pela Prefeitura Municipal e a disposição final é o aterro sanitário de Aquiraz localizado na região de Machuca, e atende também ao município de Eusébio.

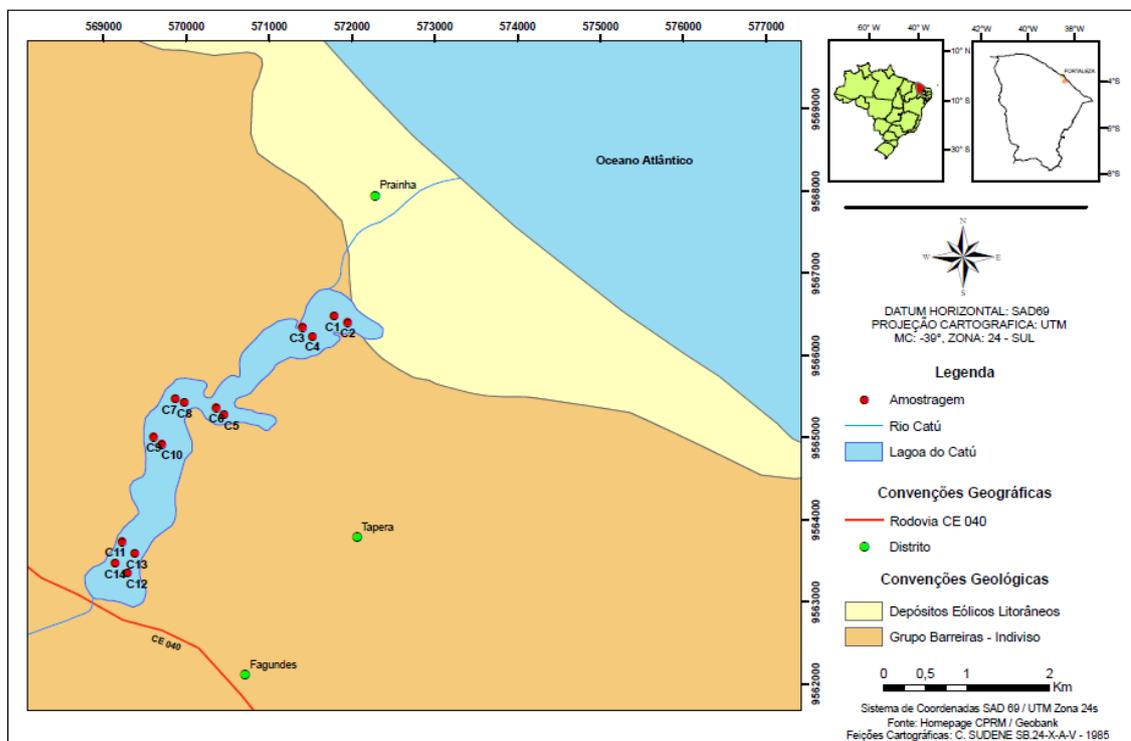
## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Procedimento experimental

#### 5.1.1 Coletas

A amostragem de sedimentos superficiais com profundidade aproximadamente de 2 cm foi realizada no dia 14 de março de 2013, onde foram coletados 14 pontos ao longo da lagoa do Catú (Figura 3).

**Figura 3** - Pontos de amostragem de sedimentos superficiais na lagoa do Catú.



Fonte: Autora

Durante a coleta, as amostras foram transferidas para sacos plásticos devidamente etiquetados, lacradas e acondicionadas em isopor com gelo para conservação até a chegada ao laboratório, onde foram mantidas em baixa temperatura até o momento de processamento.

### 5.1.2 Preparação das amostras

No laboratório, as amostras foram homogeneizadas e subdivididas para diferentes tratamentos. Uma parte das amostras foi seca em estufa (Medicate MD 12) a 65 °C, para a determinação granulométrica. E a outra parte foi seca utilizando-se um liofilizador a -33 °C e a 760 torr (Liofilizador Edwards do Brasil), para a determinação de matéria orgânica, carbono orgânico e extração dos esteróis, devido à característica da técnica secar o sedimento sem degradar os compostos presentes no mesmo.

Para a liofilização, as amostras foram colocadas em balão de fundo chato com capacidade para 250 mL e foram congeladas. Depois de congeladas, foram colocadas no liofilizador. O tempo da liofilização varia de acordo com o volume colocado nos balões, como também das características de cada solo. Após a secagem, o sedimento foi passado na peneira de 2 mm para retirada de materiais maiores (folhagem, animais bentônicos, entre outros).

As técnicas analíticas realizadas para o maior conhecimento da matriz ambiental em estudo e sua correlação com os resultados referentes aos esteróis foram a granulometria, matéria orgânica e carbono orgânico. As análises envolvidas para a determinação dos esteróis presentes no sedimento da área de estudo foram: extração, *clean-up*, derivatização e cromatografia gasosa.

### 5.1.3 Limpeza do Material Utilizado

A limpeza do material utilizado em análises laboratoriais, principalmente aquelas que trabalham com concentrações na ordem de traços ( $\mu\text{g/g}$  e/ou  $\text{ng/g}$ ), tem que ocorrer com cuidado, para garantir a exclusão segura de interferentes ou contaminantes que possam alterar os resultados de encontrados. O processo de limpeza usado foi baseado nos protocolos desenvolvidos no laboratório.

Toda vidraria utilizada durante o desenvolvimento prático do estudo foram lavados com 5% v/v de detergente aniônico Extran (Merck), imersos em banhos de solução 5% v/v de detergente aniônico por 12–24 horas e enxaguados em água corrente. Depois foram imersos em solução 5% v/v de ácido nítrico, por 12 – 24 horas, lavados em água corrente, secos em

estufa e para finalizar os materiais foram embrulhados em papel alumínio e colocados na mufla a 400°C por 6-8 horas.

## **5.2. Análise granulométrica**

A maior parte dos sedimentos é heterogênea em relação a sua constituição granulométrica, sendo assim, necessária a combinação de métodos para a análise do material grosseiro (fração arenosa) e do fino (fração argilosa). A separação da fração arenosa da fração argilosa é feita através da lavagem do sedimento em peneira 0,062 mm. A análise do material grosseiro geralmente é peneirado e os finos podem passar por diversos processos baseado na lei de Stokes (SUGUIO, 1937).

A determinação da granulometria foi realizada no Laboratório de Geologia e Geomorfologia Costeira e Oceânica - LGCO da UECE, usando a metodologia sugerida por Suguio (1973).

A preparação da amostra foi realizada inicialmente em estufa a 60 °C, para retirada total da umidade, e em seguida foi realizada o destorroamento com o auxílio do pistilo e do almofariz. Para a separação das frações granulométricas foi pesado 100 g de sedimento. Essa separação foi realizada, depois da homogeneização, através de quarteamento, de modo a garantir igual representatividade do material analisado. Em seguida, foi realizado o peneiramento úmido e o peneiramento seco.

### **5.2.1. Peneiramento Úmido e Pipetagem**

O peneiramento úmido tem como objetivo separar a fração silte-argilosa (teor de finos) do restante da amostra. Essa separação ocorre na lavagem da amostra (100 g) sob filete de água em peneira de malha 0,062 mm até que a água não esteja mais turva. O material de granulometria maior, retido na peneira, foi levado à estufa.

Os grãos inferiores a 0,062 mm de diâmetro foram recolhidos em baldes e reservados para precipitação. O excesso de água foi retirado com um sifão, com cuidado para não perturbar o sedimento depositado no fundo, para não haver perdas do material.

Em seguida, o sedimento foi transferido para uma proveta de 1000 mL com o auxílio de uma pisseta. Adicionaram-se 0,67 g de oxalato de sódio para evitar floculação, o volume foi completado com água e a mistura homogeneizada com o auxílio de um bastão.

A pipetagem 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. Os depósitos com o material pipetado foi secado na estufa e depois pesado. O peso do sedimento foi calculado pela diferença entre o peso do béquer com sedimento e o peso do béquer vazio.

#### 5.2.2. Peneiramento seco

O peneiramento seco foi realizado com a fração retida no peneiramento úmido. A fração arenosa foi separada e levada à estufa a 65 °C para secar. O conjunto de peneiras foi levado para o agitador eletromagnético (Bertel) por 10 min, em seguida a fração contida em cada peneira, foi retirada e pesada e os valores foram anotados.

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

### 5.3. Determinação do teor de Matéria Orgânica (MO)

Os teores de matéria orgânica para cada ponto de amostragem foram calculados a partir da determinação de carbono orgânico, cujo foi realizado através do método Walkley-Balck modificado (Camargo *et al.*, 2009).

O método resume-se na oxidação da matéria orgânica do sedimento com solução de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) e ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), contando como catalisador o calor desprendido da oxiredução do  $H_2SO_4$  e titulação do excesso de dicromato com Sulfato Ferroso Amoniacal (SFA –  $FeSO_4(NH_4)_2SO_4.6H_2O$ ).

O teor de determinação de CO foi calculado pela equação 1:

$$\%C = \frac{[10 - (\frac{V_2 \times 10}{V_1})] \times 0,4}{p} \quad (1)$$

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 2:

$$\%MO = \%C \times 1,725 \quad (2)$$

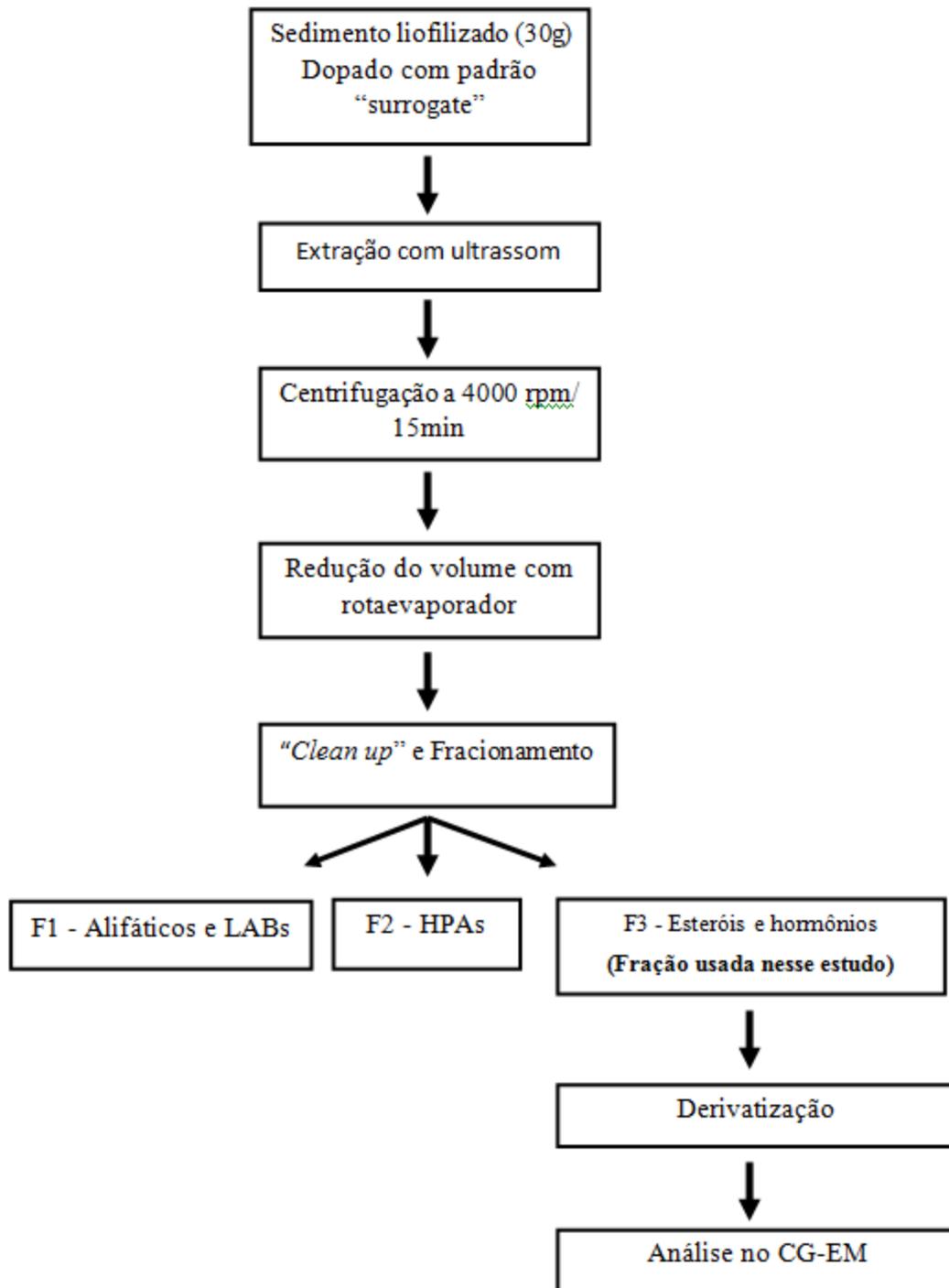
Onde:

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

#### **5.4. Determinação de Esteróis e Interferentes Endócrinos (IEs)**

A determinação dos esteróis e IES em sedimento passou por diferentes fases: secagem, extração, *clean up*, derivatização e análise propriamente dita, onde foram quantificados por Cromatógrafo a Gás acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM). Devido a matriz ambiental usada ser complexa, a escolha dos solventes usados na técnica de extração e no procedimento de *clean-up* foi baseada nas propriedades físico-químicas dos compostos estudados. (Figura 4).

**Figura 4** - Fluxograma do procedimento de análise realizado com o sedimento.



Fonte: Autora

#### 5.4.1. Preparo das soluções para curva de calibração

Os padrões dos esteróis utilizados nessa pesquisa foram: campesterol, androstanol, coprostanol, colestanol, colesterol,  $\beta$  – sitosterol, estigmasterol, ergosterol, coprostanol, adquiridos da Sigma-Aldrich.

Os padrões dos interferentes endócrinos utilizados foram estrona (E1),  $17\beta$  estradiol (E2),  $17\alpha$  estradiol (E2), Estriol (E3), adquiridos da Absolute Standard e dietilstilbestrol (DES),  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2), adquiridos da Sigma-Aldrich.

As soluções analíticas foram preparadas a partir desses padrões autênticos. Primeiro foi preparada a solução estoque com concentração de 10 ppm, em clorofórmio para padrões de esteróis e em metanol para padrões de IE, a partir dessa solução foi feita a solução de trabalho com concentração de 5000 ppb e então foi preparada as curvas analíticas, com a seguinte faixa de concentração: 2000 ppb, 1000 ppb, 500 ppb, 250 ppb, 50 ppb.

Todas as soluções padrão depois de prontas foram armazenadas em geladeira, para assim manter as condições calculadas.

Os solventes metanol e hexano utilizados foram de grau HPLC (Merck). E o clorofórmio foi da marca Sigma.

O estrone-d<sub>2</sub>, usado como padrão *surrogate* (PS), foi adquirido da CDN Isotopes e o  $5\alpha$ - colestano, usado como padrão interno (PI), foi adquirido da Sigma-Aldrich.

Como reagentes derivatizantes foram utilizados o BSTFA (N-O-Bis(trimetilsilil)trifluoracetamida) de fórmula molecular  $C_8H_{18}F_3NOSi_2$ , também adquiridos da Sigma-Aldrich.

Antes da injeção no cromatográfico as curvas e extratos de amostras foram dopadas com 50  $\mu$ L de PI na concentração de 1000 ppb.

#### 5.4.2. Técnica de extração

O procedimento de extração foram executados segundo o protocolo desenvolvido por Cavalcante *et al.* (2008), com adaptações.

Foram pesados 30 g de sedimento liofilizado de cada amostra e adicionado 40  $\mu$ L de padrão *surrogate* (estrono - d2) e a extração ocorreu com a adição de diferentes solventes intercalados e submetidos ao a sonicação na ultrassom (ELMASONIC modelo E 120 H) (Figura 5 B) durante 20 min. sob temperatura ambiente), para auxiliar na quebra da ligação do contaminante com o sedimento. Após a sonicação, a amostra foi centrifugada a 4000 rpm/15min (centrífuga HermLe modelo Z 360 K) (Figura 5 C) a fim de separar o sedimento da mistura extratora, uma vez que o analito de interesse já foi retirado do sedimento. O sobrenadante foi recolhido e pré-concentrado a 1 mL, em um rotaevaporador FISATOM 801 (Figura 5 A).

As misturas utilizadas para extração foram: 30 mL de acetona, 30 mL de acetona e acetato de etila (1:1 v/v), 30 mL acetato de etila, 30 mL de acetato de etila e diclorometano (DCM) (1:1 v/v), 30 mL de DCM, 30 mL de DCM e hexano (1:1 v/v) e 30 mL de hexano. Para a escolha desses solventes de extração, foi usado o procedimento de seleção por faixa crescente do índice de polaridade (CAVALCANTE *et al.*, 2012).

**Figura 5** – Equipamentos usados no procedimento de extração: rotaevaporador (A), banho ultrassom (B), centrífuga (C).



Fonte: Adaptado de Duaví, 2013

#### 5.4.3. Procedimento de *clean-up*

De acordo com Cavalcante (2008), o procedimento de *clean-up* é usado na “limpeza” da amostra e separação dos constituintes de interesse. Esse procedimento é realizado a partir da passagem do extrato da amostra em uma coluna de sílica e alumina.

A coluna foi construída a partir da adição de hexano em 10 g de sílica gel, seguida de 4 g de alumina em hexano. Depois foi colocado 0,5 cm de cobre em pó seguido de 2 cm de sulfato de sódio anidro. Com a finalização da montagem da coluna, a mesma foi lavada com 10mL de hexano, tornando-a pronta para a adição do extrato da amostra, proveniente da etapa de extração (Figura 6).

Após a adição dos extratos na coluna, foram adicionados misturas de solventes para início do processo de fracionamento, conforme a tabela 5. Tais solventes foram escolhidos de acordo com seus índices de polaridade. Os analitos de interesse para esse trabalho eram

recolhidos na terceira fase em balões de 250 mL e novamente pré-concentrados para 1 mL e transferidos para vials de 1,5 mL, e depois submetidos ao processo de derivatização.

**Figura 6** - Coluna de *clean up*.



- 2 cm da coluna com sulfato de sódio
- 0,5 cm da coluna com cobre
- 4g alumina
- 10 g sílica

Fonte: BEZERRA, 2013

**Tabela 5** - Frações retiradas do extrato, solventes utilizados e compostos obtidos.

FRAÇÃO	SOLVENTES	COMPOSTOS
<b>F1</b>	40 mL de hexano	Alifáticos e LABs
<b>F2</b>	30 mL de hexano e DCM (3:1 v/v) 30 mL de hexano e DCM (1:1 v/v)	HPA e outros aromáticos
<b>F3</b>	50 mL de DCM e MeOH (3:1 v/v)	Esteróis e hormônios

Fonte: Autora

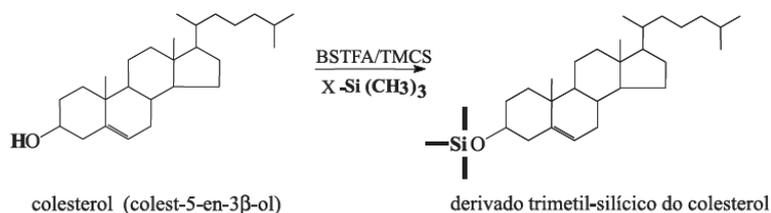
A sílica, alumina, cobre e sulfato de sódio, utilizados no clean up e fracionamento das amostras, foram submetidos ao processo de descontaminação e/ou ativação da seguinte forma: sílica, alumina e sulfato de sódio foram ativados em estufa a 200 °C por 12 h. O cobre foi ativado por lavagem com 40 mL de ácido clorídrico 0,1 M, sendo o excesso sifonado; em seguida o mesmo foi feito com 40 mL de acetona, e armazenado em hexano.

#### 5.4.4. Derivatização

Antes da injeção no cromatógrafo, tanto a curva de calibração como os extratos das amostras passaram pelo processo de derivatização. Esse procedimento tem o intuito de melhorar a análise cromatográfica, devido às características de baixa volatilidade e alta polaridade dos esteróis e interferentes endócrinos, que assim tem baixa eficiência em análise por cromatografia gasosa. Nessa etapa os compostos são convertidos em éteres trimetil-silícios através da adição de do reagente (BSTFA/TMCS – 99:1) (Figura 7), N, O-bis (trimetil-silil-trifluór-acetamida)/trimetil-cloro-silano com 1% TMCS (trimethylchlorosilane), >99% de pureza, grau cromatográfico, Aldrich.

A derivatização foi realizada levando a fração F3 à Secura por meio do rotaevaporador. Adiciona-se 0,1 mL da substância derivatizante (BSTFA/TMCS – 99:1) e aquece-o em banho Maria de areia a 65 °C por 1h30min. Então, a solução foi novamente seca, no rotaevaporador, e os compostos foram ressuspensos com 1 mL de n-hexano.

**Figura 7** – Exemplo da reação de derivatização.



Fonte: MARTINS *et al.*, 2008.

#### 5.4.5. Identificação dos Esteróis e Interferente Endócrinos

Para a determinação dos compostos de interesse foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa (CG-EM), da marca Shimadzu, modelo QP2010, em condições cromatográficas específicas, descritas abaixo.

As condições cromatográficas foram as seguintes:

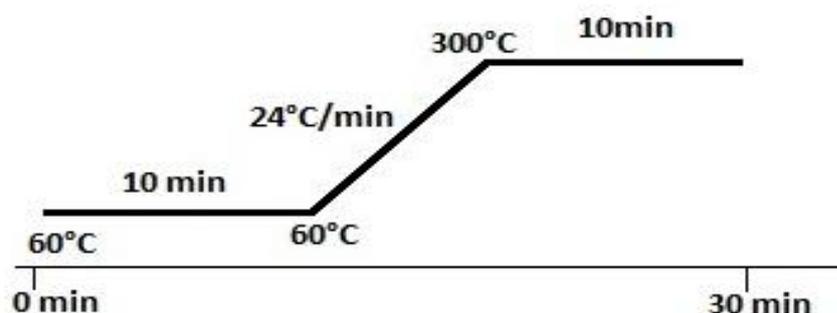
- Coluna cromatográfica (fase estacionária) - capilar Elite DB-5 (5% Difenil – 95% Dimetil Polisiloxano) com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm espessura de filme.

- Modo de injeção: Splitless
- Modo de detecção: SIM
- Volume de injeção: 2 µL
- Gás de arraste (fase móvel) – Hélio
- Vazão na coluna – 2 mL/min
- Pressão na coluna – 123,2 Kpa
- Temperatura do injetor - 260 °C
- Temperatura do detector - 260 °C
- Vazão total – 50 mL min<sup>-1</sup>
- Temperatura inicial – 60°C
- Temperatura final – 300°C

As condições cromatográficas quanto a programação de temperatura foram:

Temperatura inicial de 60°C mantida por 10 min., elevando a temperatura até 300 °C a uma taxa de variação de 24°C/min. onde permaneceu estável 10 min. O tempo total de corrida foi 30 min. (Figura 8).

**Figura 8** - Rampa de temperatura para separação dos analitos de interesse.



Fonte: Autora.

Os esteróis, interferentes endócrinos, padrões interno e *surrogate* foram identificados através pelos tempos de retenção e confirmados pelos íons moleculares de cada composto. Os íons monitorados, ou seja, a relação massa/carga (m/z) dos principais fragmentos moleculares

resultantes da quebra, utilizados para a identificação dos compostos estudados encontra-se descritos na Tabela 6.

**Tabela 6** - Tempos de retenção (TR) e relação massa/carga (m/z) dos esteróis e IEs

<b>Compostos</b>	<b>Peso molecular (g/mol)</b>	<b>TR (min)</b>	<b>(m/z)</b>	<b>(m/z)</b>	<b>(m/z)</b>
<b>Es trona - d2 (PS)*</b>	272.38	20,77	75	146	185
<b>5<math>\alpha</math>-colestano (PI)*</b>	372	21,76	217	372	149
<b>Es trona (E1)</b>	270/342**	19,28	270	146	185
<b><math>\alpha</math> - Estradiol (E2)</b>	272/416**	19,64	272	213	146
<b><math>\beta</math> - Estradiol (E2)</b>	272/416**	19,69	272	213	160
<b><math>\alpha</math> - Etinilestradiol (EE2)</b>	296/440**	20,94	213	296	160
<b>Dietilestilbestrol (DES)</b>	268,35	21,34	268	107	145
<b>Estriol (E3)</b>	288/504**	21,93	288	146	160
<b>Coprostanol (COP)</b>	388/460**	22,93	43	55	81
<b>Colesterol (COL)</b>	386/458**	23,65	43	81	107
<b>Colestanol (COLN)</b>	388/460**	23,75	215	233	107
<b>Ergosterol (ER)</b>	396/470**	24,46	69	363	396
<b>Campesterol (CA)</b>	401/472**	24,63	43	57	107
<b>Estigmasterol (EST)</b>	412/484**	24,92	55	43	81
<b><math>\beta</math> - sitosterol (Si)</b>	414/486**	25,51	43	55	414

\*PS- Padrão *surrogate* e PI- Padrão interno

\*\*Peso molecular dos compostos derivatizado

Fonte: Autora

#### 5.4.6. Validação do método cromatográfico

A validação do método analítico visa avaliar a confiabilidade do método utilizado. As amostras ambientais são consideradas matrizes complexas devido à presença de uma infinidade de compostos que podem interferir na análise (PESSOA, 2012). Além disso, não há consenso sobre a obrigatoriedade de parâmetros que devem ser incluídos em um processo de validação de um método analítico (LANÇAS, 2004). Diante dessa situação alguns documentos são utilizados para orientar os estudos de validação do método analítico (ANVISA, 2003; LANÇAS, 2004; RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2007).

No presente estudo para a validação foram considerados os parâmetros de identificação e confirmação dos analitos de interesse: seletividade, linearidade, limite de detecção e quantificação, fidelidade e recuperação.

A seletividade para Lanças (2004) e Ribani *et. al.* (2004) esta relacionada com a capacidade de um método em determinar sem equívoco o analito de interesse na presença de outros componentes, ou seja, esse parâmetro garante que o pico seja exclusivamente do analito de interesse do estudo.

A linearidade corresponde à capacidade do método analítico de demonstrar resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame na amostra, dentro de uma determinada faixa de aplicação (INMETRO, 2007; LANÇAS, 2004; RIBANI *et. al.*, 2004; ANVISA, 2003).

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003). Lanças (2004) explica que o LD é determinado como a menor concentração de um analito que pode ser diferenciada com segurança do ruído do sistema.

Nesse trabalho o LD foi calculado baseado em parâmetros da curva analítica, utilizando a equação 3 abaixo, seguindo a ANVISA (2003).

$$LD = 3 \times DP / S \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

DP = estimativa do desvio padrão da resposta dos brancos.

S = coeficiente angular da equação da reta.

O limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade de um analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003; INMETRO, 2007). O limite de quantificação pode ser expresso a partir da equação 4 (ANVISA, 2003):

$$LQ = 10 \times DP / S \quad (\text{Equação 4})$$

“A fidelidade expressa o grau de dispersão entre uma série de medidas obtidas a partir de ensaios múltiplos para uma mesma amostra em condições determinadas, podendo ser estabelecida pela repetibilidade, e fidelidade intermediária e reprodutibilidade” (LANÇAS, 2004).

Na presente pesquisa a fidelidade foi determinada através do estudo da repetibilidade, seguindo as orientações de Lanças (2004) que é manter as mesmas condições operacionais aplicadas em um curto intervalo de tempo.

Em análise cromatográfica é importante conhecer a repetibilidade de pelo menos dois parâmetros: o tempo de retenção e área do pico, onde a repetibilidade do tempo de retenção é usada para confirmar a identidade do composto (análise qualitativa) e a repetibilidade da área do pico é utilizado na quantificação dos compostos de interesse (análise quantitativa) (LANÇAS, 2004).

#### 5.4.7. Controle de qualidade

O controle de qualidade foi realizado a partir do uso de padrão *surrogate* (PS) e padrão interno, acompanhados da execução de um protocolo de limpeza do material desenvolvido especificamente para os contaminantes investigados. Foi utilizado padrão *surrogate* deuterado para corrigir as perdas dos analitos e a contaminação durante todo processamento das amostras, desde a extração até as análises cromatográficas.

O Padrão *surrogate* é uma substância que possui características semelhantes ao dos analitos de interesse de modo que apresente tempo de retenção próximo ao do analito investigado, e é necessário a garantia da não existência desse composto na matriz de análise, por isso é fundamental que PS seja deuterado.

A recuperação do PS serve para avaliar a eficiência da técnica de extração, uma vez que o mesmo é adicionado à amostra antes do início da etapa de extração.

Já o Padrão interno garante a precisão da análise quantitativa, minimizando os erros de injeção, principalmente de injeções manuais. O padrão interno deve ser puro, não reagir com nenhum dos componentes da amostra e ser quimicamente similar ao analito de interesse (MCNAIR, 1998; COLLINS, 1997). Na escolha de um composto como padrão interno deve-se observar que o pico referente ao padrão esteja bem resolvido dos demais picos dos componentes da amostra e elua próximo ao sinal do analito (LIGIERO *et al* , 2009).

Para completar o controle analítico foram feitos brancos da coluna no CG-EM e de solvente de extração e *clean-up* para garantir que o sistema estivesse sem contaminantes que pudessem interferir nos compostos dessa pesquisa.

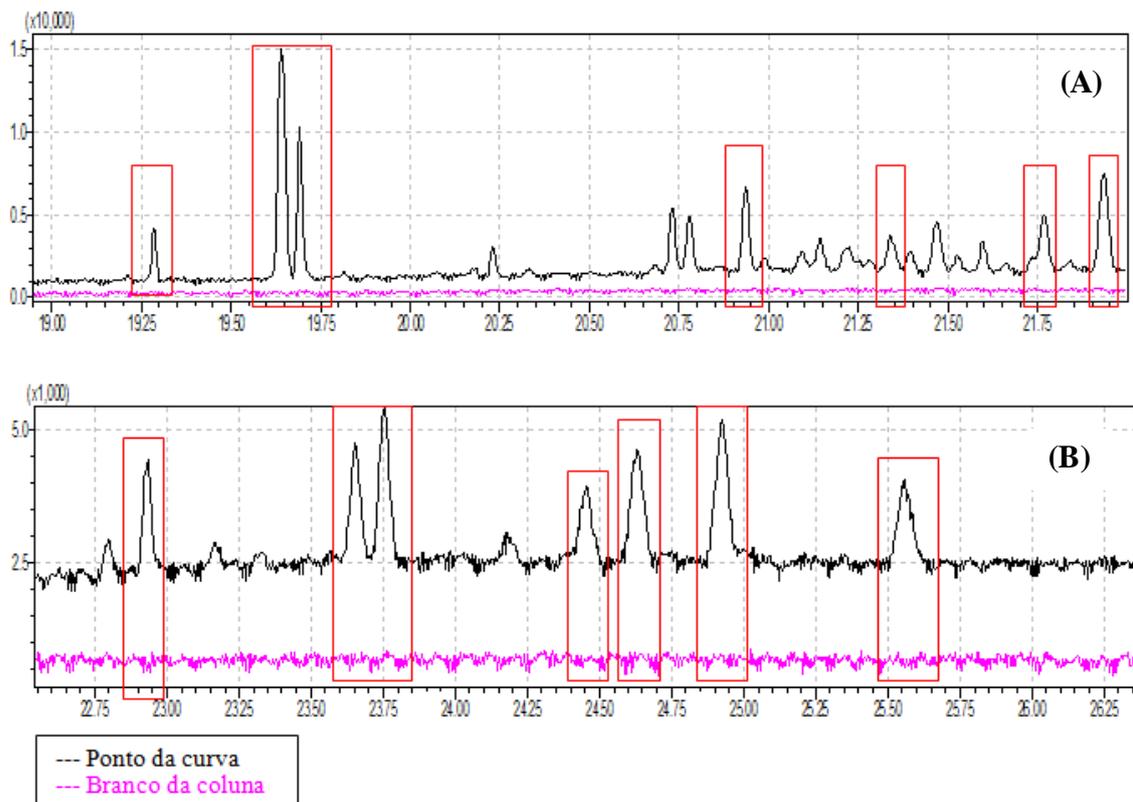
## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. Validação do método de análise por CG-EM

#### 6.1.1. Seletividade

A seletividade de um método cromatográfico pode ser realizada através da comparação dos cromatogramas dos brancos e do ponto da curva, observando a presença de picos na região do tempo de retenção do analito de interesse (CAVALCANTE, 2007). Como está apresentado na Figura 9 nas regiões onde há os picos dos compostos em estudo não houve interferência.

**Figura 9** - Comparação entre os cromatogramas do branco da coluna e do ponto da curva para IE (A) e esteróis (B).



Fonte: autora

### 6.1.2. Linearidade e Curva de calibração

Esse trabalho está em conformidade com ANVISA (2003) onde se recomenda que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, 5 concentrações diferentes, pois foi construída a curva de calibração com 5 pontos: 50, 250, 500, 1000, 2000  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Os respectivos coeficientes de correlação ou coeficiente de Pearson (R) e as curvas analíticas estão apresentados na Tabela 8.

**Tabela 7** – Parâmetros para determinação da linearidade do método.

Analitos	Equação de regressão	Curva de calibração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Coefficiente de correlação - R
E1	$y = 0,0007x + 0,0066$	50 - 2000	0,997
E2	$y = 0,004x + 0,3754$	50 - 2000	0,993
E2	$y = 0,0019x + 0,1009$	50 - 2000	0,991
EE2	$y = 0,0014x + 0,0386$	50 - 2000	0,998
DES	$y = 0,0004x + 0,0829$	50 - 2000	0,995
E3	$y = 0,0021x + 0,2058$	50 - 2000	0,996
COP	$y = 0,0012x - 0,1149$	50 - 2000	0,995
COL	$y = 0,0014x - 0,0798$	50 - 2000	0,998
COLN	$y = 0,002x - 0,1097$	50 - 2000	0,997
ER	$y = 0,0011x - 0,0915$	50 - 2000	0,995
CA	$y = 0,0018x - 0,1046$	50 - 2000	0,997
EST	$y = 0,0022x - 0,1354$	50 - 2000	0,998
Si	$y = 0,0015x - 0,1084$	50 - 2000	0,993

Fonte: Autora.

O  $r$  calculado para cada analito estudado atendeu às exigências do INMETRO (2007), que recomenda um valor acima de 0,90, e da ANVISA (2003) que recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 (Tabela 8).

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

Neste trabalho o LD variou de 2,73 a 29,29  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e o LQ de 8,28 a 97,64  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (Tabela 8).

**Tabela 8** – Dados de estimativa da linearidade por meio dos LD e LQ.

Compostos	LD ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
E1	32,23	10,74
E2	2,73	8,28
E2	4,30	14,34
EE2	8,38	27,93
DES	29,29	97,64
E3	4,34	14,46
COP	7,07	23,57
COL	12,06	40,22
COLN	12,27	40,90
ER	10,72	35,73
CA	11,59	38,63
EST	8,89	29,63
Si	7,09	23,65

Fonte: Autora

### 6.1.4. Fidelidade

A fidelidade do tempo de retenção e da área do pico foi estimada em cinco injeções baseada nos resultados obtidos pelo padrão interno (5 $\alpha$ -colestano) (Tabela 9).

O estudo da fidelidade foi considerado satisfatório, pois o cálculo do CV não ultrapassou 10% e 1%, para as áreas dos picos e tempos de retenção, respectivamente, estando assim adequado ao que determina Lanças (2004). Já para Ribani *et al.* (2004) a precisão requerida para análise de traços em amostras ambientais requer %CV com valor até 20%, com isso se confirma o resultado satisfatório.

**Tabela 9** - Estimativa da fidelidade pela repetibilidade do padrão interno.

	Área	TR
Injeção 1	4560	21.775
Injeção 2	4761	21.762
Injeção 3	4027	21.762
Injeção 4	5002	21.777
Injeção 5	5002	21.776
Média	4670,40	21770,40
DP*	404,44	7,70
CV*	8,66	0,04

\*DP: Desvio Padrão e CV: Coeficiente de variância

Fonte: autora

#### 6.1.5. Teste de Recuperação

O teste de recuperação foi um dos métodos escolhidos para se realizar o controle analítico do experimento, pois a recuperação é a relação da concentração do analito adicionado no início com a concentração obtida no final da extração (IUPAC, 2002), com essa informação é possível corrigir as concentrações obtidas dos compostos de interesse.

Na literatura há intervalos de porcentagem da recuperação que afirmam a eficiência do método de extração usado. Como para Denoux e Wang (1998), esse intervalo é bem aceito entre 40 a 120%, para Ribani *et al.* (2004) compreende o intervalo entre 70 a 120%, enquanto que USEPA (2007) admite valores entre 30 a 115%. Porém não há nenhum documento legal que seja específico para estudos em sedimento.

No presente trabalho, a recuperação do padrão *surrogate* teve a média de 42,97 %, sendo considerado satisfatório para estudos em matrizes complexas como o sedimento (CAVALCANTE *et al.*, 2012), e também pelo fato de não haver na literatura nenhum documento padrão e específico para estudos de marcadores moleculares nessa matriz ambiental.

## 6.2. Caracterização sedimentar

Para caracterizar o sedimento superficial da área de estudo, e posterior correlação com os compostos de interesse da pesquisa, foi realizada análise granulométrica e determinado o teor de matéria orgânica (MO). Os resultados dessas análises estão apresentados na tabela 10.

Para a granulometria verificou-se que os sedimentos superficiais da área de estudo são de areia fina com um baixo conteúdo em finos, devido a predominância da classe arenosa, principalmente de arenosa finos.

Classificação similar foi obtida em dois outros estudos na mesma área (Lagoa do Catú), onde Gomes (2003) e Fontenele (2014) relataram a preponderância de sedimentos arenosos finos.

Estudos mostram que a presença de contaminantes orgânicos está associada a frações da matéria orgânica, ou fração fina do sedimento (HUNG *et al.*, 2007). Isso se deve ao fato de o material sedimentar agir como adsorventes naturais (geossorvente), ou seja, a sua estrutura porosa possui sítios que permite a sorção dos contaminantes.

**Tabela 10** - Classificação granulométrica das amostras de sedimentos e resultados do teor de MO.

<b>Amostras</b>	<b>Classificação granulométrica</b>	<b>MO (%)</b>
<b>C1</b>	Areia muito fina	4,36
<b>C2</b>	Argila grossa	2,65
<b>C3</b>	Areia média	0,22
<b>C4</b>	Areia muito fina	4,23
<b>C5</b>	Areia fina	0,31
<b>C6</b>	Areia muito fina	3,51
<b>C7</b>	Argila grossa	5,22
<b>C8</b>	Silte	5,08
<b>C9</b>	Areia média	1,45
<b>C10</b>	Areia fina	3,0
<b>C12</b>	Areia muito fina	0,31
<b>C12</b>	Silte	5,29
<b>C13</b>	Areia fina	5,35
<b>C14</b>	Areia muito fina	3,07

Fonte: Autora

### 6.3. Distribuição IEs em sedimento da Lagoa do Catú

As concentrações encontradas para os interferente endócrinos em estudo obtiveram intervalos de concentrações (ng/g) de 84 – 510 para estrona (E1), de 0 – 95 para 17 $\alpha$ - estradiol (E2), de 0 – 196 para 17 $\beta$ - estradiol (E2), de 169 – 1314 para 17 $\alpha$ - etinilestradiol (EE2), de 119 – 1006 para Dietilestilbestrol (DES) e de 1,7 – 94 para estriol (E3) (Tabela 11).

**Tabela 11** – Concentrações de IEs na lagoa do Catú.

Pontos amostrais	E1	E2	E2	EE2	DES	E3
C1	169,06	20,42	15,59	252,85	212,27	13,20
C2	414,38	42,11	196,21	169,38	690,88	44,77
C3	180,78	16,73	7,14	258,64	151,33	1,75
C4	396,68	95,95	38,02	1314,25	1006,57	94,76
C5	87,43	0,15	6,53	297,39	501,09	58,27
C6	510,91	53,35	31,26	348,73	309,41	62,62
C7	84,14	10,16	7,76	528,74	196,49	6,57
C8	351,72	0,00	0,00	752,81	209,62	35,67
C9	94,85	0,84	7,88	238,68	346,48	2,18
C10	154,52	65,37	6,63	444,72	257,44	23,41
C11	364,54	2,21	92,12	352,43	134,51	79,81
C12	87,87	0,06	4,42	76,27	119,07	47,47
C13	210,46	8,87	48,09	342,25	737,49	46,85
C14	200,23	10,81	16,47	213,28	628,17	83,22

Fonte: Autora

Os IEs que obtiveram maior abundância no ambiente de estudo foram o DES e EE2, são estrógenos sintéticos, com 78,39% e 11,50%, respectivamente. Esse evento pode ser explicado pelas características de Kow com valores altos quando comparados aos outros IEs em análise (DES: Log Kow = 5,07 e EE2: Log Kow = 4,8) (Tabela 4). E como esses IEs são comumente utilizados em pílulas contraceptivas e em processos de reposição hormonal (CICEK *et al.*, 2007), possivelmente a abundância constatada é referente ao lançamento de efluentes no ambiente.

O dietilestilbestrol (DES) foi um dos primeiros estrogênios a serem sintetizados, é tão potente quanto o 17 $\beta$ -Estradiol e apresenta meia vida mais longa no organismo quando

comparado a esse. Atualmente seu uso é restrito, mas foi importante historicamente, pois era considerado como medicamento para terapia endócrina eficaz. Porém, seu potencial carcinogênico restringiu seu uso (KASSAB, 2001). Acredita-se que por esses fatores não foi encontrado trabalhos que estudassem esse composto em sedimento.

Quanto aos IEs naturais o que apresentou maior abundância foi o E1 com 6,81%. Os estrogênios naturais são comumente encontrados em águas naturais, solo e lodos biológicos em todo o mundo, são naturalmente e diariamente excretados na urina humana e, assim, descartados no esgoto doméstico. (TERNES, 1999).

O cenário encontrado na lagoa do Catú, com concentrações representativas de E1, EE2 e DES, é similar ao verificado por Jobling e Sumpter (1993) que demonstraram que os estrogênios naturais E1 e sintético EE2 são responsáveis pela maior parte da atividade estrogênica detectada em efluentes de ETE no Reino Unido.

Os estrogênios E1, E2 e EE2 recebem uma atenção especial, pois são contínua e diariamente excretados no esgoto (TERNES, 1999). No caso do presente trabalho pode-se afirmar que E1 (natural) e EE2 (sintético) são responsáveis pela atividade estrogênica no ecossistema. No estudo de Gonschorwski (2013) esse comportamento foi também constatado somente para o hormônio sintético (EE2), pois o natural em maior abundância foi o 17 $\beta$ -estradiol. Para Thorpe *et al.* (2009) o EE2 é capaz de induzir efeitos de feminização de peixes e esse hormônio é encontrado em ambientes aquáticos que recebem efluentes domésticos

Os hormônios naturais E1, E2 e E3 são produzidos e eliminados pelos humanos estão na classe dos mais potentes, isso significa que quando presentes no ambiente, mesmo em níveis de traço podem causar efeitos estrogênicos em animais (CHOWDHURY; CHARPENTIER; RAY, 2011 e COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2004), em contrapartida Lintelmann *et al.* (2003) diz que esses mesmos hormônios são degradado rapidamente, dentro de 4 semanas, em presença de nutrientes.

Os E2 foram os estrogênios que obtiveram concentrações menores com máximas de 95 (ng/g) para 17 $\alpha$  (E2) e 196 (ng/g) para 17 $\beta$  (E2), porém quando comparados aos resultados de Dallegrave (2012) que teve a maior concentração de 46,2 (ng/g), pode-se afirmar que os valores encontrados são elevados.

O estriol (E3) foi encontrada em concentrações que variaram de 1,7 a 94 (ng/g) representando 1,65 % da abundância no local. Na literatura foi encontrados valores de 6,2 a 716,8 (ng/g) (DALLEGRAVE, 2012) (Tabela 13), assim observa-se que as concentrações dessa pesquisa estão baixas. Esse composto é menos potentes em termos de estrogênicidade, e com as baixas concentrações detectadas pode-se dizer que dentre os outros estrogênios em estudo esse é o de menor risco ao ambiente.

As concentrações de IEs encontradas na literatura estão muito abaixo do que foi detectado no ecossistema de estudo, isso pode ser observado com clareza na tabela 12. Esse fato se agrava quando há comparação com estudos de outros países, onde é mais comum o estudo desses compostos em matrizes ambientais. Outro ponto determinante para o entendimento e interpretação dos resultados constatados é a escassez de pesquisas que monitorem os IEs na matriz sedimentar. Além da ausência de legislação regulatória para esses poluentes.

**Tabela 12** – Valores de concentração de IEs em sedimentos observados na literatura.

Composto	Local	Concentração	Referências
<b>BRASIL</b>			
Estrona (E1)	Curitiba - PR	<2,50 a 42,18	Machado, 2010
17 $\beta$ -estradiol (E2)	Curitiba - PR	< 2,50 a 137,91	Machado, 2010
	São Paulo- SP	18,9 a 71,2 9	Gonschorowski, 2013
17 $\alpha$ - etinilestradiol (EE2)	Curitiba - PR	<3,0 a 35,60	Machado, 2010
	Campinas - SP	501 a 4.390	Raimundo, 2007
Estriol (E3)	Porto Alegre - RS	6,2 a 716,8	Dallegrove, 2012
<b>OUTROS PAÍSES</b>			
Estrona (E1)	Espanha	11,88	Petrovice <i>et al.</i> , 2001
17 $\beta$ -estradiol (E2)	Reino Unido	0,20 a 13,00	Thomas <i>et al.</i> , 2004
17 $\alpha$ - etinilestradiol (EE2)	Espanha	22,82	Petrovice <i>et al.</i> , 2001

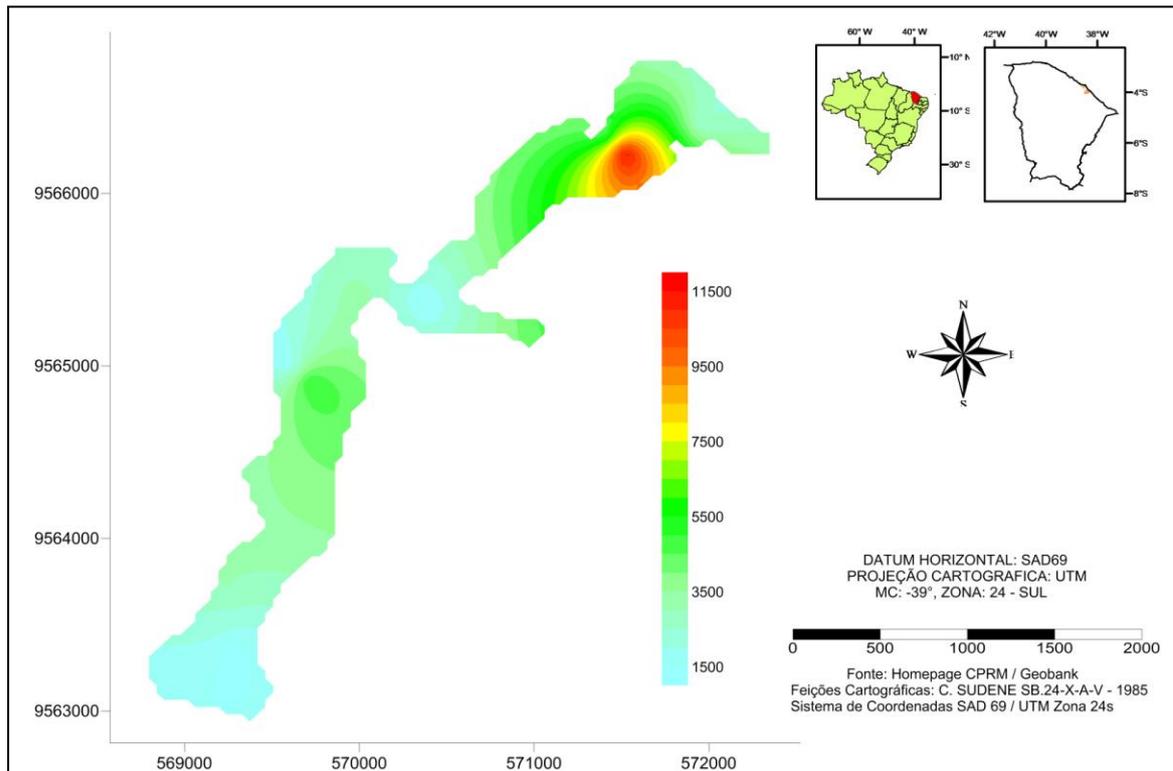
Fonte: Autora

Na figura 10 é possível visualizar de forma mais clara a distribuição dos interferentes endócrinos totais ( $\Sigma$ IEs). Nessa figura pode-se observar que a variação de concentração dos IE (na escala) foi de 1500, representada pela cor verde clara, e 11500, representada pela cor vermelha.

O ponto que apresentou a cor mais forte de vermelho foi onde se localiza o ponto C4, que foi justamente o local de maior concentração para o DES e EE2, que são os IEs que com maior representatividade na lagoa. O ponto 4 pode ser caracterizado pela proximidade com a foz da lagoa, ter um loteamento e construção de condomínio de casas, além de ser a zona de maior uso para recreação, pois tem bares e equipamentos de lazer, tais como caiaques e escorregadores.

As outras duas áreas mais urbanizadas apresentaram cores mais brandas, verdes claros entre as concentrações de 1500 e 3500. É possível que isso tenha ocorrido devido a altos níveis de nutrientes, e segundo Lintelmann *et al.* (2003) os IEs naturais são facilmente degradados nessas condições, pois nessas áreas há visível processo de eutrofização.

**Figura 10 - Mapa de distribuição de IEs na lagoa do Catú**



#### 6.4. Distribuição de esteróis em sedimento

As maiores concentrações (em ng/g) encontradas para esteróis totais, que compreende o somatório de todos os 7 esteróis analisados (coprostanol, colesterol, colestanol, ergosterol, campesterol, estigmasterol,  $\beta$ -sitosterol) foram de 15818,33 no ponto C1, 30308,02 no C4, 27125,84 no C6 e 18643,99 no C8. Esses mesmos pontos apresentaram as maiores concentrações de coprostanol, com valores de 9117,83 no C1; 16957,56 no C4; 15940,47 no C6 e 6734,48 no C8. A comparação das concentrações de coprostanol e  $\Sigma$ Esteróis totais pode ser melhor visualizada no gráfico abaixo (Tabela 13).

Tabela 13 - Gráfico de comparação das concentrações obtidas pelo COP e  $\Sigma$ Esteróis totais

Pontos Amostrais	$\Sigma$ Esteróis totais	COP
C1	15818,33	9117,83
C2	8789,96	4211,35
C3	1807,08	174,63
C4	30308,02	16957,56
C5	1189,53	259,29
C6	27125,84	15940,47
C7	9697,40	4538,02
C8	18643,99	6734,48
C9	2545,05	477,02
C10	11404,31	5846,82
C11	5439,97	1007,86
C12	10680,68	5129,54
C13	10636,16	5313,88
C14	12451,77	6162,47

Fonte: Autora

A justificativa para as altas concentrações de coprostanol no sedimento provavelmente são oriundas do aporte direto de esgotos domésticos de uma área carente de saneamento básico adequado. Pode-se notar, conforme já indicado pelos resultados apresentados, que, os pontos de maior concentração de coprostanol e esteróis totais são os pontos (C1 e C4) mais próximos da desembocadura da lagoa, e também os pontos (C6 e C8) que estão localizados na área mais afetada pelo aterramento para a construção de domicílios. A característica em comum desses quatro pontos é que estão dispostos distantes das margens, ou seja, estão no corte longitudinal do ecossistema lacustre.

Os pontos de menores concentrações foi o C3 com 174,63 (ng/g) para COP e 1807,08 para  $\Sigma$ Esteróis, C5 com 259,29 para COP e 1189,53 para  $\Sigma$ Esteróis e C9 com 477,02 para COP e para 2545,05  $\Sigma$ Esteróis. Diante dessas informações pode-se confirmar a suspeita que a contaminação por coprostanol e esteróis totais está mais agravada na área mais profunda da lagoa (no corte longitudinal), pois esses pontos com menores concentrações estão localizados nas áreas mais próximas da margem e os de maiores estão na área mais central.

O coprostanol, marcador utilizado em estudos sobre o aporte de esgotos devido à especificidade com material fecal de origem humana (MALDONADO *et al.*, 2000). Os

valores de coprostanol encontrados nesse trabalho foram, em geral, semelhantes aos encontrados em outras áreas no Brasil e no mundo. Os valores que mais se aproximaram aos desse trabalho foram os constatados por FROEHNER *et al.* (2010) na Bacia do rio Barigüi – Paraná (80 – 19600 ng/g) e COSTA; CARREIRA (2005) na Baía de Guanabara – Rio de Janeiro (140 – 10500 ng/g) (Tabela 14).

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

LOCAL	FAIXA DE CONCENTRAÇÃO COP (ng/g)	REFERÊNCIA
Lagoa do Catú – Aquiraz/CE	174 - 16957	Presente estudo
<b>BRASIL</b>		
Complexo estuarino-lagunar de Mundaú-Manguaba - Alagoas	150-5650	ARAUJO; COSTA; CARREIRA, 2011
Lagoa Rodrigo de Freitas – Rio de Janeiro	80 - 3980	VILELA <i>et al.</i> , 2011
Estuário Paranaguá - Paraná	< 1 - 2220	MARTINS <i>et al.</i> , 2010
Bacia do rio Barigüi - Paraná	80 - 19600	FROEHNER <i>et al.</i> , 2010
Baía de Sepetiba - Rio de Janeiro	n.d. - 4000	THOMAZELLI, 2010
Baía de Guanabara – Rio de Janeiro	140 – 10500	COSTA; CARREIRA, 2005
Baía de Guanabara – Rio de Janeiro	210 - 40800	CORDEIRO; CARREIRA; WAGENER, 2008
<b>OUTROS PAÍSES</b>		
Malásia e Vietnã	40-4500	ISOBE <i>et al.</i> , 2002
Rio Siak - Indonésia	50 – 10530	LIEBEZEIT; WOSTMANN, 2010
Zona costeira da cidade Kuwait - Kuwait	874 – 41230	SAEED <i>et al.</i> , 2012

Legenda: COP- coprostanol e n.d. - não detectado.

Fonte: Autora.

O esteroide individual mais abundante depois do coprostanol (49,2%) foi o  $\beta$ -sitosterol, representando 14,4%. E o de menor representatividade foi o ergosterol com 4,6%.

O  $\beta$ -sitosterol é produzido por vegetais superiores (VOLKMAN, 2005). Esse esteroide foi o mais abundante na área de estudo dentre os esteróides naturais analisados, apresentando concentrações na faixa de 61 a 6315 (ng/g). Esse composto foi bem distribuído ao longo da

ecossistema, tendo menores valores nos pontos C3 (338,28 ng/g), C5 (61,05 ng/g) e C9 (135,73 ng/g), evidenciando fonte terrestre de MO oriunda de plantas superiores na lagoa como um todo. Também foi observada a dominância de tal esterol na Baía de Sepetiba com valores oscilando de níveis não detectáveis a 18400 ng/g (THOMAZELLI, 2010).

O ergosterol é proveniente de fungos decompositores (GONG; GUAN; WITTER, 2001). Na área de estudo esse esterol foi registrado com concentrações baixas (2,7 – 1197 ng/g) quando comparadas aos outros esteróis, isso pode indicar baixa atividade microbiana na área de estudo.

O  $\beta$ -sitosterol, o estigmasterol e o campesterol são considerados os principais constituintes de plantas (HARTMANN, 1998), podendo ter suas fontes associadas a algas marinhas e fitoplâncton (VOLKMAN *et al.*, 1998). O estigmasterol obteve concentrações que variaram de 85 a 2816 (ng/g). Já o campesterol apresentou concentrações de 21 – 1657 (ng/g). As concentrações desses compostos estão correlacionadas com as concentrações do  $\beta$ -sitosterol ( $r=0,99$ ), sugerindo a mesma fonte para os mesmos.

O colesterol é um esterol natural presente no ambiente, é proveniente de organismos vivos como zooplâncton e fitoplâncton (Volkman *et al.*, 1998). Na literatura é reportado como o esterol mais abundante em ambiente estuarino não contaminado por esgoto, por ter muitas suas possíveis fontes (Dachs *et al.*, 1998; Fernandes *et al.*, 1999).

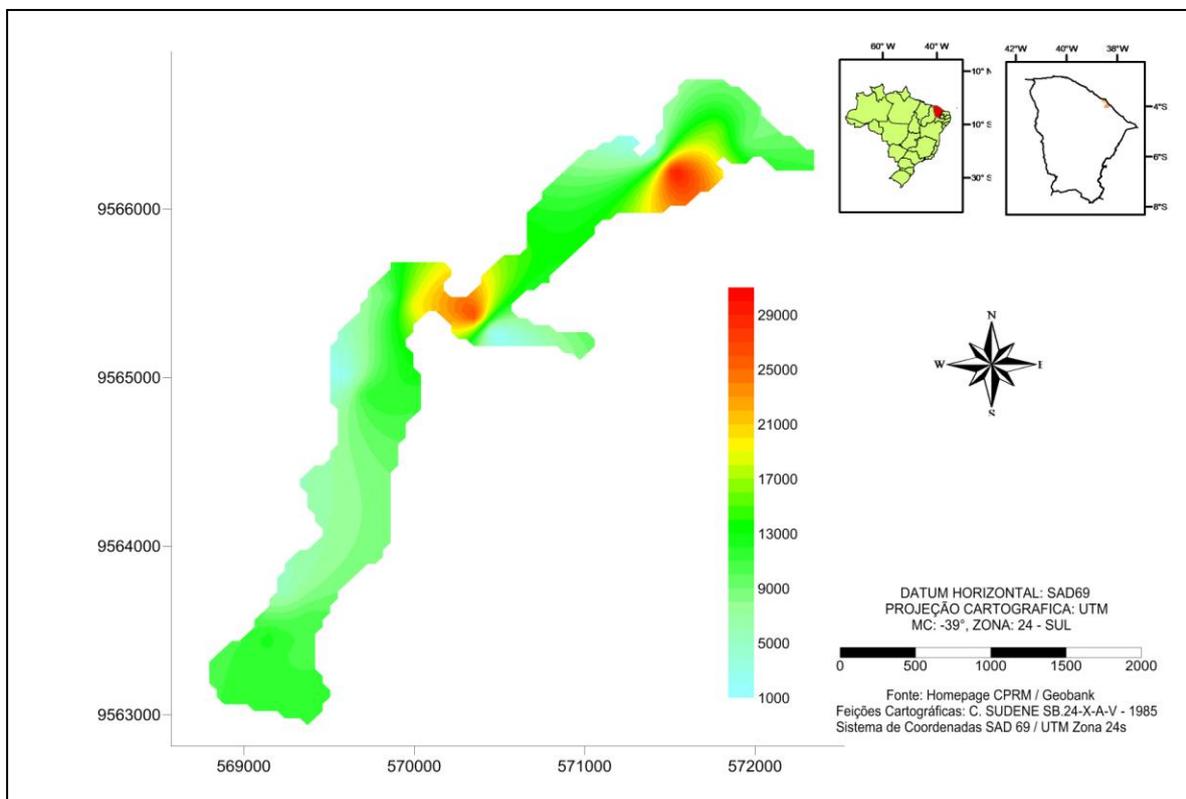
O colesterol é também o esterol precursor de outros esteróis inclusive de alguns quantificados nessa pesquisa. Exemplos de vias de degradação do colesterol são a redução *in situ* a coprostanol, a epi-coprostanol, a colestanol e/ou a epi-colestanol (CORDEIRO, 2006). Nesse trabalho, o colesterol teve abundância de 9%, isso provavelmente, se deve à degradação deste composto *in situ*, como é divulgado na literatura (Grimalt *et al.*, 1990; Carreira *et al.*, 2004), confirmando que a região de estudo é realmente impactada.

Na figura 11 é possível visualizar a distribuição dos esteróis totais ( $\Sigma$ esteróis) associando com as concentrações encontradas nessa pesquisa. Nesta figura é possível observar a variação de concentração (na escala) entre 1000 e 2900, onde o maior valor está com cor vermelha simbolizando zona de alta contaminação.

Os dois pontos que apresentaram as cores vermelhas e transformando em amarelo são os pontos onde foram constadas as maiores concentrações de esteróis totais, isso pode ser esclarecido por serem as áreas de maior impacto antrópico. O ponto mais próximo do centro da lagoa é fortemente ocupado por domicílios.

As áreas do mapa que apresentam cores verdes mais escuras são os pontos que detectaram concentrações ainda representativas para o estudo.

**Figura 11** - Mapa de distribuição de esteróis na lagoa do Catú



Fonte:Autora

Apesar da multiplicidade de fontes de alguns dos esteróis estudados, o uso destes compostos no estudo da contaminação por esgotos é viável, quando diretamente associados aos esteróis fecais através de razões entre as concentrações de diferentes compostos.

## 6.5. Índices para diagnóstico ambiental

Para melhor avaliar a introdução dos efluentes domésticos, algumas razões entre os esteróis são propostas para facilitar a identificação da contaminação da região estudada (Tabela 15).

**Tabela 15** – Resultados dos índices utilizados neste estudo.

Amostras de sedimento	Índice 1 <sup>a</sup>	Índice 2 <sup>b</sup>	Índice 3 <sup>c</sup>	Índice 4 <sup>d</sup>	Índice 5 <sup>e</sup>	Índice 6 <sup>f</sup>
C1	0,89	10,21	7,93	4,46	0,44	0,58
C2	0,88	2,75	7,23	1,99	0,72	0,48
C3	0,53	0,23	1,15	0,19	0,83	0,10
C4	0,87	8,75	6,71	3,80	0,43	0,56
C5	0,75	0,86	2,95	0,66	0,77	0,22
C6	0,91	9,46	9,78	4,81	0,51	0,59
C7	0,89	10,21	7,93	4,46	0,44	0,47
C8	0,89	4,00	8,22	2,69	0,67	0,36
C9	0,57	0,57	1,32	0,40	0,70	0,19
C10	0,91	8,39	9,72	4,50	0,54	0,51
C11	0,44	1,53	0,80	0,53	0,34	0,19
C12	0,86	6,46	5,99	3,11	0,48	0,48
C13	0,85	5,46	5,70	2,79	0,51	0,50
C14	0,90	3,34	9,47	2,47	0,74	0,49

Legenda: a)COP/(COP + COLESTAN); b)COP/COL; c)COP/COLN; d)COP/(COLN + COL); e)COL/(COL+COLN); f) COP/∑esteróis (%)  
COP (coprostanol); COLN (colestanol); COL (colesterol). Fonte: Autora.

O índice que compara os níveis de concentrações entre coprostanol e colestanol tendo valores acima que 0,7 é um indício que há contaminação por esgoto rico em fezes humana (GRIMALT *et al.*, 1990). Com isso, pode-se afirmar que 11 pontos (C1, C2, C4, C5, C6, C7, C8, C10, C12, C13, C14) estão contaminados, devido às concentrações acima de 0,7. E os outros três pontos (C3, C9, C11) segundo Grimalt *et al.*(1990) não podem ser consideradas pontos não contaminados porque obtiveram valores acima de 0,3 (Tabela 16). Os valores obtidos para esse índice (índice 1) foram entre 0,44 e 0,91 como pode ser observado na tabela 16. Diante desse resultado, para o índice 1 a lagoa do Catú é diagnosticada como área contaminada por esgoto doméstico.

O índice 2 que relaciona o coprostanol com colesterol, que são os principais esteróis em esgotos domésticos (MUDGE E BEBIANNO, 1997), para Takada *et al.* (1994); Mudge; Bebianno (1997) tendo valores  $> 1,0$  e  $< 1,0$  são considerados para as áreas contaminada e não contaminada, respectivamente. No presente estudo foi encontrado valores acima de 1 na maioria dos pontos amostrais, tendo apenas dois pontos com resultados abaixo de 1, os C3 com 0,23 como resultado da razão e C9 com 0,57. Estes dois fatos isolados pode está relacionado com a característica granulométrica dos pontos, pois somente eles foram classificados como areia média. Então, para o índice 2 a área é considerada contaminada.

Para a relação entre coprostanol e colestanol, índice 3, para a área ser considerada contaminada é necessário ter valores acima de 0,5 e para não ser contaminada terá assumir valores  $< 0,3$  (SHAH *et al.*, 2007) (Tabela 16). Assim sendo, a área de estudo é contaminada, pois não se obteve nenhum resultado abaixo de 0,3 (Tabela 15).

A relação entre coprostanol, colestanol e colesterol que se refere ao índice 4 obteve resultados entre 0,53 e 4,81 (Tabela 15), e na literatura assumi-se valores  $> 0,2$  e  $< 0,15$  para área contaminada e não contaminada, respectivamente (TAKADA E EGANHOUSE, 1998; CHAN *et al.*, 1998) (Tabela 16). Para esse índice a área foi também diagnosticada como contaminada.

O índice 5 é a razão entre o colesterol e colestanol e indica degradação preferencial e contribuição de esgoto. Devido ao fato do colestanol ser resultado da degradação do colesterol, esse índice Chalaux *et al.* (1995) sugeriu que a diferença entre uma área contaminada e não contaminada está em resultados  $> 0,7$  e  $< 0,7$  (Tabela 15). Nessa pesquisa obteve-se 8 pontos com valores abaixo de 0,7 (C1=0,44; C6=0,51; C7=0,44; C8=0,67; C10=0,54; C11=0,34; C12=0,48; C13=0,51) (Tabela 16) e os outros 6 pontos variaram entre 0,7 e 0,83. Para esse índice como a maioria dos pontos está abaixo do valor 0,7, a área é diagnosticada como não contaminada.

Para finalizar, a avaliação do índice 6 considera a lagoa não contaminada, pois os resultados obtidos estão abaixo dos valores de 5-6 (%) proposto por Hatcher e Mcgilivray (1979) (Tabela 16).

**Tabela 16** – Valores de referência dos índices diagnósticos usados para avaliação de aporte de esgoto na área de estudo.

Índices	Indicativo	Área contaminada	Área não contaminada	Referência
1*	Contaminação fecal humana	> 0,7	< 0,3	GRIMALT <i>et al.</i> (1990)
2*	Contribuição de esgoto	> 1,0	< 1,0	TAKADA <i>et al.</i> (1994); MUDGE; BEBIANNO (1997)
3*	Contaminação fecal humana	> 0,5	< 0,3	SHAH <i>et al.</i> (2007)
4*	Contribuição de esgoto	> 0,2	< 0,15	TAKADA E EGANHOUSE (1998); CHAN <i>et al.</i> , (1998)
5*	Degradação preferencial e contribuição de esgoto	> 0,7	< 0,7	CHALAUX <i>et al.</i> (1995)
6*	Contribuição de esgoto na MO	> 5 - 6 %	-	HATCHER E MCGILIVARY (1979)

\*Legenda: 1-COP/(COP + COLN); 2-COP/COL; 3-COP/COLN; 4-COP/(COLN + COL); 5-COL/(COL+COLN); 6-COP/∑esteróis (%)

Fonte: Adaptado de Cordeiro (2006)

Resumidamente, na tabela 17 esta apresentada o resultado final do diagnóstico da lagoa do Catú com base nos índices de relação entre os esteróis.

**Tabela 17** – Diagnóstico da lagoa com base nos índices de relação entre os esteróis

Índice	Diagnóstico da lagoa do Catú
Índice 1	Área contaminada
Índice 3	Área contaminada
Índice 4	Área contaminada
Índice 5	Área não contaminada
Índice 6	Área não contaminada

Fonte: Autora

Como a maioria dos índices constatou contaminação no ecossistema, pode-se afirmar que a lagoa está contaminada por esgotos domésticos, e esse fato se deve possivelmente a intensa urbanização existente na região e a carência de infraestrutura de saneamento básico.

Os índices 5 e 6, apresentaram um diagnóstico de não contaminação da área. Porém, de forma geral, esses índices refletem os efeitos da diagênese, transformações sofridas pelo sedimento depois da sua deposição, sobre a transformação dos esteróis no ambiente. Para se avaliar isso é necessário conhecer e monitorar os processos microbianos específicos que atuam no sistema (CORDEIRO, 2006).

Sendo assim, pode-se concluir que o ecossistema está realmente contaminado por aportes antrópicos.

#### 6.6. Correlação de esteróis e interferentes endócrinos com matéria orgânica.

A correlação entre os esteróis e IEs com a matéria orgânica foi de  $r=0,59$  e  $r=0,10$ , respectivamente. Para a correlação entre esteróis e IEs com material granulométrico fino, obtve-se  $r= 0,015$  e  $r=0,325$ . Já para os compostos e granulometria grossa não foi observada correlação positiva. Na tabela 18 estão discriminados os valores utilizados para calcular tais correlações.

Na estatística há autores que como Cohen (1988) que consideram valores para  $r$  entre 0,10 e 0,29 baixos, 0,30 e 0,49 médios e valores entre 0,50 e 1 altos. Já para Dancey e Reidy (2005) essa classificação é ligeiramente diferente:  $r = 0,10$  até 0,30 (fraco);  $r = 0,40$  até 0,60 (moderado);  $r = 0,70$  até 1 (forte). Essas classificações existem devido a dificuldade de se encontrar valores perfeitos ou extremos (como 0 ou 1), por isso é necessário conhecer outras formas de interpretação (FIGUEIREDO FILHO, SILVA JÚNIOR, 2009). Essa dificuldade é extremamente presente em pesquisas com matrizes ambientais, pois são compartimentos complexo onde ocorrem inúmeros fatores e efeitos.

Então, o coeficiente de correlação para esteróis e MO para Cohen (1988) pode ser considerado um valor representativo, ou seja, há correlação entre as duas variáveis em análise. Já para Dancey e Reidy (2005) não há essa correlação.

Porém, se levado em consideração a situação detectada pelo índice 6 das relações entre esteróis (Tabela 15), que indica contribuição de esgoto na MO, pode-se concordar com Dancey e Reidy (2005) que não há correlação entre esteróis e MO no ambiente de estudo dessa pesquisa, pois o índice resultou em área não contaminada.

Para a correlação entre esteróis e IEs com a fração fina do sedimento é considerada baixa, seguindo Cohen (1988) e Dancey e Reidy (2005). Machado (2010) encontrou correlação entre finos e IEs de 0,58 e justificou esse valor pela provável presença de outros compostos mais hidrofóbicos que os IEs na área de estudo.

Enquanto para resultado obtido para o  $r$  em relação os IE e MO ( $r=0,10$ ) para os dois autores é considerado baixa correlação, ou seja, sem correlação entre as variáveis.

**Tabela 18** - Valores usados para calcular o coeficiente de correlação *pearson* ( $r$ ) entre esteróis e frações granulométricas e matéria orgânica (MO)

Amostras sedimentar	$\Sigma$ Esteróis	$\Sigma$ IEs	MO(%)	Finos (%)	Grosso (%)
C1	15818,33	4683,40	4,36	62,931	37,07
C2	8789,96	2557,73	2,65	93,854	6,146
C3	1807,08	4616,39	0,22	89,98	10,02
C4	30308,02	11567,83	4,23	94,681	5,32
C5	1189,53	1950,87	0,31	93,961	6,039
C6	27125,84	1516,27	3,51	67,624	32,375
C7	9697,40	2733,87	5,22	91,639	8,36
C8	18643,99	3349,83	5,08	93,252	6,748
C9	2545,05	1690,91	1,45	64,608	35,392
C10	11404,31	4952,09	3	80,777	19,223
C11	5439,97	3025,63	0,31	72,119	27,881
C12	10680,68	1335,16	5,29	77,92	22,08
C13	10636,16	2394,01	5,35	44,145	55,855
C14	12451,767	2230,57	3,07	76,721	23,278

Fonte: Autora

## 7. CONCLUSÃO

Foram identificados e quantificados sete esteróis na lagoa do Catú (colesterol, colestanol, coprostanol, estigmasterol, campesterol,  $\beta$ -sitosterol e ergosterol) e seis interferentes endócrinos (estrona,  $17\alpha$ -estradiol,  $17\beta$ -estradiol,  $17\alpha$ -etinilestradiol, dietilestilbestrol e estriol).

Os IEs que obtiveram maior abundância no ambiente de estudo foram o DES e EE2, que são sintéticos e o estrogênio natural de maior representatividade foi o E1, isso pode ser explicado pela particularidade desses hormônios serem excretados de forma diária e contínua no esgoto.

Os hormônios naturais E1, E2 e E3 estão na classe dos estrogênios mais potentes, ou seja, tem o poder de regular ou desregular o sistema endócrino com eficácia. Isso significa que quando presentes no ambiente, mesmo em níveis de traço podem causar efeitos graves ao ciclo natural do ambiente. Apesar de terem sido os compostos com menores concentrações no presente estudo, quando comparados aos resultados de outros trabalhos foi observado que os valores encontrados são elevados.

Dentre os esteróis os mais abundantes foram o coprostanol (49,2%), que é o esterol fecal, seguido do  $\beta$ -sitosterol, representando 14,4%, que é um esterol natural.

O coprostanol que é o principal indicador de contaminação por aportes antrópicos, obteve os maiores valores de concentração presente estudo. Embora não possível usar o coprostanol para estabelecer um valor de referência para contaminação fecal, ao comparar com as concentrações obtidas em outras áreas no Brasil e no mundo, pode-se considerar que a lagoa do Catú apresenta contaminação por esgotos ainda incipiente.

Para confirmar esse diagnóstico foram usados os índices diagnósticos de impacto, onde foi constatado que para os índices 1 a 4 a área está contaminada e nos índices 5 e 6 área não está contaminada. Porém, esses últimos índices sofrem os efeitos da diagênese, sobre a transformação dos esteróis no ambiente. Por isso pode-se concluir que em relação aos índices diagnósticos o ecossistema está realmente contaminado por aportes antrópicos.

Diante dos valores observados, é possível afirmar que a lagoa do Catú está contaminada e esse cenário pode ser atribuído aos serviços de saneamento básico inadequado e/ou inexistente.

O presente estudo fornece os primeiros dados de análise de contaminação por esgotos domésticos usando os marcadores moleculares, esteróis fecais e interferentes endócrinos no estado do Ceará, mais especificamente na lagoa do Catú.

Tendo em vista a importância desse ecossistema para sua região, esse diagnóstico será útil para indicar os níveis atuais que proporcionam um melhor entendimento da qualidade ambiental e servirão como referência para promover uma gestão que visa garantir a preservação, conservação e recuperação dos ambientes lacustres.

## REFERÊNCIAS

- ABESSA, D. M. S., SOUSA E. C. P. M. & TOMMASI L. R. 2006 **Utilização de testes de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos marinhos**. Revista de Geologia, Vol. 19, nº 2, 253-261. 2006b.
- ABESSA, D. M. S.; BÍCEGO, M. C.; SARKIS, J. E.; HORTELLANI, M. A. ; SOUSA, E. C.P. M. 2006 **Predictive power of sediment quality guidelines for sediments from the Santos Estuarine System**. In: Jorge Herkovitz. (Org.). Salud Ambiental y Humana: una Vision Holistica. Buenos Aires: SETAC Latinoamerica, v.1, p. 55-57. 2006.
- ANVISA -Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**, Resolução RE nº899 de 29/05/2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2003.
- ARINE, A.L.F. O.; WATANABE, C.H.; SILVA, J.P. **Análise De Interferentes Endócrinos Em Estudos Ecotoxicológicos**. 2013 . Pós Graduação Em Ciências Ambientais. Universidade Estadual Paulista - Unesp.
- BAYONA, J. E ALBAIGÉS, J. (2006). **Sources and Fate of Organic Contaminants in the Marine Environment**. pp. 323-370.
- BEZERRA, M.F. **Esteróis fecais utilizados como indicadores de contaminação por lançamento de esgoto - rio Pacoti, Ceará**. 2013. 44p. Monografia - Instituto de Ciências do mar (LABOMAr), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2013.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências**. Química Nova,São Paulo, v.30, n.3, p.651-666, 2007.
- BILA, D.M.; DEZOTTI, M. **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências**. *Quím. Nova* [online]. 2007, vol.30, n.3, pp. 651-666. ISSN 0100-4042.
- BIRKETT, J. W.; LESTER, J. N. **Endocrine Disrupters inWastewater and Sludge Treatment Process**. Lewis Publishers, (2003).
- BRANDÃO, Ricardo de Lima. Regiões Costeiras. In: SILVA, Cássio Roberto da. **Geodiversidade do Brasil: conhecer o passado, para entender o presente e prever o**
- BRAUN, J. A. F. **Uso de esteróides na avaliação de aportes antrópicos e naturais da matéria orgânica no Complexo Estuarino de Paranaguá**. Rio Grande, 2006. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica) – Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.
- BROWNAWELL, B. J.; FARRINGTON, J. W. **Biogeochemistry of PCBs in interstitial waters of a coastal marine sediment**. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 50, n. 1, p. 157-169, 1986.

- BURGESS, R.M. E SCOTT, J.K., 1992, **The significance of in place contaminated marine sediments on the water column: Processes and effects**. In: Burton, G.A. (Ed.). Sediment toxicity assessment. Lewis Publishers, Inc., Chelsea. pp. 313-340.
- 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 Agronômico, p. 77, 2009. (Boletim técnico, 106, Edição revista e atualizada).
- 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.
- CARREIRA, R. S.; RIBEIRO, P. V.; SILVA, C. E.; FARIAS, C. O. Hydrocarbons and sterols as indicators of source and fate of organic matter in sediments from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1805-1811, 2009.
- CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R. e 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, pp. 587-598, 2004.
- CARREIRA, R.; WAGENER, A. L. R.; FILEMAN, T. e READMAN, J. W. **Distribuição de coprostanol (5b(H)-colestano-3b-ol) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: indicador da poluição recente por esgotos domésticos**. Química Nova, v.24, n.1, pp. 37-42, 2001.
- CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; FERNANDES, G. M.; DUAÍ, W. C. **Relation factor: A new strategy for quality control in the determination of pesticides in environmental aqueous matrices**. Talanta (Oxford), p. 212-218, 2012.
- CAVALCANTE, R.M. **Otimização de metodologias de extração e análise de HPAs para determinação da distribuição ambiental e estimativa de fontes na cidade de Fortaleza**. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- 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.
- CHALAUX, N.; TAKADA, H. e BAYONA, J. M. **Molecular markers in Tokyo bay sediments: sources and distribution**. Marine Environmental Research, v.40, n.1, pp. 77- 92, 1995.
- 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.

- CHOI, S. M.; YOO, S. D.; LEE, B. M. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews*, v. 7, n. 1, p. 1-32, Jun 2004.
- CHONG, M. N., JIN, B., CHOW, C. W. K. AND SAINT, C. (2010) **Recent developments in photocatalytic water treatment technology: a review**. *Water Research* 44: 2997-3027. (4.36)
- CHOWDHURY, R. R.; CHARPENTIER, P. A.; RAY, M. B. *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry*, v. 219, n. 1, p. 67-75, Mar 5 2011.
- CLARA, M.; STRENN, B.; SARACEVIC, E.; KREUZINGER, N.; *Chemosphere* 2004, 56, 843.
- CLARK, R. B. (2001). *Marine Pollution*. Oxford University Press, USA. 248 p.
- COHEN, Jacob. (1988), **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. Hillsdale, NJ, Erlbaum.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 7ª ed., Editora da UNICAMP: Campinas, 1997.
- COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. SEC-1372 - **on implementation of the Community Strategy for Endocrine Disrupters - a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife**(COM (1999) 706). Brussels 2004.
- CONNEL, D. W.; HAWKER, D. W. **Pollution in tropical aquatic systems**. Boca Raton: CRC, 1991.
- CORDEIRO, L. G. S. M. **Esteróis como marcadores moleculares da contaminação fecal no sistema estuarino Iguaçú-Sarapuá, noroeste da Baía de Guanabara (RJ)**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.
- CORDEIRO, L. G. S. M.; CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R. **Geochemistry of fecal sterols in a contaminated estuary in southeastern Brazil**. *Organic Geochemistry*, v. 39, n. 8, p. 1097–1103, 2008.
- COSTA, Renata Lima da; CARREIRA, Renato S. **A comparison between faecal sterols and coliform counts in the investigation of sewage contamination in sediments**. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 53, n. 3-4, p. 157-167, 2005.
- DANCEY, Christine & REIDY, John. **Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows**. Porto (2006)
- DENOUX, G.; WANG, B. **Quantitative determination of polynuclear aromatic hydrocarbons by gas chromatography/mass spectrometry using the selected ion monitoring mode**. *Geochemical and Environmental Research Group*, v. 3, p. 2 – 28, 1998.

- EGANHOUSE, R. P. **Molecular markers and environmental organic geochemistry: An overview.**, R.P. Eganhouse, 1997. p. 1-20.
- EGANHOUSE, R. P.; BLUMFIELD, D. L.; KAPLAN, I. R. Long-chain alkylbenzenes as molecular tracers of domestic wastes in the marine environment. **Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 9, p. 523-530, 1983.
- EGANHOUSE, R. P.; SHERBLUM, P.M. Anthropogenic organic contaminants in the effluent of a combined sewer overflow: impact on Boston Harbor. **Marine environmental Research**, v. 51, n. 1, p. 51-74, 2001.
- FATTORE, E.; BENFENATI, E.; MARELLI, R.; COOLS, E.; FANELLI, R. Sterols in sediment samples from Venice Lagoon, Italy. **Chemosphere**, v. 33, p. 2383-2393, 1996. fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. **Environmental Science & Technology**, v.24, pp. 357-363, 1990. **futuro**. Rio de Janeiro: CPRM, 2008. 264 p.
- FIGUEIREDO FILHO, D.B.; SILVA JÚNIOR, J.A. **Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (*r*)**. Revista Política Hoje, Vol. 18, n. 1, 2009.
- FROEHLER, S.; SOUZA, D. B.; MACHADO, K. S.; DA ROSA, E. C. **Tracking anthropogenic inputs in Barigui River, Brazil using biomarkers**. Water, Air, & Soil Pollution, v. 210, n. 1-4, p. 33-41, 2010.
- GHISELLI, G.; JARDIM, W.F. **Interferentes endócrinos no ambiente**. Química Nova, v.30, n.3, p.695-706, 2007.
- GOLDBURG, R. J.; ELLIOT, M. S.; NAYLOR, R. L. In: **Marine Aquaculture in United States: environmental impacts and policy options**. Arlington: PEW Oceans Commission, 2001. 44 p.
- GOMES, Maria Luzineide. **Aspectos hidrológicos, sedimentológicos e impactos ambientais na lagoa costeira do Rio Catu-Aquiraz-Ceará**. 2003. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.
- GONDIM, V. S. A.; ALEXANDRE, M. S. **Uso do Sensoriamento Remoto na identificação da Pressão Antrópica na Lagoa do Catú- Aquiraz / Ceará**. In: XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 2009, Natal. Anais. INPE, 2009, p. 3859-3865
- 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.
- GRIMALT, J. O.; FERNANDEZ, P.; BAYONA, J. M. e ALBAIGES, J. Assessment of HERNANDES, J.C. **Determinação de marcadores orgânicos no perfil sedimentar do complexo estuarino de Paranaguá (PR) por CG-EM**. 2009. 117p. Dissertação - Programa de Pós Graduação em Química Tecnológica e Ambiental - Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS. 2009.
- HATCHER, P. G. e MCGILIVARY, P. A. **Sewage contamination in the New York Bight: Coprostanol as an indicator**. Environmental Science & Technology, v.13, n.10, pp. 1225-1229, 1979.

- HUNG, C.C.; GONG, G. C.; CHEN, H. Y.; HSIEH, H. L.; SANTOSCHI, 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
- IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **GEO Brasil 2002 – Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil** / Organizado por Thereza Christina Carvalho Santos e João Batista Drummond Câmara. - Brasília: Edições IBAMA, 2002. 440p. ISBN 85 - 7300 - 144 – 5.
- INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos.** DOQ-CGCRE-008 – Revisão 02; p. 25, 2007.
- IPECE, Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará - **Perfil Básico Municipal - Aquiraz 2012.** Disponível em: <[http://www.ipece.ce.gov.br/publicacoes/perfil\\_basico/pbm-2012/Aquiraz.pdf](http://www.ipece.ce.gov.br/publicacoes/perfil_basico/pbm-2012/Aquiraz.pdf)> Acessado em: 18/12/2013
- ISOBE, K. O.; TARAO, M.; ZAKARIA, M. P.; CHIEM, N. H.; MINH, L. Y.; TAKADA, H. Quantitative Application of Fecal Sterols Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry To Investigate Fecal Pollution in Tropical Waters: Western Malaysia and Mekong Delta, Vietnam. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 21, p. 4497-4507, 2002.
- IUPAC. **Use of the terms “recovery” and “apparent recovery” in analytical procedures.** *Pure and Applied Chemistry*, 2002, v. 74, p. 2201 – 2205.
- JOBLING, S.; SUMPTER, J. P.; *Aquat. Toxicol.* 1993, 27, 361.
- KASSAB, N. **Determinação de Hormônios Esteroides em Contraceptivos orais por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).** 201f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas-Universidade de São Paulo. São Paulo, 2001.
- KENNISH, M. J. **Practical handbook of estuarine and marine pollution.** Boca Raton: CRC, 1997. 524 p.
- LANÇAS, F.; **Validação de métodos cromatográficos de análise.** Editora RiMa: São Paulo 2004, 9-28.
- LAW, R. J.; BISCAYA, J. L. **Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) – Problems and progress in sampling, analysis and interpretation.** *Marine Pollution Bulletin*, v. 29, n. 4/5, p. 235-241, 1994.
- LIEBEZEIT, G.; WOSTMANN, R. **Coprostanol in Siak River Sediments, E 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]. 2009, vol.32, n.5, pp. 1338-1341. ISSN 0100-4042.
- LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L.; WENZEL, A. **Endocrine disruptors in the environment – IUPAC Technical Report.** *Pure Applied Chemistry*. v. 75, nº5, p. 631-681, 2003.
- LOURENÇO, R.A. **Metodologia para determinação de biomarcadores geoquímicos orgânicos em sedimentos – hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, esteróis e alquenonas.** São Paulo, 2003. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo.
- MALDONADO, C.; VENKATESAN, M.I.; PHILLIPS, C.R.; BAYONA, J.M. **Distribution of Trialkylamines and Coprostanol in San Pedro Shelf Sediments Adjacent to a Sewage Outfall.** *Marine Pollution Bulletin*, v.40, p. 680-687, 2000.
- MARTINS, C. C.; BRAUN, J. A.; 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*, v. 60, n. 11, p. 2137-2143, 2010.
- MARTINS, C. C.; FERREIRA, J. A.; TANIGUCHI, S.; MAHIQUES, M. M.; BÍCEGO, 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, 2008a.
- MARTINS, C. C.; GOMES, F. B. A.; FERREIRA, J. A.; MONTONE, R. C. **Organic markers of sewage contamination in surface sediments from Santos bay, São Paulo.** *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1008-1014, 2008.
- MARTINS, C.C. **Avaliação de introdução de esteroides fecais e hidrocarbonetos marcadores geoquímicos em sedimentos da baía da Almirantado, Península Antártica.** 2001. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oceanográfico, São Paulo, 2001.
- MCNAIR, H. M.; MILLER, J. M.; **Basic Gas Chromatography**, John Wiley & Sons, Inc.: Nova Iorque, 1998.
- MEYER, Armando et al. Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação de disruptores endócrinos? **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro: 15 (4):845-850, out-dez, 1999.
- MMA - Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros.** Brasília: MMA/SBF, 2002. 404 p.

- MMA. Ministério do Meio Ambiente. **RESOLUÇÃO Nº 005, DE 03 DE DEZEMBRO DE 1997. Aprova o Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro II (PNGC II).** Diário Oficial da União nº 9, de 14 de janeiro de 1998, Seção I, p.36-37.
- MOURA, J.A.S.; YOGUI, G.T. 2012. **Limpeza e preparação de vidrarias para análise de compostos orgânicos.** Procedimento Operacional Padrão OrganoMAR-2012-05, Revisão nº 1. Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinhos, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, 6p.
- MUDGE, S. M. e BEBIANNO, M. J. Sewage contamination following an accidental spillage in the Ria Formosa, Portugal. **Marine Pollution Bulletin**, v. 34, n. 3, p. 163-170, 1997.
- 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.
- MULLER, M. *et al.* **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, n. 8, p. 1649-1658, Aug 2008.
- NASCIMENTO, F.R; CARVALHO, O. **Ocupação, uso da terra e economia sustentável na bacia metropolitana do Pacoti – nordeste do Brasil – Ceará.** Revista da casa da geografia de sobral. Sobral, v. 4/5, p. 101-113, 2002/2003.
- OLIVEIRA, G.G. & MEIRELES, A.J.A. Dinâmica Geoambiental a partir da “Litoralização” de Aquiraz, Ceará, Brasil. In: **Revista Eletrônica do Prodepa – REDE**, Fortaleza, v.5, n.2, p. 50-68, jun. 2010. Disponível em: <<http://www.prodema.ufc.br/revista/>> Acesso em: 19 dez. 2011.
- PESSOA, GERMANA DE PAIVA. **Avaliação de desreguladores endócrinos e do micropoluinte colesterol em estações de tratamento de esgoto sanitário.** Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Fortaleza, 2012.
- PETERS, K. E., WALTERS, C. C. & MOLDOWAN, J. M.; **The Biomarker Guide: Biomarkers and Isotopes in the Environment and Human History.** Cambridge University Press, 2005a, 471 p.
- PHILP, R. P.; **Fossil fuel biomarkers: Applications and spectra.** Elsevier Science Ltd, New York, NY. 1985, 306 p.
- PINHEIRO, L. S., CABRAL, N. R. A. J. **Níveis de Ocupação nas Áreas de Preservação Permanente no Entorno da Lagoa do Catú, Aquiraz-CE.** II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica. 2007. João Pessoa – PB – Brasil.
- PINHEIRO, Lidriana de Souza; MORAIS, Jäder Onofre de. **Interferências de barramentos no regime hidrológico do estuário do rio Catú-Ceará-Nordeste do Brasil.** Soc. nat. (Online). 2010, vol.22, n.2, pp. 237-250. ISSN 1982-4513.
- POWER, E. A.; CHAPMAN, P. M. **Assessing sediment quality.** In: BURTON JR., A. G. (Ed.). Sediment toxicity assessment. Boca Raton: Lewis, 1992. cap. 1, p. 1-18, 1992.

- 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.
- PRITCHARD, D. W. **Salinity distribution and circulation in the Chesapeake bay estuarine system.** *Journal of Marine Research*, v. 11, p. 106-123, 1952.
- PROBIEA - Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira /Educação ambiental. **Guia de ambientes costeiros e marinhos.** Instituto de ciências Biológicas – Universidade de Brasília (UNB), Brasília, DF. 2011.
- RIBA, I.; FORJA, J.M.; GÓMEZ-PARRA, A.; DELVALLS, T.A. 2004. **Sediment quality in littoral regions of the Gulf of Cadiz: a triad approach to address the influence of mining activities.** *Environmental Pollution* 132, 341-353.
- 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, out. 2004.
- 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.
- SAVICHTCHEVA, O.; OKABE, S. **Alternative indicators of fecal pollution: Relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives.** *Water Research*, v. 40, n. 13, p. 2463-2476, 2006.
- SERAFIM, C. F. S.; HAZIN, F. **O ecossistema costeiro.** In CHAVES, P.T. (Org.). *Geografia: O mar no espaço demográfico.* Brasília: Ministério da Educação, 2006. Cap.4, 103 f.
- 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.
- SODRÉ, F.F.; LOCATELLI, M.A.F.; JARDIM, W.F. **Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: a sewage – to- tap issue.** Water, Air & Soil Pollution, v.206, p.57-67, 2010.
- SUGUIO, K. **Introdução à Sedimentologia.** Editora Edgard Blucher Lt-EDUSP, São Paulo, 1973. 317 p.
- TAKADA, H. & EGANHOUSE, R. P.; **Molecular markers of anthropogenic waste.** In RA MEYERS (ed.), Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1998, p. 2883-2940.
- TAKADA, H.; FARRINGTON, J. W.; BOTNER, M. H.; JOHNSON, C. G.; TRIPP, B. W. **Transport of sludge derived organic pollutants to deep-sea sediments at deep water dump site 106.** Environmental science & technology, v. 28, n. 6, p. 1062-1072, 1994.
- TERNES, T.A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R-D; SERVOS, M. **Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil.** The Science of the Total Environment, v. 225, p.81-90, 1999
- THOMAZELLI, F. F. **Composição da matéria orgânica no gradiente estuarino da baía de Sepetiba/RJ.** 2010. Tese de doutorado. Universidade Federal de Fluminense, Niterói, 2010
- THORPE. K.L.; MAACK, G.; BENSTEAD, R.; TYLER, C.R. **Estrogenic wastewater treatment works effluents reduce egg production in fish.** Environmental Science & Technology, v. 43, n.8, p. 2976-2982, 2009.
- TUCCI, CARLOS E. M.; HESPANHOL, IVANILDO; CORDEIRO NETTO, OSCAR DE M. **Gestão da água no Brasil – Brasília : UNESCO, 2001. 156p. ISBN: 85-87853-26-0**
- UNEP. United Nations Environment Programme. Determinations of petroleum hydrocarbons in sediment. **Reference methods for marine pollution studies**, n. 20, p. 1-75, 1992.
- USEPA, 2007. **Method 3500C organic extraction and sample preparation.** Disponível em: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3500c.pdf>. Acessado em: 24.dez.2013
- 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.
- WATERSON, E. J.; CANUEL, E. A. Sources of sedimentary organic matter in the Mississippi River and adjacent Gulf of Mexico as revealed by lipid biomarker and  $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOC}}$  analyses. **Organic Geochemistry**, v. 39, n. 4, p. 422-439, 2008.
- WEBER, R. R. **Sistemas costeiros e oceânicos**. Química Nova, v. 15, n. 2, p. 137-143, 1992.