

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA EM ÁGUAS FLUVIAIS

ROBSON CAMPOS DE FREITAS

Seropédica - RJ

Janeiro/2016



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA EM ÁGUAS FLUVIAIS

ROBSON CAMPOS DE FREITAS

Orientadora: Maria Alice Cruz Lopes Oliveira

Seropédica, RJ

Janeiro/2016

Freitas, Robson Campos de.

Determinação de cafeína em águas fluviais / Robson Campos de Freitas. – Seropédica: UFRRJ/DEQ, 2016.

XII, 52 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadora: Maria Alice Cruz Lopes Oliveira

Monografia (graduação) – UFRRJ/ DEQ/ IT/ Curso de Engenharia Química, 2015.

Referências Bibliográficas: p. 35-40.

1. Contaminantes emergentes. 2. Esgoto Doméstico. 3. Cromatografia Líquida. I. Oliveira, Maria Alice Cruz Lopes. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia, Curso de graduação em Engenharia Química. III. Determinação de cafeína águas fluviais.

Reitor: Ana Maria Dantas Soares
Vice-reitor: Eduardo Mendes Callado
Pró-reitor de graduação: Lígia Machado
Diretor do Instituto de Tecnologia: Gilson Cândido Sant'anna
Coord. do curso de Engenharia Química: Paulo Jansen de Oliveira
Chefe do Depto. de Engenharia Química: Maria Alice Cruz Lopes Oliveira
Professores Responsáveis pela Monografia: Dilma Alves Costa
Hélio Fernandes Machado Júnior
Rui de Góes Casqueira

Data da Defesa: 08/01/2016

Resultado: (X) APROVADO () REPROVADO

Nota: 9,5

MONOGRAFIA APROVADA EM 08/01/2016.

COMISSÃO EXAMINADORA

1º Examinador Prof.^a Dra. Maria Alice Cruz Lopes Oliveira (Orientador)
DEQ/IT/UFRRJ

Assinatura Maria Alice Cruz Lopes Oliveira

2º Examinador Prof. Dr. Leonardo Duarte Batista da Silva.
DE/IT/UFRRJ

Assinatura Leonardo Duarte Batista da Silva

3º Examinador Prof.^a Dra. Glória Maria Direito
DMIV/IV/UFRRJ

Assinatura Glória M. Direito



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ROBSON CAMPOS DE FREITAS

DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA EM ÁGUAS FLUVIAIS

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia Química do Instituto de Tecnologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para integralização dos créditos do Curso de Engenharia Química

Orientadora: Maria Alice Cruz Lopes Oliveira

Seropédica, RJ
Janeiro/2016

RESUMO

Os contaminantes emergentes são compostos orgânicos, sintéticos ou naturais contidos em produtos consumidos diariamente, geradores de resíduos que atingem águas fluviais, através do esgoto tratado ou não. Essas águas mesmo sendo tratadas pelas Estações de Tratamento carregam consigo, mesmo que em uma pequena parcela, esses contaminantes em potencial. Um dos grandes compostos, que vem ganhando notoriedade e consegue de forma eficiente determinar a presença de contaminação por esgoto doméstico e desses contaminantes emergentes, é a cafeína. Esse trabalho faz um estudo teórico prévio e coleta de dados de todo o conteúdo para o entendimento da proposta de quantificar a cafeína presente nessas águas superficiais de dois rios específicos. Amostras serão recolhidas sazonalmente ao longo do ano, de dois rios inseridos na bacia hidrográfica do Guandu RJ, o Valão dos Bois, município de Seropédica e do rio Da onça, município de Paracambi. Serão feitas análises de caracterização das amostras, tais como: pH, cor, condutividade, oxigênio dissolvido (OD), demanda química de oxigênio (DQO), coliformes totais, *E. coli* contagem de bactérias heterotróficas a fim de estabelecer a qualidade da água estudada e em paralelo quantificar a cafeína através da análise de cromatografia líquida de alta resolução (CLAE) equipada com detector UV (274nm).

Palavras-chave: *Contaminantes emergentes. Esgoto Doméstico. Cromatografia Líquida.*

ABSTRACT

Emerging contaminants are organic, natural or synthetic compounds contained in products of daily consumption, waste generators that reach river waters by whether or not treated sewage. Although these waters are treated by treatment plants, takes with itself, even in a small part, these potential contaminants. A major compound, which is gaining notoriety and can efficiently determine the presence of contamination of sewage and those emerging contaminants, is caffeine. This work is a previous theoretical study of all content for understanding the proposal to quantify the caffeine in these surface waters of two specific rivers. Samples will be collected seasonally throughout the year of two rivers inserted in the basin of Guandu RJ, the Valão dos Bois, on Seropédica City and Da Onça River on Paracambi City. Characterization analysis will be made of samples, such as pH, turbidity, color, conductivity, dissolved oxygen (DO), chemical oxygen demand (COD) and total coliforms in order to establish quality of water and in parallel measuring caffeine by liquid chromatography analysis (HPLC) equipped with UV detector (274nm).

Keywords: *Emerging contaminants. Domestic Sewage. Liquid Chromatography.*

Dedico este trabalho a minha mãe Rita de Cássia e a avó Maria de Lourdes (*in memoriam*),
meus baluartes e minhas maiores incentivadoras.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar comigo em todos os momentos; pelas oportunidades concedidas e dificuldades encontradas, que me fizeram crescer para que eu seguisse cada vez mais forte perante a qualquer adversidade.

À minha mãe Rita de Cássia e avó Maria de Lourdes (*in memoriam*), pelo amor incondicional, por entenderem as dificuldades da estrada que escolhi sempre me dando apoio, me encorajando nos momentos em que não acreditávamos em mim mesmo.

À minha namorada, Izadora pela amizade, consideração e motivação. Além de ser uma inspiração com seu exemplo de dedicação e profissionalismo.

À minha grande família pela compreensão das minhas faltas.

À minha orientadora, Prof. Dra. Maria Alice Cruz Lopes Oliveira, por ser uma segunda mãe nos últimos anos da minha graduação. Pela ajuda e confiança no meu trabalho. Além da dedicação e persistência para o andamento da pesquisa.

À Prof. Dra. Clarissa Oliveira da Silva por me mostrar o verdadeiro significado de competência. E por me ensinar que nossas batalhas são pelos ideais e não pelo reconhecimento.

À Prof. Dra. Ana Lucia dos Santos Barbosa, por além de ser mestre e conselheira, me ensinar que a vida é simples, leve e divertida. E que Engenharia, assim como Belas Artes, é puro sentimento.

Ao Prof. Dr. Leonardo Duarte Batista da Silva pelas as ajudas laboratoriais e no andamento da pesquisa mesmo com todas as dificuldades encontradas.

À Prof. Dra. Gloria Maria Direito pelas ajudas laboratoriais intermináveis de utilização do aparelho de HPLC.

Ao amigo LaoLi por me mostrar que ensinamentos independem de língua, raça ou espaço geográfico.

À Coordenação do Curso de Engenharia Química e todo o corpo docente, por me proporcionar uma formação de qualidade como também grandes lições de vida.

Ao Comitê da Bacia Hidrográfica do Guandu/RJ, por financiar parte da pesquisa.

À técnica Julia pela competência, dedicação e auxílio nas análises DQO e pelas palavras de incentivo.

À nobre engenheira e amiga Barbara, pela compreensão, companheirismo e acima de tudo amizade. Além de ceder seu grandioso tempo em tutoriais das análises.

Aos meus amigos que me deram forças com o entretenimento, ócio e criatividade, Aninha, Caio, Crisoca, Rick, Dudu, Ale, Léo, Brunno, Mauro, Úrsula, Elaine, Silvio, Leifer e Joia.

Às minhas nobres futuras engenheiras que me marcaram nessa jornada acadêmica, compartilhando alegrias e tristezas; compondo uma torcida mútua para o nosso sucesso, Marcelly, Josi e Suelen.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTO.....	3
3 CONTAMINANTES EMERGENTES.....	10
3.1 Fármacos	12
3.2 Interferentes Endócrinos.....	12
3.3 Cafeína	13
4 DETERMINAÇÃO DA CAFEÍNA	20
4.1 Extração.....	20
4.2 Cromatografia.....	22
5 METODOLOGIA.....	25
5.1 Amostragens.....	25
5.2 Análises Físicas, Químicas e Biológicas da Água.....	27
5.3 Determinação de Cafeína	27
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
6.1 Análises Físicas.....	30
6.1.1 PH.....	31
6.1.2 Cor.....	31
6.1.3 Condutividade.....	31
6.2 Análises Químicas	31
6.2.1 Oxigênio Dissolvido (OD)	32

6.2.2	Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	32
6.3	Análises Microbiológicas.....	33
6.4	Determinação de Cafeína.....	33
7	CONCLUSÃO.....	34
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

O elevado crescimento desordenado e aleatório das cidades urbanas vem contribuindo fortemente no aumento da quantidade de efluentes doméstico recebido pelos ecossistemas aquáticos. Esses efluentes descartados sem tratamento geram alterações nas características do meio aquático em questão, tais como elevação da carga orgânica, de nutriente e de outros poluentes.

Esses resíduos alteram a qualidade do corpo receptor, gerando poluição de origem física, química e biológica, que são elas dependentes da vazão de despejo, da concentração e da natureza do poluente no despejo, da vazão da corrente, do grau de turbilhonamento do trecho do rio e da temperatura da água.

Segundo Ide, Cardoso, Santos *et. al.* (2013), isso revela que a expansão das cidades em direção a áreas mais “limpas” (livres de poluição externa), só ameaça os mananciais de abastecimento de água, visto que a qualidade da água potável é diretamente ligada à qualidade de água bruta dos rios.

Outro fato a ressaltar é que a determinação de poluição de um corpo hídrico específico pode ser feita a partir de concentrações de alguns contaminantes presentes no local de lançamento.

É nas grandes metrópoles que se aglomeram a maioria das indústrias geradoras de poluentes. Estes se apresentam na forma de efluentes industriais, causando riscos não só à saúde humana como também ao meio ambiente.

Na atividade agrícola, com o uso indiscriminado de agrotóxicos a fim de combater pragas e doenças das plantas; e de fertilizantes na correção de deficiências do solo; bem como os seus resíduos, são carregados pelas águas pluviais e irrigação para os corpos receptores.

Dentre outros agentes poluidores, tem-se o lixo urbano, disposto a céu aberto e sem nenhum tratamento, ocasionando um grande impacto ambiental. Durante toda a exposição do resíduo, ocorre a decomposição orgânica com formação de chorume (lixiviado). Esse líquido escuro com alta demanda química de oxigênio, penetra no solo contaminando lençóis freáticos. Lençóis, esses, que representam um dos mais significativos recursos de água doce, alimentando rios e lagos, além de manter a umidade dos solos.

Segundo SNIS (2010), no Brasil, somente cerca de 30% do esgoto total produzido é tratado. Muito embora, as grandes metrópoles, como Rio de Janeiro, não possuem conhecimento real do esgoto tratado, e os números não condizem com a realidade, o que revela erros de planejamento. Conclui-se que o todo o tratamento de esgoto feito pelas

Estações de Tratamento de Esgotos (ETE), não é suficiente para eliminação de poluentes, causadores de danos ambientais.

Dessa maneira, pesquisadores alertam que ineficiência no tratamento de esgotos pode acarretar grandes prejuízos nos processos de tratamento de água. Permitindo passagem de contaminantes que promovem a deterioração da qualidade da água.

Dentre esses contaminantes há um imenso grupo que é estudado classicamente, como indicadores de contaminação direta, tais como: compostos orgânicos, inorgânicos e metais pesados. Por sua vez, existe um grupo menor que vem chamando a atenção de pesquisadores, denominados contaminantes emergentes. Eles possuem características únicas, perante os outros indicadores destacando, indubitavelmente, sua presença oriunda de efluentes domésticos ou industriais. Além disso, estão em baixas concentrações e são de difícil remoção. São exemplos desses contaminantes os fármacos, produtos de higiene pessoal, hormônios naturais e sintéticos, agentes antichamas, protetores solares, nanomatérias, pesticidas, etc.

Devido à deficiência e/ou inexistência de saneamento básico e da coleta e destinação do lixo na parte da região da bacia do Guandu, muitas substâncias tóxicas provavelmente são transportadas para os corpos hídricos. Soma-se a esse cenário, a vulnerabilidade dos sistemas das Estações de Tratamento de Água (ETA) Guandu o que determina a grande importância de que sejam feitos estudos para a investigação quanto à presença de substâncias emergentes nos afluentes do rio Guandu.

No grupo dos contaminantes emergentes há uma substância que se destacam devido às suas características e comportamento físico-químico nessas águas, a cafeína. Por isso, o presente trabalho foca-se na substância cafeína, como indicador de contaminação indireta (contaminantes emergentes) de corpos hídricos, de maneira a determiná-la quantitativamente. E em paralelo fazer uma avaliação qualitativa das águas recolhidas.

2 TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTO

Os esgotos oriundos de metrópoles são provenientes de três fontes distintas:

- esgotos domésticos – que englobam os esgotos vindos de domicílios, atividades comerciais e institucionais;
- águas de infiltração – águas decorrentes, como o próprio nome diz, através de infiltrações no sistema de esgotamento em tubos defeituosos, conexões, juntas ou paredes de poços de visita;
- despejos industriais - várias origens e tipos de indústrias (VON SPERLING, 1996).

Segundo Von Sperling(1996), no Brasil adota-se predominantemente o sistema separador de esgotamento sanitário no qual as redes pluviais são independentes das redes de esgotos e não influenciam nas ETE. Enquanto que em outros países adota-se o sistema combinado o qual as duas redes são conjuntamente direcionadas as ETE, veja a Figura 1. Note também que as águas depois de passarem pelas ETE são direcionadas aos corpos hídricos.

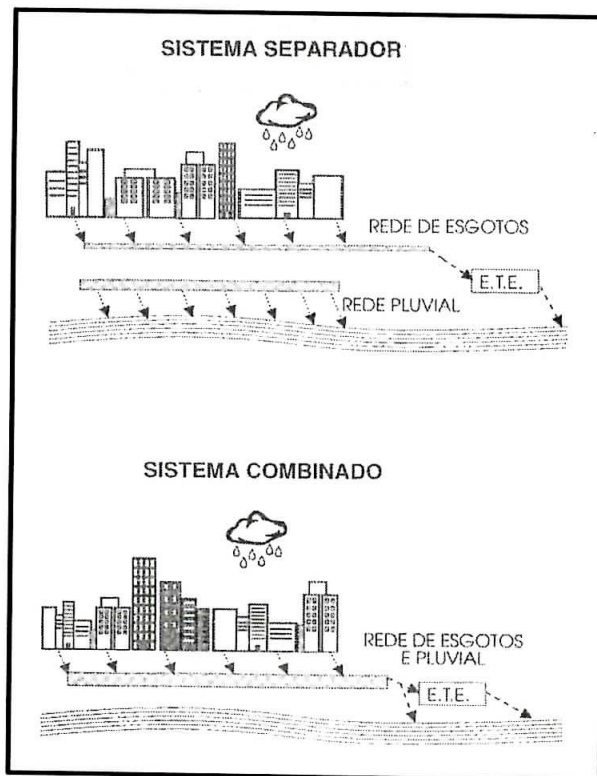


Figura 1: Sistema de esgotamento separador e combinado.

Fonte: VON SPERLING, 1996.

Von Sperling (1996) diz que em esgotos domésticos, a água após ser eliminada, dos diversos usos a que se destina tais como, higiene pessoal, alimentação e limpeza, passa a ser denominada de esgoto ou efluente. Este esgoto é composto por 99,9% de água, 0,1% de sólidos e inúmeros organismos vivos, tais como bactérias, vírus, vermes e protozoários, os quais são liberados juntos como os dejetos humanos como ilustra a Figura 2. Este esgoto ao sair das residências, segue para as redes coletoras, passa pelos coletores, troncos e interceptores até chegar à Estação de Tratamento de Esgoto (ETE).

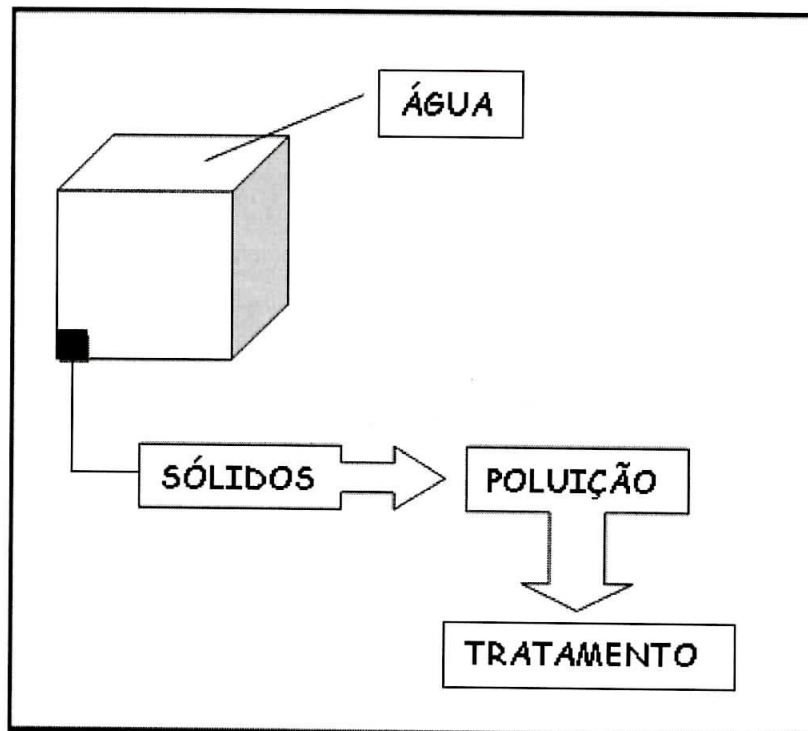


Figura 2: Sólidos nos esgotos.

Fonte: Adaptado de VON SPERLING, 1996.

O tratamento de esgotos baseia na remoção física, química ou biológica dos poluentes e microrganismos de forma a atender aos padrões de saúde e qualidade ambiental definidos na Resolução CONAMA nº 357/2005 (alterada pela Resolução CONAMA nº430/2011). A coleta, o tratamento do esgoto (ou efluente líquido) e do lodo gerado no tratamento são atividades de grande importância para saúde pública. A elevada incidência de doenças de veiculação hídrica tem como causa epidemiológica principal, a contaminação de fontes de águas e mananciais. A proteção dos mananciais é realizada, em parte pela destinação correta dos efluentes e resíduos do tratamento (lodo).

De acordo com Von Sperling (1996), esstretamento é composto de quatro etapas: tratamento preliminar, primário, secundário e terciário. Cada uma delas tem respectivamente, o objetivo de remover os sólidos grosseiros e areia, remover os sólidos em suspensão, sólidos dissolvidos, a matéria orgânica, os nutrientes e os organismos patogênicos. Vale ressaltar que outras literaturas referem o tratamento preliminar como parte do tratamento primário.

O esgoto, quando chega à estação de tratamento, é bombeado para o gradeamento para a remoção de sólidos grosseiros através de grades (Figura 3) e depois segue para desarenação onde ocorre a retirada de areia através de caixas de areias (Figura 4). Estas etapas fazem parte do tratamento preliminar. A remoção desse material pode ser manual ou mecanizada. Além destas unidades de remoção, inclui também uma unidade de medida de vazão, que geralmente se utiliza de uma calha Parshall (Figura 5) (ex.: calha de dimensões padronizadas), ou vertedores(VON SPERLING, 1996).

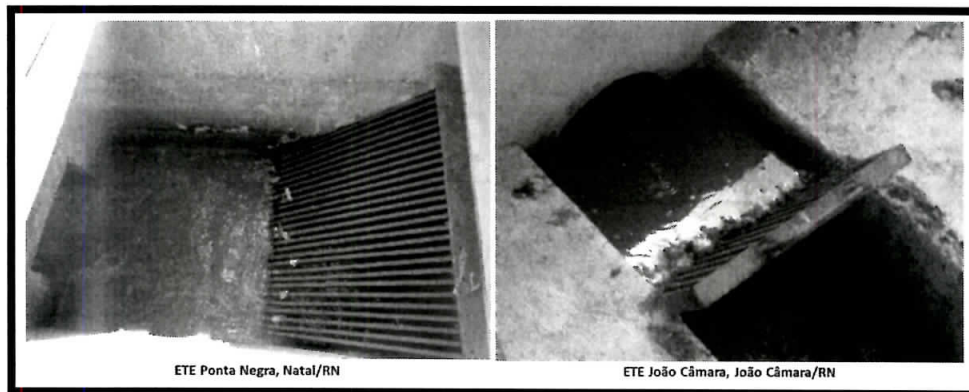


Figura 3 -Gradeamento (grades).

Fonte: ACS CAERN, 2014.

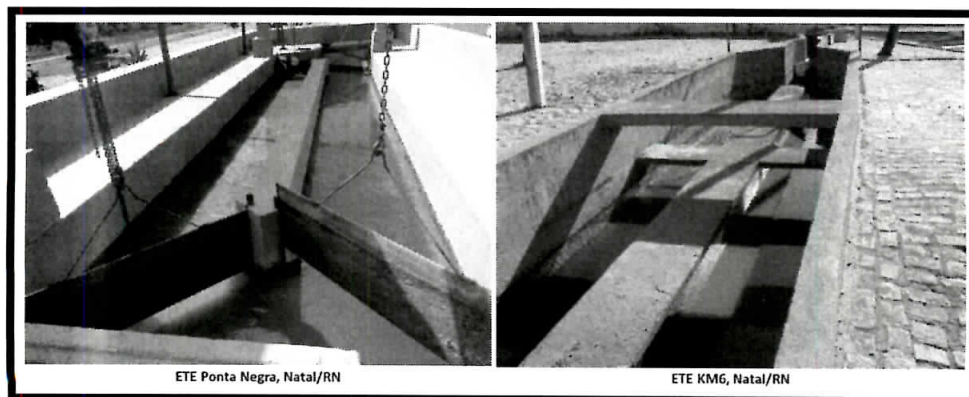


Figura 4 -Desarenação (caixas de areia).

Fonte: ACS CAERN, 2014.

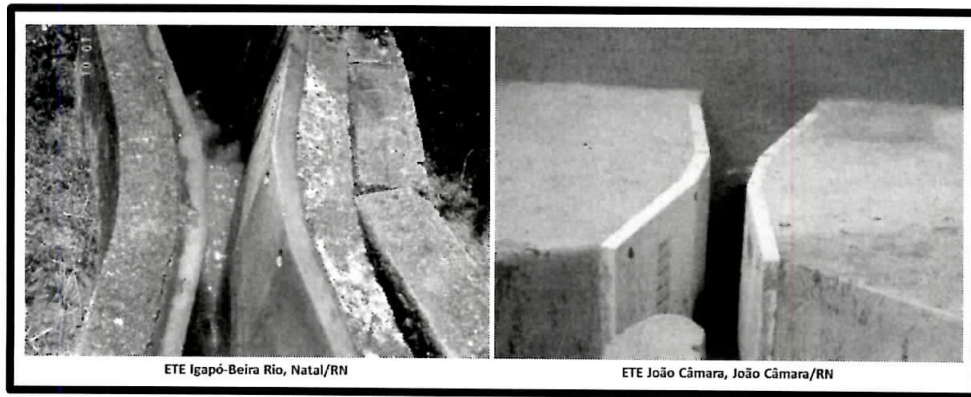


Figura 5 -Calha Parshall.

Fonte: ACS CAERN, 2014.

Após o tratamento preliminar inicia-se o tratamento propriamente dito do esgoto, com a primeira fase do tratamento denominada tratamento primário utilizando um decantador primário (Figura 6). No decantador primário, ocorre a separação da parte sólida onde estão contidos os sólidos em suspensão que apresentam maior densidade e se depositam no fundo (lodo primário) da parte líquida(sobrenadante)(VON SPERLING, 1996).

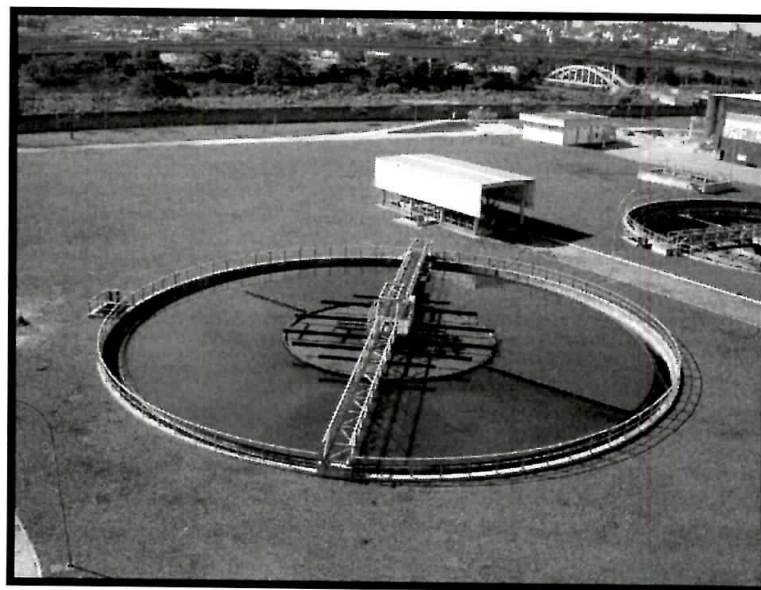


Figura 6 -Decantador primário.

Fonte: ARIOLIVER, 2005.

Pelo fato do lodo primário possuir grande quantidade de água, este passa pelo processo de adensamento. O processo de adensamento pode ser por gravidade onde o lodo acumula-se no fundo do decantador e por flotação ocorre a introdução de ar através de câmaras

pressurizadas. Nos adensadores, o lodo torna-se mais concentrado através da separação de uma parte de água presente. Este lodo segue para os digestores, onde a matéria orgânica contida nele será degradada pelos microrganismos anaeróbios presentes no meio, formando, assim, gás metano e gás carbônico, promovendo a estabilização do lodo, ou seja, não haverá odores desagradáveis. Após a digestão, o lodo segue para o processo de secagem, que pode ser por leitos de secagem ou através de um filtro prensa dotado de várias placas com telas filtrantes que serão preenchidas por lodo através de bombeamento. O lodo passa a ter 40% de sólidos. A torta formada será disposta em aterro sanitário e o efluente líquido entra para uma corrente de reciclo em direção ao decantador primário (VON SPERLING, 1996).

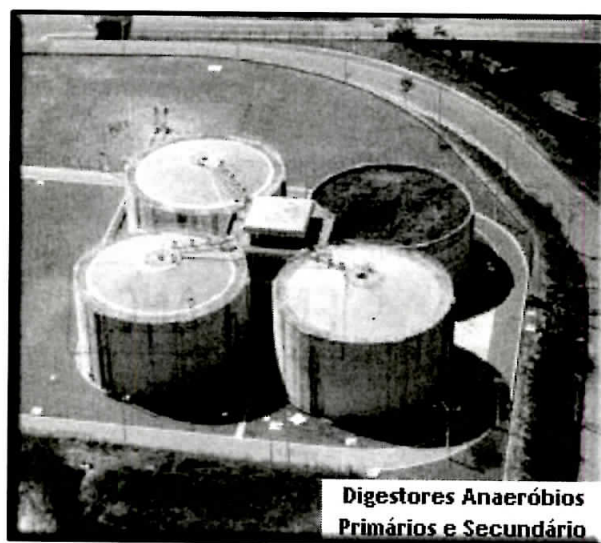


Figura 7 - Digestores Anaeróbios.

Fonte:ARRUDAS, 2015.

A parte líquida do decantador primário é transportada para os reatores biológicos (Figura 8) onde ocorre a remoção de matéria orgânica (DBO) pela ação de microrganismos aeróbios submetidos à aeração artificial, mediante fornecimento de ar por dispositivos mecânicos, que permitem a formação e contato de uma biomassa em suspensão (flocos biológicos) com a matéria orgânica presente diminuindo assim a carga poluidora do esgoto. A eficiência do tratamento secundário pode chegar a 95% ou mais, dependendo da operação da ETE (VON SPERLING, 1996).

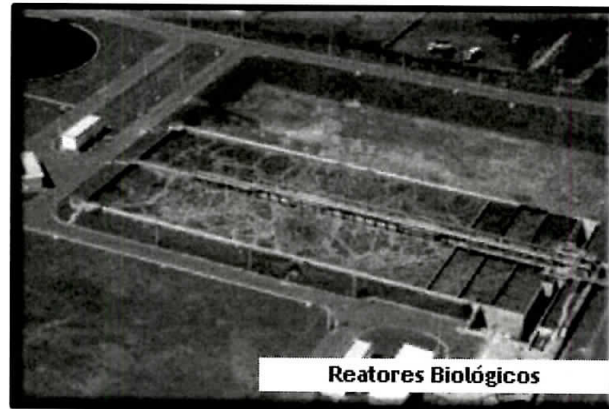


Figura 8 - Reatores Biológicos.

Fonte:ARRUDAS, 2015.

Posteriormente, ocorre a separação sólido/líquido do efluente do reator biológico, de modo a sedimentar e concentrar os flocos biológicos no fundo dos decantadores secundários (Figura 9) e permitir a clarificação do líquido a ser enviado ao corpo receptor. Após o tratamento secundário, o esgoto tratado apresenta um reduzido nível de poluição por matéria orgânica, podendo, na maioria dos casos, ser lançado nos corpos receptores ou reaproveitando para limpar ruas, praças e regar jardins (VON SPERLING, 1996).



Figura 9 -Decantadores Secundários.

Fonte:ARRUDAS, 2015.

Eventualmente antes do lançamento no corpo receptor, é necessário proceder à desinfecção do esgoto tratado para a remoção dos microrganismos e/ou à remoção de nutrientes específicos, tais como nitrogênio e o fósforo, que podem potencializar a degradação dos corpos receptores, ou seja, transformam um ambiente oligotrófico em eutrófico, este último promove um crescimento excessivo de algas(CHEIS, 2014). Esta etapa de remoção de microrganismos e nutriente do esgoto chama-se tratamento terciário. Os tratamentos terciários são:

- desnitrificação: requer condições anóxicas (baixa concentração de oxigênio) para que as comunidades biológicas apropriadas se formem. A desnitrificação é facilitada por um grande número de bactérias. Métodos de filtragem em areia, lago de polimento etc. podem reduzir a quantidade de nitrogênio. O sistema de lodo ativado, se bem projetado, também pode reduzir significativa parte do nitrogênio;
- remoção de fósforo: pode ser feita por precipitação química, geralmente com sais de ferro (ex.: cloreto férrico) ou alumínio (ex.: sulfato alumínio). O lodo químico resultante é difícil de tratar e o uso dos produtos químicos torna-se caro. Apesar disso, a remoção química de fósforo requer equipamentos muito menores que se comparados aos usados por em remoção biológica;
- desinfecção: pode ser através do método de cloração (o de menor custo e de elevado grau eficiência em relação a outros), ozonização (bastante dispendiosa), radiação ultravioleta, que também reduzem significamente e emissão de odores em estações de tratamento de esgoto (ACS CAERN, 2014).

Os subprodutos sólidos gerados nas diversas unidades de tratamento, tais como, material gradeado, espuma e lodo, devem ter um tratamento apropriado que incluem etapas de adensamento, estabilização, condicionamento, desidratação e/ou disposição final (VON SPERLING, 1996).

Apesar das Estações de Tratamento de Esgotos (ETE) possuírem os tratamentos preliminar, primário, secundário e terciário, visando a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) responsáveis pelo processo de eutrofização em corpos receptores e a eliminação de organismos patogênicos por meio de cloração, alguns compostos orgânicos, como interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP) não são eliminados durante o processo de tratamento de esgoto. Alguns países da Europa e EUA têm apresentando a presença destes compostos em amostras de esgoto tratado, águas superficiais e águas potáveis (CANELA, 2014).

3 CONTAMINANTES EMERGENTES

A água, definitivamente, é um dos recursos mais importantes para a sobrevivência humana. Cerca de 20% de toda a água doce acessível é destinada ao uso doméstico, agrícola e industrial (SCHWARZENBACH *et al.*, 2006, apud ROCHA, 2012). O Brasil é um país privilegiado pela abundância dos recursos hídricos, cerca de 70% da água doce disponível é proveniente da bacia Amazônica pouco habitada. Esse pensamento de grande volume hídrico tem servido durante anos, de argumento para um não planejamento básico e ambiental adequado que preserve esse recurso de maneira satisfatória (SETTI *et al.*, 2001, apud RAIMUNDO, 2007).

São crescentes os problemas de recursos hídricos, e em sua maioria oriundos do crescimento desordenado das áreas urbanas, industrialização e expansão agrícola. Muito embora, nada tenha sido feito por muito tempo para tentar reverter esse quadro, alguns poucos trabalhos têm sido publicados alertando para a possibilidade de que certas substâncias poderiam estar presentes no ambiente em concentrações-traço (DAUGHTON, 2002).

Atualmente é sabido que em águas naturais, tem-se a presença de dessas substâncias, que são denominadas de contaminantes emergentes (CE), compostos orgânicos, naturais ou sintéticos contidos em produtos consumidos pela população que geram resíduos, os quais atingem rios e mananciais por meio de esgotos domésticos tratados ou não. Causando efeitos adversos aos seres humanos, microrganismos e animais selvagens expostos a esses contaminantes (CANELA *et al.*, 2014).

Segundo a Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos (USGS, do inglês *United States Geological Survey*), um contaminante emergente pode ser definido, como “qualquer produto químico sintético ou natural; ou qualquer microrganismo que não é normalmente encontrado no meio ambiente, mas tem o potencial para entrar no mesmo e causar efeitos ecológicos adversos e/ou danos à saúde humana, seja esses efeitos conhecidos ou suspeitos.” (USGS, 2015).

Tem-se como alguns exemplos, os fármacos de diferentes classes como analgésicos, anti-inflamatórios, drogas psiquiátricas, antilipêmicos, antibióticos (de uso humano e veterinário); contrastes de raios-X; hormônios naturais e sintéticos; esteróides; agentes antichamas; protetores solares; nanomateriais; produtos de higiene pessoal como fragrâncias, contendo grupos nitro e ftalatos (PFHP); inseticidas; repelentes; anti-sépticos e surfactantes amplamente utilizados no consumo doméstico (IDES *et al.*, 2013).

É evidente o aumento constante dessas substâncias no consumo diário, como também os ajustes nos parâmetros de potabilidade da água ao longo do tempo. Mas se torna inviável estabelecer uma legislação sobre os CE já que há uma larga e constante síntese, produção e lançamentos de novos produtos (CANELA *et al.*, 2014).

O tratamento de esgoto brasileiro (combinação de reatores anaeróbicos e aeróbicos) possui algumas vantagens sobre o clássico processo de lodo ativado. Mesmo tendo muita eficiência de macro-moléculas, destacando-se materiais orgânicos biodegradáveis e nutrientes, é de pouco conhecimento como promover a remoção dos contaminantes orgânicos presentes no esgoto sanitário devido ao alto consumo de fármacos, produtos de limpeza e de higiene pessoal. A remoção destes compostos químicos neste sistema combinado é altamente desejada já que ajudaria no desafogamento das Estações de Tratamento de Águas (ETA) que, muitas vezes, captam água contaminada com tais poluentes em seu tratamento. (VON SPERLING, 1996).

A dificuldade de um processo na remoção destes compostos está no fato de que estruturas complexas apresentam baixa eficiência na remoção em sistemas de tratamento biológico (LEITE, AFONSO & AQUINO, 2010). Estudos primários de determinação e monitoramento desses contaminantes vêm sendo feitos com dificuldade. Já que, em geral, sua concentração é muito baixa (concentrações-traço) nas localidades em questão, sejam elas águas naturais, ETE, ETA, solos e sedimentos. Com já dito anteriormente, as ETA, as ETE não são totalmente capazes de eliminar esses contaminantes, pois é necessária uma melhora da rede coletora do esgoto, como também ampliação física das unidades, aumentando a capacidade de entrada do esgoto e aumentando a detenção hidráulica dos sistemas. Além disso, se faz necessário a implementação de tratamentos terciários para redução da poluição com a finalidade de reduzir o impacto aos corpos receptores (IDES *et al.*, 2013).

Os efluentes da ETE, muitas das vezes, são despejados sem qualquer tratamento em mananciais de água potável. Somando-se a isso, no Brasil ainda pouco se sabe sobre a presença desses contaminantes em efluentes sanitários, águas superficiais e subterrâneas, do seu destino durante o tratamento de águas e esgoto e sua toxicidade.

Dessa maneira a exposição dos CE aos seres humanos é eminente pela alimentação, não só diretamente pela ingestão do alimento, mas como também pelo processamento do mesmo e de produção de suas embalagens; pela água potável contaminada; pelo contato via derme (em baixa proporção) e inalação. (RAIMUNDO, 2007)

Conforme pesquisa, desenvolvida pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Analíticas Avançadas (INTAA) com a participação de 25 pesquisadores e várias instituições

de pesquisas, foi detectada a presença de contaminantes emergentes em águas de abastecimento de 16 capitais brasileiras. Tendo como destaque os principais contaminantes elucidados nesse trabalho: fármacos, interferentes endócrinos e cafeína.

Existem vários fatores que ajudam no aumento da contaminação das águas de abastecimento entre eles tem-se: o padrão de consumo, a falta de saneamento básico e o adensamento demográfico, donde se conclui que estes fatores provocam alterações na qualidade da água devido a diversas atividades do homem.

3.1 Fármacos

Nas últimas décadas o aumento excessivo do consumo de medicamentos vem se tornando significativo dando ênfase naqueles que não há necessidade de prescrição médica. E devido a isso muitos grupos de pesquisa vêm se dedicando ao estudo dos efeitos adversos nos seus destinos.

Dentre os fármacos mais importantes e utilizados destacam-se o ibuprofeno, diclofenaco, paracetamol e o ácido acetil salicílico (mais conhecido como AAS).

Muitas drogas não são absorvidas pelo corpo, uma pequena parte é transformada em um ou mais metabólitos e excretadas através da urina e fezes em uma mistura contendo o fármaco que não foi metabolizado pelo organismo e seus metabólitos.

Pouco se conhece sobre os destinos dos fármacos, fato é que os esgotos domésticos e hospitalares são as principais fontes de contaminação de receptores hídricos (RAIMUNDO, 2007).

3.2 Interferentes Endócrinos

Na grande lista de CE existe o grupo dos interferentes endócrinos substâncias que afetam o sistema hormonal de animais e de seres humanos, destacando-se os estrogênios naturais, estrogênios sintéticos, fitoestrogênios exoestrogênios (ftalatos (PFHP), alquifenóis e bisfenol A). Esse grupo não é definido pela sua natureza química, mas pelo seu efeito biológico, que pode ser por efeitos imediatos (agudos) ou efeitos em longo prazo (crônicos). Atualmente, são contabilizadas mais de oitocenta substâncias como essas.

Segundo o Programa Internacional de Segurança Química (International Programme on Chemical Safety- IPCS), um interferente endócrino é classificado como “uma substância ou mistura exógena que altera a função do sistema endócrino e conseqüentemente causa efeitos adversos em um organismo saudável, ou em seus descendentes, ou subpopulações” (DAMSTRA *et al.*, 2002).

A motivação para os estudos destas substâncias, então vem sendo criada em observações às anormalidades geradas no sistema endócrino dos animais, que são elas, hermafroditismo, feminização e diminuição da fertilidade. Além disso, elas também afetam ao homem causando um aumento de casos de câncer de mama e de testículo; e anormalidades na formação do sistema de reprodução, este último, tendo como exemplo a puberdade precoce.

São atribuídas à presença dessas inúmeras substâncias no ambiente (tendo como foco o ambiente aquático), as alterações crônicas no desenvolvimento e na reprodução das diversas espécies, neles presentes e segundo Silva *et al.* (2011) essas alterações podem estar relacionadas a exposição a tais substâncias. Muito embora, não se sabe, também, dos riscos que podem ocasionar a presença dos fármacos (substâncias biologicamente ativas) em ambientes hídricos.

Alguns estudos, feito em outros países, mostram que os sistemas de tratamento de águas e tratamentobiológico de esgotos não conseguem remover completamente compostos estrogênicos (ex., estradiol, estrona, etinilestradiol) capazes de alterar as funções endócrinas de animais aquáticos (LEITE, AFONSO & AQUINO, 2010), mesmo respeitando todos os requisitos do Ministério da Saúde. Isso se deve, porque essas substâncias não estão inseridas nos programas de monitoramento oficial. E as quantidades que são efetivamente eliminadas, são em decorrência do tratamento vigente (CANELA *et al.*, 2014; REVISTA CIDADANIA & MEIO AMBIENTE, 2014).

3.3 Cafeína

A cafeína é um composto natural, chamado de 1,3,7-trimetilxantina, é classificado como um alcalóide, pertencente ao grupo das xantinas, e também possui um esqueleto de purina heterocíclica (Figura 10). Este alcalóide está presente em grande quantidade nas sementes de café (*Coffea arabica* L. e *Coffea canephora*), nas folhas de chá (*Camellia sinensis*) e outros produtos vegetais como na cola (*Cola acuminata* S. e *Cola nitida*), cacau (*Theobroma cacao*), no guaraná (*Paullinia cupana* P. *sorbilis*) e na folha e talo da erva-mate (*Ilex paraguayensis*) (ENCARNAÇÃO & LIMA, 2003).

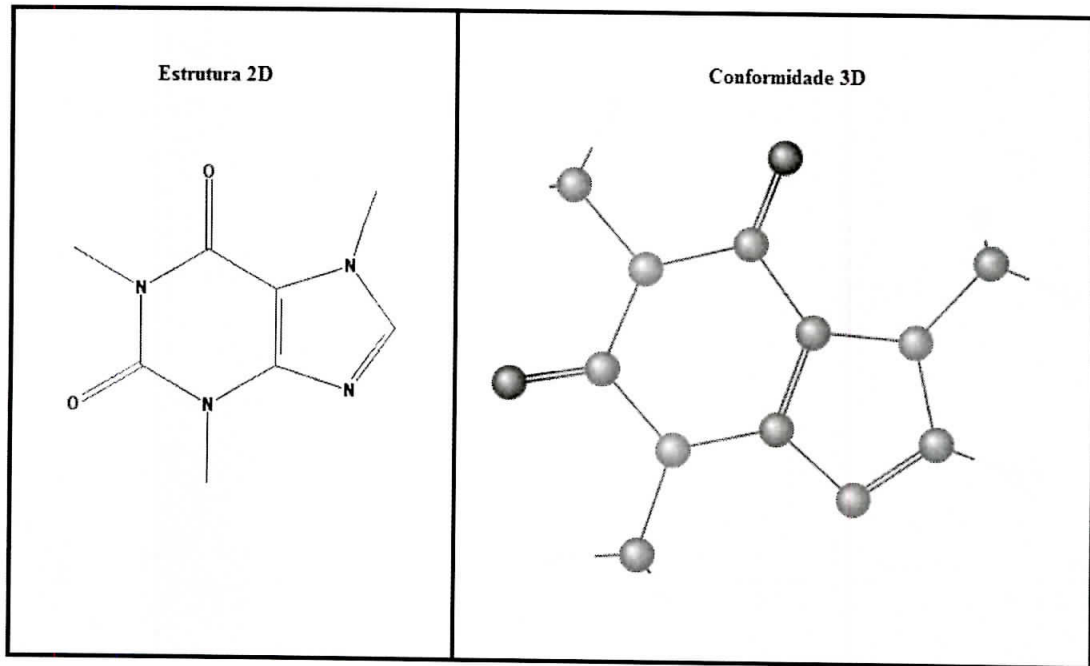


Figura 10 - Estrutura molecular da cafeína.

Fonte: PUBCHEM, 2015.

As Tabelas a seguir revelam mais da substância, Tabela 1 mostra as propriedades e características da cafeína, enquanto a Tabela 2 retrata a quantidade média em peso de cafeína presente em alguns alimentos.

Tabela 1—Propriedades e características da cafeína.

Propriedades e características	
Nome químico	1,3,7-trimetilxantina
Nome químico (IUPAC)	1,3,7-trimetil-1H-purina- 2,6(3H,7H)-diona
Outros nomes	trimetilxantina, metilteobromina, 7-metilteofylina, teína, mateína, guaranina
Classe	Alcalóide
Peso Molecular	194.1906 g.mol ⁻¹
Fórmula Molecular	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂
Massa Exata	194.080376 g.mol ⁻¹
Descrição Física	Pó branco inodoro ou filetes brancos brilhantes, geralmente fundidos em conjunto. Gosto amargo. Soluções em água são neutras para ácidas. Inodoro. (NTP, 1992)
Ponto de Ebulição	178°C (em 760 mmHg) (NTP, 1992)
Ponto de Fusão	238°C (NTP, 1992)
Solubilidade em água	10 a 50 mg.mL ⁻¹ em 23°C (NTP, 1992)
Densidade	1.23 em 18°C (NTP, 1992)
pH	pH = 6.9 (solução de 1%)
Constante de Dissociação	pKa = 14.0 em 25°C

Fonte: PUBCHEM, 2015.

Tabela 2- Quantidade média em peso de cafeína presente em alguns alimentos.

Itens	Volume ou Peso	Quantidade Média (mg)
Café (moído, tostado)	60mL	37
Café Instantâneo	60mL	44
Chá Mate (folha)	150mL	5
Chá Mate (saquinho)	150mL	10
Chá Preto (saquinho)	150mL	35
Refrigerante de cola (Regular)	350mL	29
Refrigerante de cola (diet)	350mL	33
Refrigerante de guaraná (regular)	350mL	3
Refrigerante de guaraná (diet)	350mL	4
Barra de Chocolate	30g	13
Barra de Chocolate (meio amargo)	30g	26
Barra de Chocolate (branco)	30g	7
Chocolate em pó	13g	8,5

Fonte: CAMARGO, TOLEDO & FARAH, 1999.

A cafeína é uma substância muito consumida no mundo, presente nos alimentos, bebidas, condimentos e medicamentos contra gripe, analgésicos e inibidores de apetite. Essa substância atua sobre o sistema nervoso central, aumentando o estado de alerta, o aumento da atenção mental, o aumento da concentração, a melhora do humor e a diminuição da fadiga. Seu consumo excessivo pode causar alguns sintomas como irritabilidade, ansiedade, dor de cabeça, problemas cardíacos e insônia. Também é dito que em mulheres no período fértil, grávidas ou lactantes causam efeitos negativos, reduzindo a fertilidade, provando redução da massa corpórea do feto ou contribuindo para abortos espontâneos, assim como causar efeitos adversos nos recém-nascidos pela passagem da substância pela amamentação.

Segundo Canela (2014), a quantidade de cafeína a ser ingerida sem causar danos aos seres vivos varia de indivíduo para indivíduo. Mas agências reguladoras adotam que cerca de 400mg por dia é considerado seguro para ingestão, pois esse número varia de acordo com idade e gênero.

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estimou que o consumo diário de cafeína pela população brasileira é um pouco mais de 115mg através de alimentos e/ou fármacos de ação analgésica. Dessa ingestão cerca de 3 a 10% da cafeína ingerida não é metabolizada pelo organismo, e sim excretada pela urina (GARDINALI & ZHAO, 2002 apud

IDES *et al.* 2013). Uma boa parte da presença da substância também se dá pelo descarte de bebidas, alimentos e/ou medicamentos em pias, ralos e vasos sanitários.

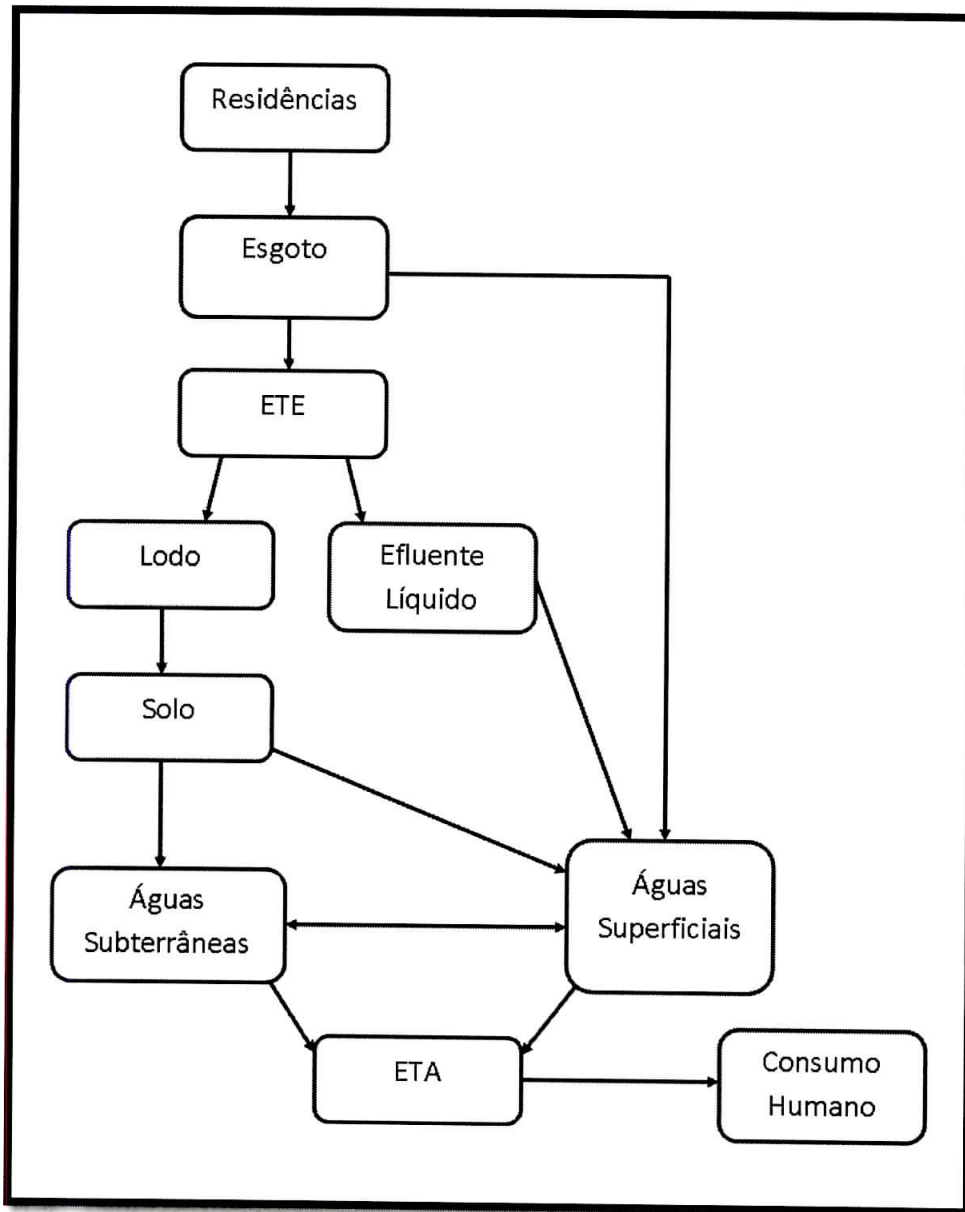


Figura 11 - Ciclo dos contaminantes emergentes (CE).

Fonte: Adaptado de CANELA *et al.*, 2014

Como mostra a Figura 11, toda a cafeína descartada pelas residências passa pelo esgoto sanitário até chegar às ETE onde sofre seu tratamento biológico; ou é feito o descarte direto nas águas superficiais já que no Brasil apenas 28,5% dos municípios realizam algum tratamento de esgoto (IBEG, 2010 apud CANELA *et al.*, 2014). Além disso, deve se levar em consideração os possíveis descartes industriais clandestinos.

Não é de vasto conhecimento que existe presença de cafeína em águas naturais, mas é um fato. Pesquisas feitas no Canadá, Alemanha, Austrália, Brasil, China, Coréia do Sul, Espanha, França e Grécia mostram a presença indiscutível de cafeína em amostras de efluentes das ETE (CANELA *et al.*, 2014).

Como todo CE, a cafeína se mantém com traços no efluente de ETE, mas averiguo-se que a remoção de 99% foi reportada em certas regiões do Brasil, como nas ETE localizadas em Campinas/SP e Curitiba/PR. Mas esse fato não diminui a preocupação já que na análise do esgoto bruto tem-se um alto índice da substância devido ao grande consumo que somado com a inadequação do saneamento contribuem para concentrações elevadas da cafeína após o tratamento.

Depois do tratamento o esgoto é dividido em lodo e efluente líquido, o primeiro é utilizado como enriquecedor de solos agricultáveis e o segundo é descartado em águas superficiais. Em todos os dois a cafeína se mantém presente. No solo os contaminantes podem ser carreados por meio de escoamento superficial para as águas superficiais ou por lixiviação indo em direção a águas subterrâneas. Essas duas podem se intercomunicar por interfaces ou não até chegarem as ETA. Por fim, a água é utilizada para consumo humano depois de seu tratamento pelas ETA.

A substância permanece em todos os estágios do ciclo, mas é claro em concentrações diferentes, sendo em grande quantidade na leitura de esgoto bruto e em concentrações-traço depois do tratamento seja de esgoto ou de água. Assim como qualquer CE é relatado que a cafeína em certas concentrações em águas superficiais possa causar danos à biota, seja em microrganismos, em peixes ou anfíbios.

Entretanto a concentração dela em águas naturais permite determinar quanto de esgoto foi lançado na água, pois, o seu consumo é de origem humana. Vários autores e pesquisadores têm proposto a cafeína como traçador de efluentes de esgoto doméstico (IDES *et al.*, 2013).

Peeler (2004) avaliou em regiões do estado da Geórgia, a presença de cafeína em áreas de pequena interferência humana, e como era esperado, obteve menores concentrações que as com alta interferência humana. Contudo dos pontos coletados de sua pesquisa foi encontrado resultados maiores, mas depois de verificação adequada, foi relatada a existência de fontes naturais, isto é, plantas produtoras de cafeína. Já no Brasil, Canela *et al.* (2014), revelam que as regiões do sul possuem alto índice de presença da substância em suas reservas de águas, pois há um maior consumo de produtos contendo cafeína em sua composição como é o caso da erva-mate, característico da região. Justificando, assim, que afirmativa de que a presença de cafeína está diretamente ligada à atividade humana é coerente.

Outro fato relevante é que nas ETE, a cafeína é lentamente metabolizada pela bactéria *Pseudomonasputida*. Os produtos de degradação da cafeína incluem outros derivados das xantinas (CHENet *al.*, 2002). Foi revelado por estudos de Ogunseitan(1996), que processos de tratamento de esgoto com duração de 6 horas não são suficientes para a eliminação completa da cafeína. Justificado pelos resultados de trabalho onde há presença de cafeína em efluente de ETE (BENDZet *al.*, 2005; BENOTTI& BROWNAWELL, 2007; TUBBS, FREIRE & YOSHINAGA, 2003).

Junto aos fatores de degradação, muitos estudos foram feitos levando em consideração a possível degradação biológica, química e fotoquímica da cafeína. Gonçalves (2008), exemplifica alguns desses testes:

Por Peeler (2004), foi realizado ensaios de degradação da cafeína em amostras de mar em três condições distintas, à temperatura ambiente (variações de temperatura entre 18 e 32°C) esob luz natural (solar); à temperatura ambiente e protegidas de luz por papel alumínio e a 4°C no escuro. Cerca de 60 dias após, observou-se que 35,9%, 49,4% e 88,9%, respectivamente da cafeína presente na solução fortificada. De acordo com as taxas de degradação encontradas com o modelo cinético de primeira ordem também calculou-se a meia vida dos mesmo 30,5; 71,5 e 177,7 dias respectivamente.

Outro trabalho citado foi o de Badleyet *al.* (2007), que investigou a biotransformaçãoda cafeína ($8\text{-}^{14}\text{C}$ radioativa) no sedimento, sob condições oxidas e anóxidas, na coluna d'água de três rios americanos (FoumileCreek, Boulder Creek e Platte River). E de acordo com as observações concluiu-se que a biotransformação da cafeína é mais sensível às condições redox, assim as concentrações de oxigênio nas águas superficiais poderiam causar um impacto significativo na persistência da substância no ambiente. Também foi observando uma grande variação no tempo avaliado e a explicação dita é que há diversos fatores em cada um dos corpos hídricos, finalizando que essa avaliação deve ser feita em sistemas, mas não pode ser considerada como importante mecanismo de atenuação em todas as águas superficiais.

E em todos os casos a degradação não foi tão intensa, isto é, persistindo uma quantidade de cafeína no meio. Logo, entende-se que a substância não desaparece por completo do meio (GONÇALVES, 2008). Destacando a meia-vida da cafeínade 30 dias, revelado por Peeler (2004), característica que contribui para a aplicação do composto como indicador.

Somam-se a todos esses fatos que a cafeína é facilmente determinada na água devido a sua alta solubilidade, baixo coeficiente de partição octano-água e volatilidade insignificante

(GARDINALI & ZHAO, 2002 apud IDES *et al.*, 2013). Concluiu-se que dentre todos os contaminantes identificados, indicou-se a cafeína como um traçador diretamente relacionado às atividades antrópicas (SODRÉ *et al.*, 2010), provenientes de esgoto doméstico.

Um dos primeiros trabalhos a despertar o interesse de cafeína em corpos hídricos foi Seiler *et al.* (1999), onde foi analisado dois corpos hídricos, águas subterrâneas e efluentes de ETE. Foram determinadas as concentrações de cafeína e nitrato, com a finalidade de serem avaliados como indicadores de esgoto. No primeiro caso, obtiveram-se altas concentrações dos dois compostos embora cafeína estivesse em mais concentração. Enquanto que no segundo foi encontrado apenas cafeína.

Em Nova Iorque foi avaliada a contaminação de antibióticos em águas superficiais oriundas de efluentes de ETE. Batt, Bruce & Aga (2006), além de avaliar os antibióticos, monitorou a cafeína e a detectou em todos os efluentes com concentrações variando entre 190 a 9.900 ng.L⁻¹.

Também foi feito paralelos entre indicadores microbiológicos de poluição fecal por Sankararamkrishnan & Guo (2005), e Ferreira (2005). Este último quantificou a cafeína em águas superficiais brasileiras em rios pertencentes à Bacia Hidrográfica da Leopoldina (no município do Rio de Janeiro/ RJ). Encontraram-se resultados entre 60.000 e 357.000 ng.L⁻¹ de cafeína. Nesse paralelo revelou-se a conexão da cafeína com a presença dos esgotos domésticos.

Bradley *et al.* (2007), também dizem que a cafeína se enquadra nas características determinantes para ser um indicador/traçador, são elas: ser detectável no ambiente em questão em concentrações relevantes ao estudo (mesmo essas sendo em concentrações-traço), existência de métodos analíticos que possam ser utilizados com facilidade, não ter sua completa remoção nos tratamentos de esgoto, ser utilizado pelo homem antes de chegar ao sistema de esgoto, e comportar-se no ambiente de maneira representativa de outros importantes derivados de efluentes domésticos.

De fato, possuir uma substância com tais características é de extrema utilidade a fim de detectar a presença de CE nos corpos receptores, este último argumento explicado por Raimundo (2007).

4 DETERMINAÇÃO DA CAFEÍNA

Tendo a cafeína como traçador de esgoto doméstico e contaminantes emergentes, usar um método para determinar a presença dela é requerido. Existem vários métodos que possam ser utilizados: qualitativos como mostra Tubbs, Freire & Yoshinaga(2003), utilizando a técnica de Cromatografia de Camada Fina (ThinLayerChromatography – TLC); quantitativos podendo ser vistos em Raimundo (2007), onde se utilizou SPE-HPLC-DAD/FL (extração em fase sólida seguida decromatografia líquida de alta eficiênciaacoplado a um detector por arranjo de diodos/detector de fluorescência), Gonçalves (2008), onde se utilizou a SPE-HPLC-DAD, Cardoso (2011), onde se utilizou cromatografia líquida com ionização química a pressão atmosférica acoplada à espectrometria de massas tandem espectrometria de massas (LC-APCI-MS/MS).

Embora haja diversos trabalhos testados ou adaptados descritos na literatura que visam à determinação quantitativa de compostos em matrizes aquáticas, como os citados acima, não existe nenhum que seja considerado oficial. Logo, se estabeleceu a cromatografia acoplada por um detector UV precedida de uma extração por haver um maior uso.

4.1 Extração

O procedimento de extração é requerido devido às amostras estarem em baixas concentrações. Além delas, conterem não só a substância desejada, como também grandes números de compostos (MACHADO, 2010). Ou seja, o método é realizado com a finalidade de potencializar a separação (GONÇALVES, 2008).

Esta é uma das etapas mais importantes do processo de determinação de compostos orgânicos em matrizes ambientais. Já que influencia nos resultados analíticos de diversas maneiras, sendo por perda dos analitos, contaminação ou impurezas que impedem ou abrandam o processo de extração. Dessa forma é necessário um método de extração que seja confiável e adequado ao tipo de análise que será feita. (KOSTOPOULOU & NIKOLAOU, 2008 apud CARDOSO, 2011).

Um dos parâmetros de importância é o pH da amostra, pois no caso de poluentes orgânicos emergentes, o pH determina a forma química do analito, ou sua degradação, interferindo assim na eficiência de extração (SILVA & COLLINS, 2011).

Existem diversas metodologias na literatura, sendo as mais comuns a Extração Líquido-Líquido (ELL) e a Extração em Fase Sólida (EPS). Segundo Gonçalves (2008), de

modo geral há uma tendência na escolha do método de extração para a determinação da cafeína que é a EPS com o objetivo de melhorar o limite de detecção das análises ambientais.

Segundo Slack & Snow(2007), a escolha da EPS sob ELL, se dá basicamente por requerer pequenos volumes de solvente orgânico; cartuchos pequenos que ajudam na amostragem de campo; cartuchos descartáveis que evitam a limpeza freqüente e possíveis contaminações da limpeza mal realizada e raramente ocorrem emulsões. Jardim (2010), soma-se a vantagens as altas porcentagens na recuperação do analito, disponibilidade comercial de equipamentos e maiores opções de sorventes para o método. Também diz que há desvantagens como o tempo elevado da análise, os altos custos dos cartuchos e dos dispositivos comerciais multivias (manifolds), e a dificuldade de escolha dos sorventes.

A EFS é uma técnica de separação líquido-sólido muito utilizada para extrair analitos semivoláteis e não voláteis de amostras líquidas, mas também pode ser usada para amostras sólidas pré-extraídas com solventes. A técnica emprega sorventes recheado em cartuchos, nas formas de barril ou seringa e o mecanismo de retenção são idênticos aos de cromatografia líquida em coluna. Um cartucho típico é constituído de um tubo de polipropileno contendo cerca de 50 a 500mg de sorvente, com 40-60µm de tamanho de partículas, fixado no tubo através de dois filtros (discos de polietileno), assim como na Figura 12 (QUEIROZ, COLLINS & JARDIM, 2001).

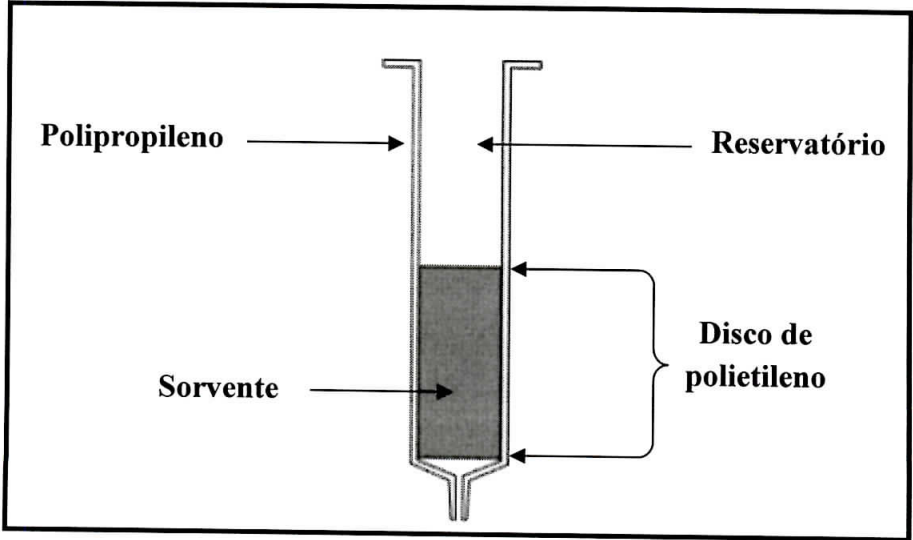


Figura 12-Dispositivo básico de SPE.

Fonte: Adaptado de LANÇAS, 2009 apud, CARDOSO 2011.

Em geral, os procedimentos de EFS contêm cinco etapas, ilustrado na Figura 13:

1. ativação do sorvente para deixar os sítios ativos disponíveis;

2. condicionamento do sorvente com solvente adequado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra;
3. introdução da amostra, quando ocorre a retenção do analito;
4. limpeza da coluna para retirar os interferentes menos retidos que o analito, etapa conhecida como lavagem com solvente ou *clean-up*;
5. eluição do analito. (JARDIM, 2010).

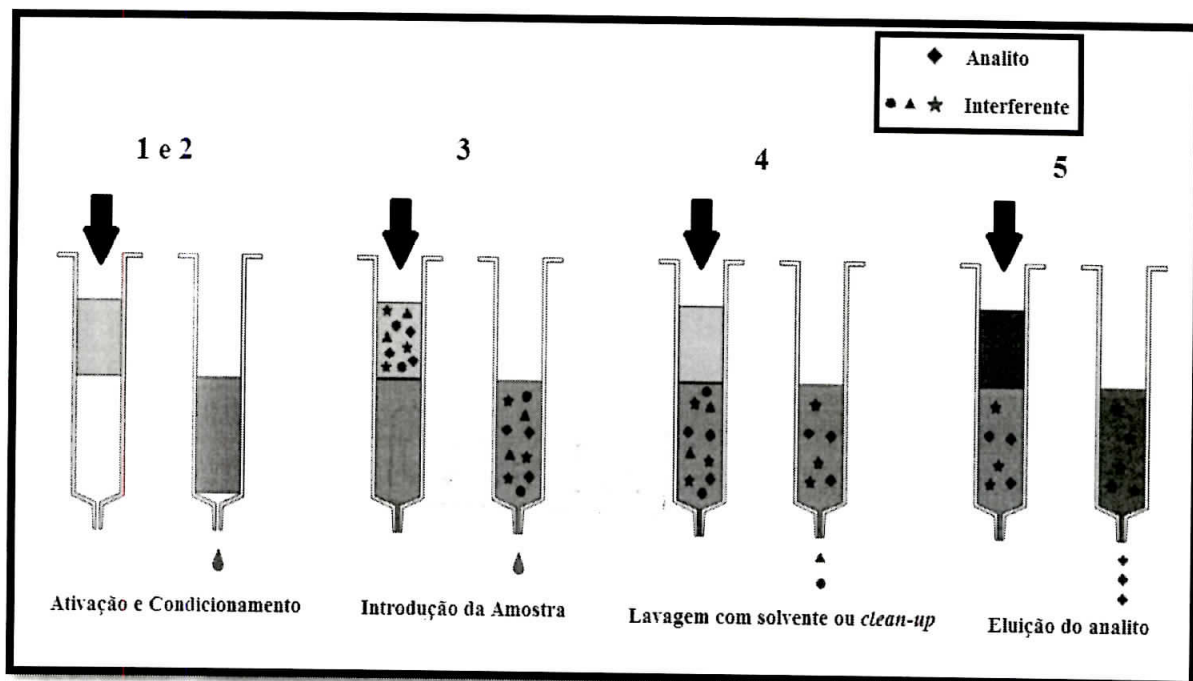


Figura 13 -Etapas genérica da EPS de isolamento de analito de interesse.

Fonte: Adaptado de QUEIROZ, COLLINS & JARDIM, 2001.

O método escolhido para a extração por todas as vantagens e motivos apresentado acima será a EPS adaptado de Machado(2010).

4.2 Cromatografia

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia gasosa (CG) são muito utilizadas quando se trata de separações em química ambiental. Essa técnica de separação é escolhida pelas propriedades do analito, sendo elas as propriedades físico-químicas, volatilidade e polaridade (SILVA & COLLINS, 2011).

Apesar da Cromatografia Gasosa ser útil para métodos multi-resíduos na determinação de alguns poluentes emergentes, é necessário um processo de derivatização, porque muitos

contaminantes ambientais são polares, sendo termicamente instáveis e tendo baixa volatilidade, e alguns não são adequados à derivação. (ZHANG& ZHOUL, 2007).

Uma das grandes vantagens do CLAE sobre a CG é que na primeira (CLAE moderna) os equipamentos são frequentemente modulares, permitindo o usuário montar o seu equipamento com diferentes marcas, como também uma substituição mais fácil caso ocorra alguém defeito; enquanto que na segunda o equipamento é enclausurado em uma caixa “selada”.

A cromatografia líquida (CLAE) é um processo de análise de separação físico cuja aplicação permite a análise qualitativa (mais comumente utilizada) e quantitativa de uma amostra. A Figura 14 mostra um diagrama esquemático de um cromatógrafo líquido moderno.

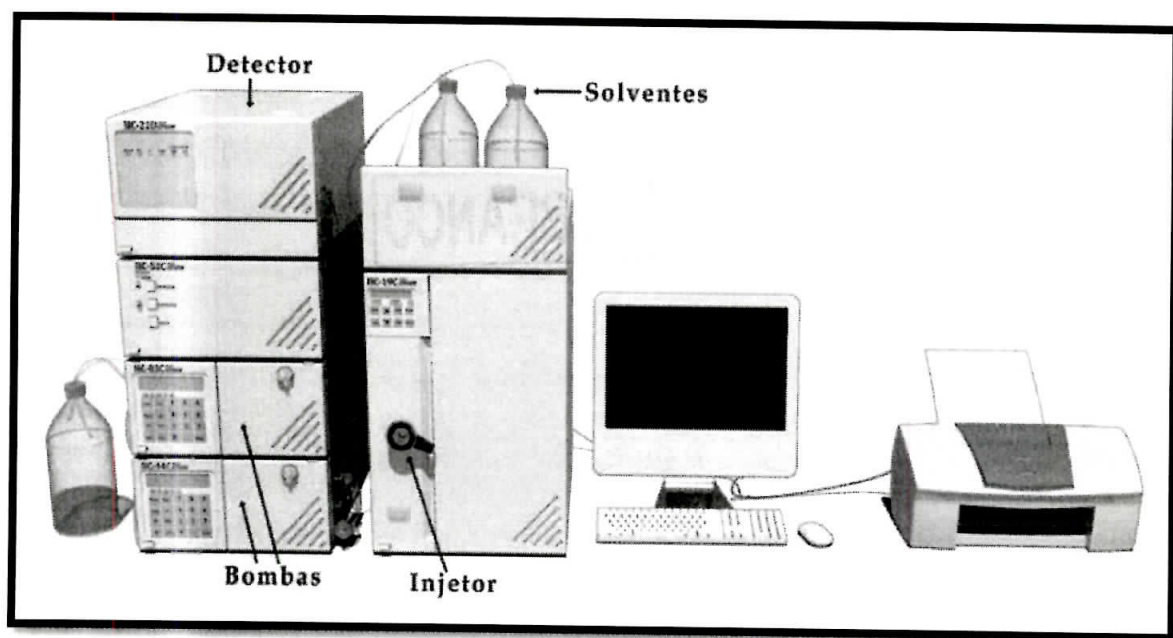


Figura 14 - Diagrama ilustrativo das principais partes de um cromatógrafo moderno.

Fonte: LANÇAS, 2009.

O solvente (eluente ou fase móvel) é acondicionado em um frasco apropriado e é impulsionado, ou aspirado, por uma bomba de alta pressão em direção à coluna. Por esse percurso, a amostra é introduzida no eluente, pela válvula de injeção e arrastada para a coluna, onde ocorre a separação. O efluente da coluna é direcionado para um detector, que acusa a presença dos analitos eluídos da mesma. Um sinal gerado pelo detector e captado pelo software apropriado, tratado no computador, e um cromatograma é gerado, mostrando a variação do sinal do detector em função do tempo de análise (LANÇAS, 2009).

Tudo isso ocorre para a determinação qualitativa da substância em questão, mas infelizmente está sujeita a muitos erros devido ao uso dos tempos de retenção para identificar os analitos. Apesar do tempo de retenção definir um composto ele não é único, por isso há coeluição de composto, sendo um método limitado quando se deseja quantificar o analito. Por isso outras soluções são propostas para o problema (LANÇAS, 2009).

As mais realizadas nos trabalhos de determinação de cafeína é acoplar na aparelhagem um detector fotométrico operando nas regiões ultravioleta e visível (UV-VIS) do espectro, onde comprimento de ondas diferentes são monitorados (geralmente na escala entre 220nm e 254nm) ou Espectrometria de Massas (MS). A primeira solução é bem frequente tendo a única impossibilidade saber o composto para a preparação de uma solução padrão. Quanto à segunda solução, muito é pesquisado e argumentado para saber sua utilização mais eficiente com o CLAE, visto em Lanças (2009).

Logo, o método escolhido será CLAE equipado com detector UV, assim como proposto por Machado (2010).

5 METODOLOGIA

A determinação de cafeína em águas fluviais foi realizada, levando em consideração mudanças sazonais para a coleta.

5.1 Amostragens

As coletas foram realizadas em 2 pontos (Figura 15), sendo um, na Bacia Hidrográfica do Rio da Guarda no Valão dos Bois, município de Seropédica e outro na Bacia Hidrográfica do Rio Guandu no Rio Da Onça, município de Paracambi. Foram analisadas amostras ao longo de um ano, visando à determinação dos efeitos da sazonalidade sobre a concentração de poluentes.

O Valão dos Bois tem como rios constituintes o Rio da Guarda e o Canal do São Inácio, enquanto o Rio da Onça tem o Ribeirão das Lajes, Rio da Guarda e o Canal de São Francisco (SEMADS, 2001).

Segundo SEMADS (2001), o Valão dos Bois é um longo canal com cerca de 35km de extensão e bacia com 131,4km². Nasce na vertente nordeste da Serra da Cachoeira, inicialmente com o nome de Valão da Louça e Valão da Draga. Ele encontra-se bastante assoreado, notadamente à jusante da antiga estrada Rio-São Paulo. Contribui para isto a falta de manutenção do seu leito, os aterros das margens, o lançamento de lixo, e nas últimas décadas o lançamento de rejeitos da atividade de mineração areia.

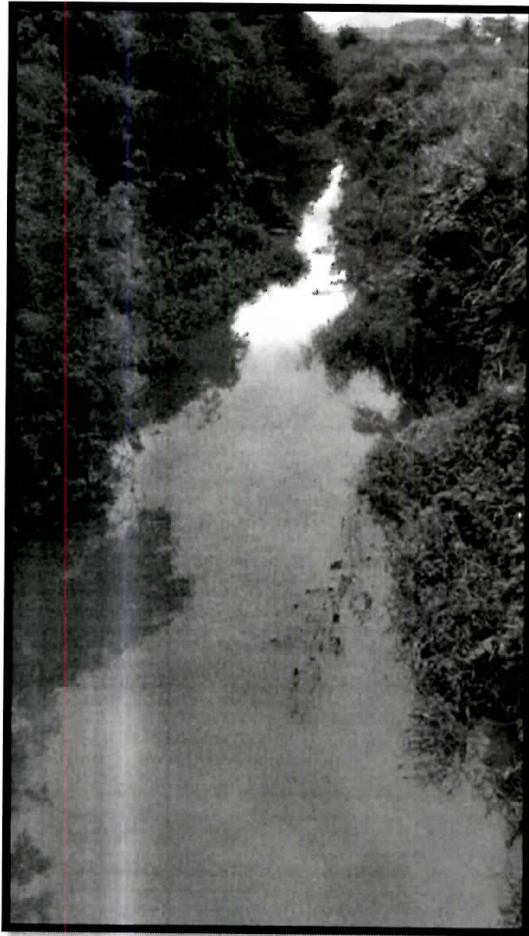
Sua localidade, o distrito Seropédica não dispõe de sistema de esgotamento sanitário, sendo os esgotos domiciliares despejados em valas a céu aberto, que cruzam a área urbana, até os cursos d'água locais, principalmente o Valão dos Bois e o Rio Guandu. Em ressalvo, a localidade de Campo Lindo, segunda em importância no município, conta com disposição de esgotos em fossas sépticas, normalmente providas de sumidouro (SEMADS, 2001).

De acordo com SEMADS (2001), o Rio da Onça nasce em um ramo da Serra da Cacaria, em cotas de 400m e flui por 10km até desaguar no Ribeirão das Lajes. Tem como principais afluentes o Rio Caranguejo ou 39 Caçador, com 8km, a Vala Seca, com 4km, e o Valão Costaneira da Prata, com 7km. Este último faz a divisa entre Pirai (Distrito Vila Monumento) e Itaguaí (Distrito Ituporanga). É um rio mais estreito que o Cacaria. Tem as águas barrentas e as margens com vegetação rasteira. À montante desta localidade há uma sucessão de poços bastante frequentados pela população local e por visitantes. As cachoeiras nas serras são acessíveis somente a pé ou de moto. Na Serra do Matoso, os moradores frequentam um poço do Rio Santarém. Esta serra vem sendo ocupada por sítios de lazer. As

margenssão de capim. Na bacia predomina a pecuária, seguida por bananais. Há reduzidas matas, isoladas nas serras que circundam a bacia.

Foi observado pela visita ao local, que o Rio da Onça não possui tanta população como é o caso do Valão dos Bois, sendo o primeiro menos desenvolvido e possuindo um visual mais bucólico, como também pode ser notado pela Figura 15.

Valão dos Bois



Rio da Onça

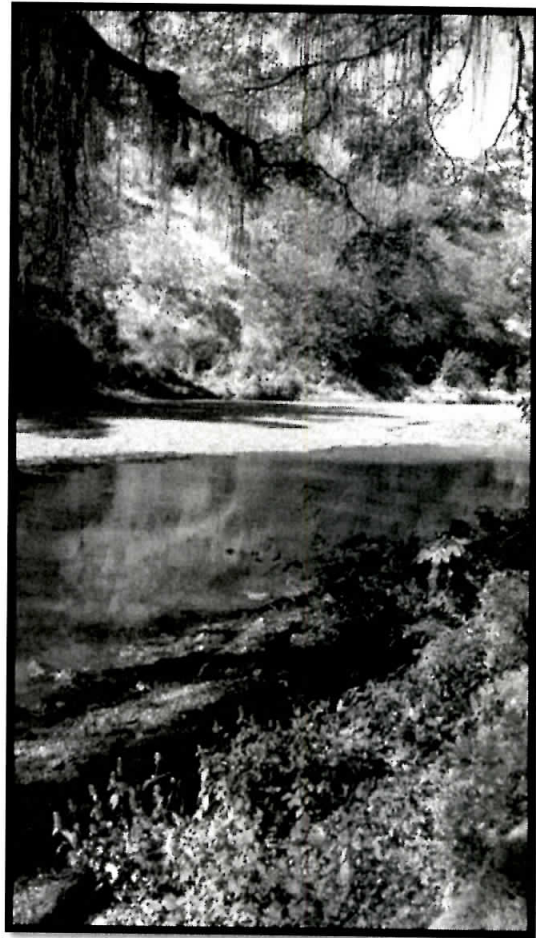


Figura 15 - Rio Valão dos Bois & Rio da Onça.

Fonte: Acervo do autor, 31 de março de 2015.

Na Figura 16 é apresentado o mapa da bacia hidrográfica dos rios Guandu, da Guarda, Guandu Mirim – RII.

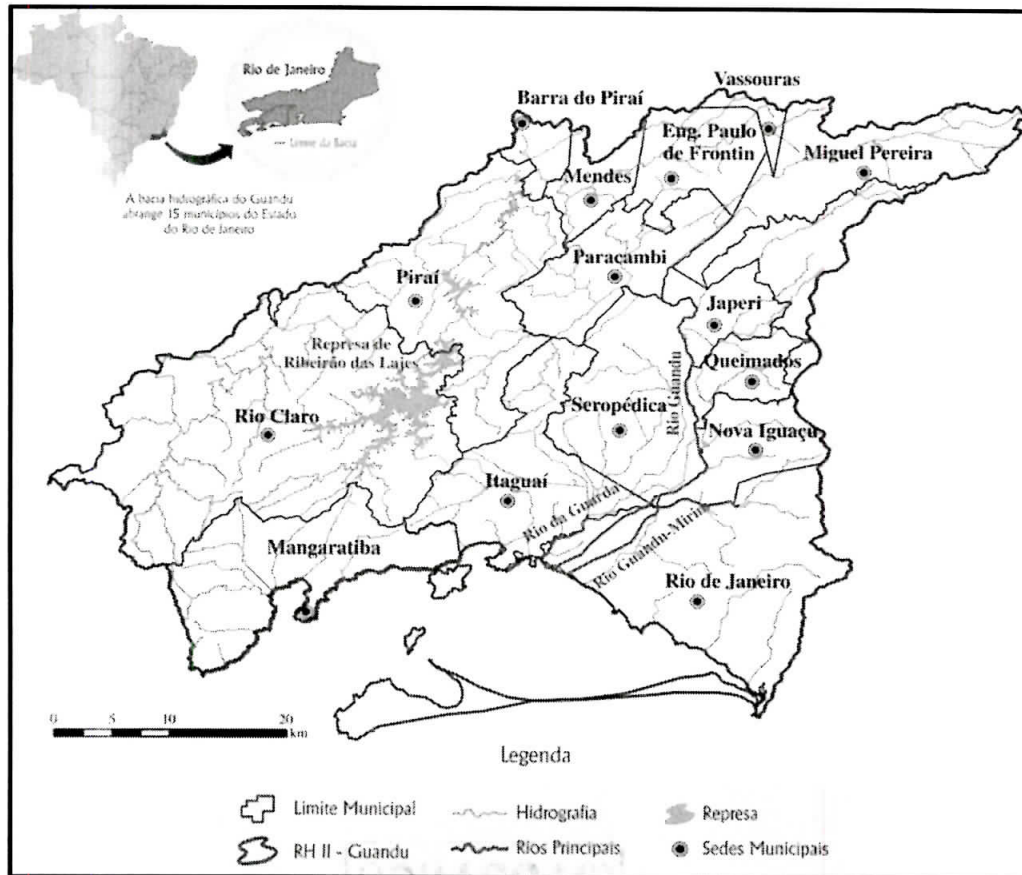


Figura 16 - Mapa da bacia hidrográfica dos rios Guandu, da Guarda, Guandu Mirim – RII.

Fonte: FILHO, ANTUNES & VETTORAZZI, 2012.

5.2 Análise Físico-química e Microbiológica da Água

Foram realizadas as seguintes análises: pH, cor, condutividade Oxigênio Dissolvido (OD), Demanda Química de Oxigênio (DQO), coliformes totais, coliformes fecais (*E. coli*) e contagem de bactérias heterotróficas.

5.3 Determinação de Cafeína

A extração da cafeína foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Machado (2010), mas com algumas ressalvas: amostras de 1L são filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45µm. Após a filtração, o pH da amostra será ajustado para 3 com adição de ácido clorídrico 6 mol.L⁻¹. Em seguida, passarão por cartuchos de extração em fase sólida (Agilent SampliQ 1,000 mg-C18 de 6 mL), previamente condicionados com metanol e água ultrapura, acoplados a um manifold conectado a uma bomba de vácuo. Os cartuchos serão secos com fluxo de ar por 10 minutos e a cafeína será eluída com a adição de 4 frações de 3mL de acetonitrila recolhidas em balão de fundo redondo. As amostras serão levadas à secura no rotaevaporador e, em seguida, redissolvidas em 1mL de metanol, com auxílio do

ultrassom. As amostras serão analisadas por cromatografia líquida de alta resolução equipada com detector UV (274nm). Serão injetados 20 μ L da amostra utilizando uma coluna C18 Hypersil 25 x 4,6mm x 5 μ m da ThermoScientific. A fase móvel empregada será uma mistura isocrática de metanol-água numa proporção 30:70 com fluxo de 3,0mL.min⁻¹.



Figura 17 – Aparelhagem para realização da determinação da cafeína.

Fonte: Acervo do Autor, 2015.

A realização da filtração prévia, anterior ao processo propriamente dito da determinação da cafeína foi dificultada pela a qualidade da amostra obtida, onde pode ser observado na figura 18 as membranas miliporeobstruídas pelas partículas presentes na amostra. A solução foi realizar uma filtração com papel de filtro (figura 19) para a retirada dessas partículas mais grossas e assim conseguir realizar o procedimento desejado.

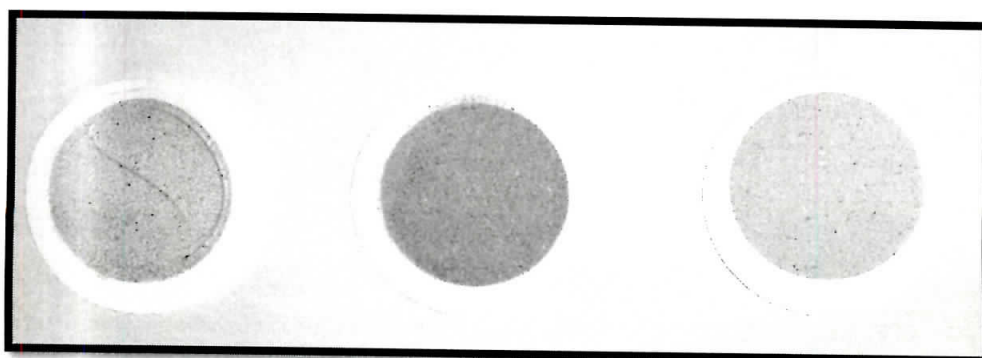


Figura 18 - Membranas milipore estagnadas sem a realização da filtração com papel filtro.

FONTE: Acervo do Autor, 2015.

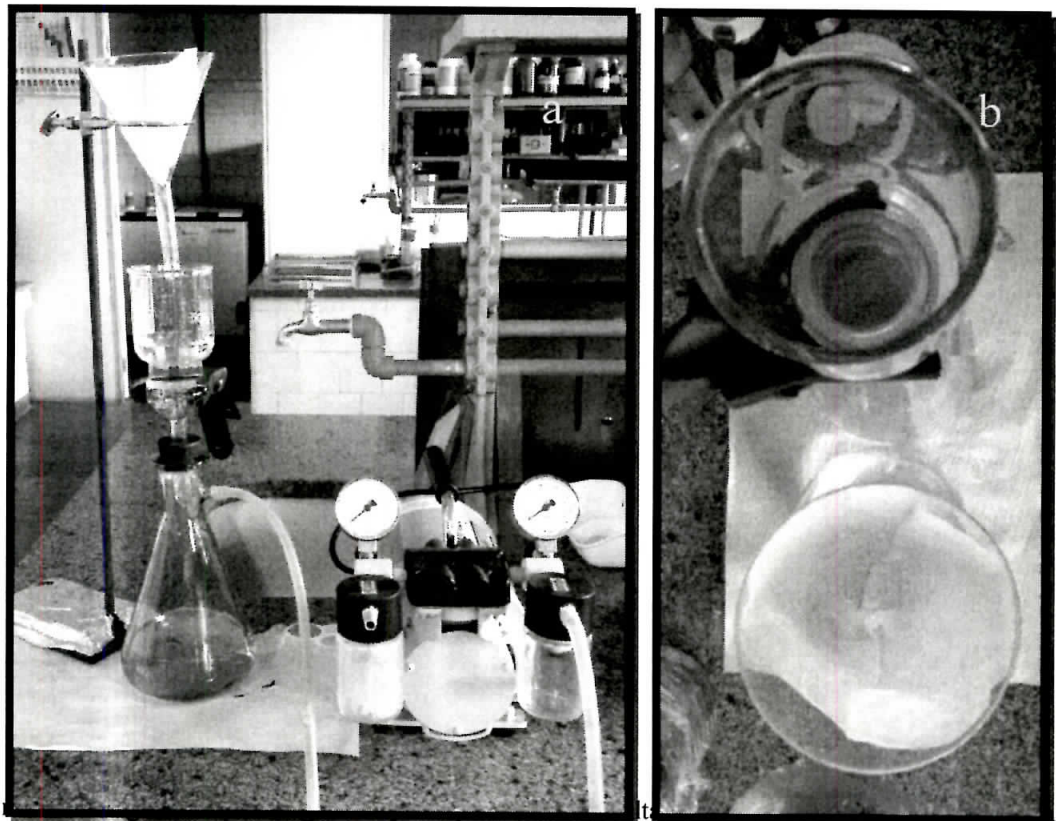


Figura 1. a) Montagem e para melhor visualização da membrana milipore no aparelho; b. Papel de filtro utilizado e partículas retidas.

FONTE: Acervo do autor, 2015.

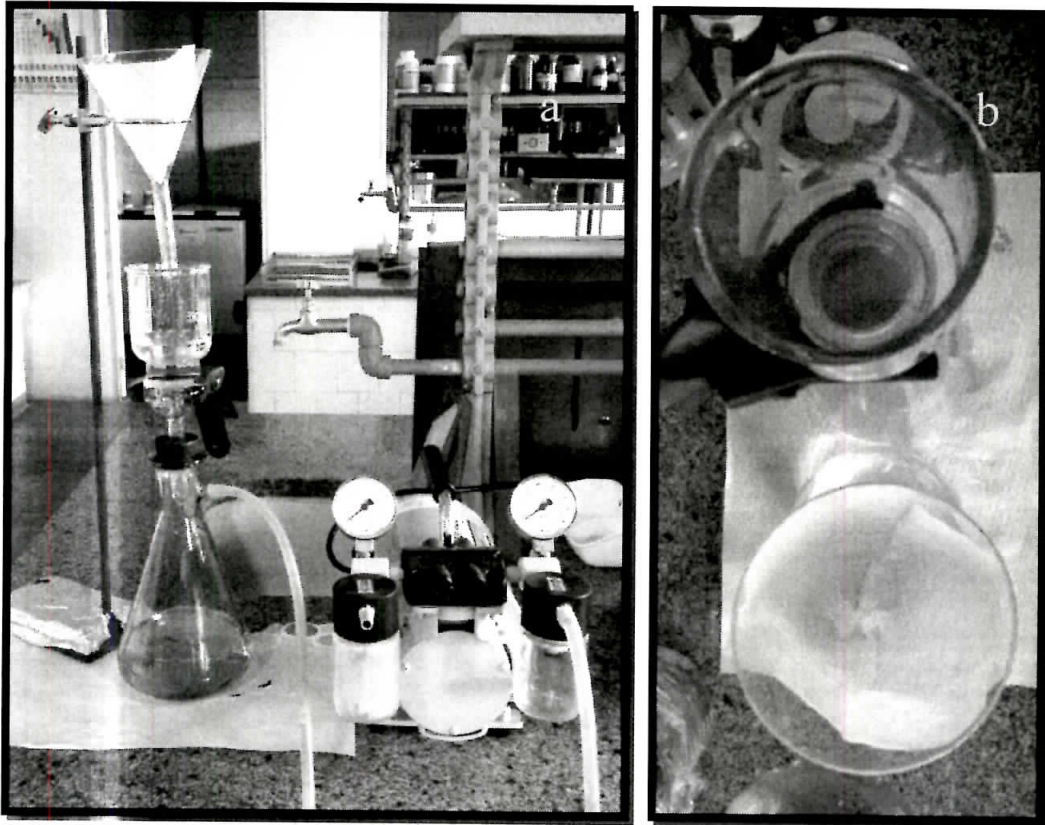


Figura 19– a. Figura da aparelhagem adaptada para melhor resultado da filtração; b. Figura da aparelhagem e para melhor visualização da membrana milipore no aparelho; c. Papel de filtro utilizado e partículas retidas.

FONTE: Acervo do autor, 2015.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As coletas foram realizadas nas datas mostradas abaixo. Durante as coleta tivemos um período chuvoso que ocorreu no mês de setembro.

Tabela 3 - Determinação de números das amostras para melhor identificação.

Datas	Valão dos Bois	Rio da Onça
17/05	1	-
13/07	2	3
09/09	4	5
21/10	6	7
04/01	8	9

6.1 Análises Físicas

Na figura 20, vê-se todas as amostras de cada rio ao logo do ano e enfileiradas, de modo a melhor comparação do aspecto visual entre elas.

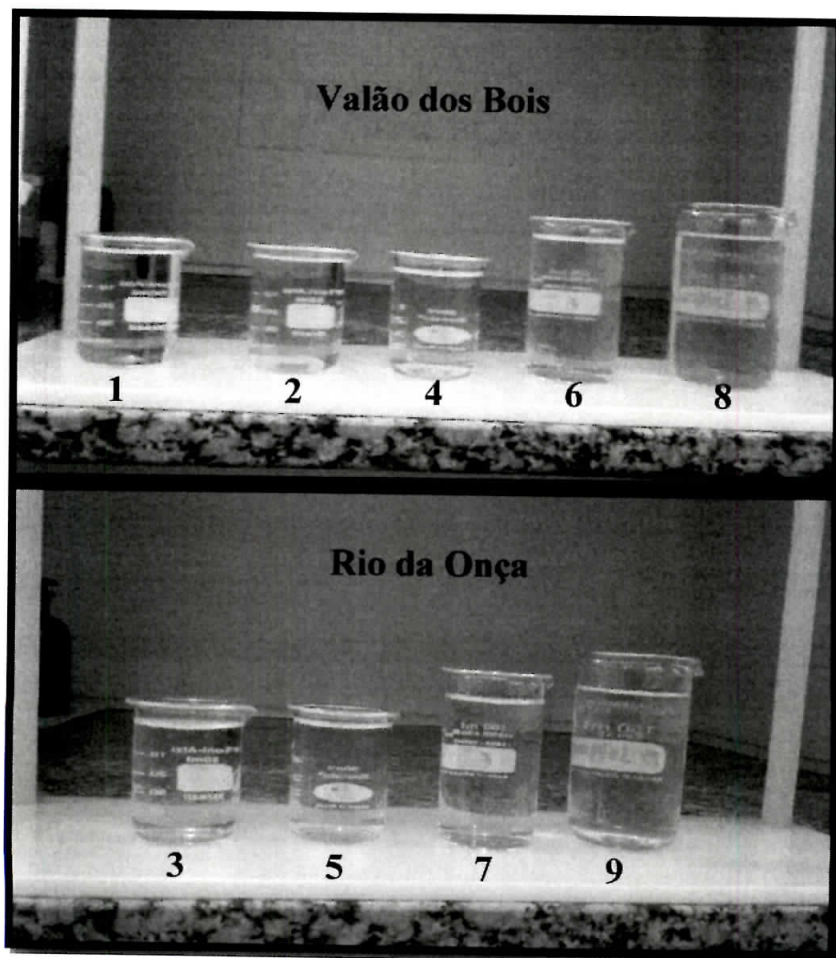


Figura 20 – Amostras anuais dos dois rios e numeração vinculadas com a Tabela 3.

FONTE: Acervo do autor, 2015.

Como já foi dito anteriormente foram realizadas análise de pH utilizando um pHmetro (QualtXtron QX1500 Plus - pH/mV com RS232), cor com um espectofotômetro (Hach DR - 3000) , condutividade com um condutivímetro (DM-32 - Digimed).

6.1.1 pH

Observou-se a presença de uma espécie de peixes no Valão dos Bois no decorrer das estações do ano, isso provavelmente devido a não ocorrência de variação do pH, e possivelmente essas espécies estejam adaptadas às condições de neutralidade.

6.1.2 Cor

A cor apresentou valores de 90 a 200 PtCo para o Valão do Bois, e 61 a 113 PtCo para o Rio da Onça. Este parâmetro apresentou maiores valores na estação chuvosa, em função da lixiviação de partículas do solo. O Valão dos Bois apresentou maiores valores de cor em relação ao Rio da Onça, revelando uma maior exposição dos solos à lixiviação.

6.1.3 Condutividade

Quanto maior a carga orgânica maior a condutividade. Comparando os dois rios: quanto maior a DQO maior sua carga orgânica e maior sua condutividade devido a maior presença de eletrólitos.

6.2 Análises Químicas

Foram realizadas as análise químicas: Oxigênio Dissolvido(OD) por uma sonda de OD chamada de medidor de oxigênio dissolvido (DO-5519 – Lutron) e Demanda Química deoxigênio(DQO) pelo Standard Methods.

Tabela 4 – Dados de Oxigênio Dissolvido (OD) e Demanda Química de oxigênio(DQO) dos dois rios analisados.

Data	Valão dos Bois				Rio da Onça			
	Amostra	OD (mg/L)	DQO (mg/L)	CAFEÍNA	Amostra	OD (mg/L)	DQO (mg/L)	CAFEÍNA
17/05	2	2,6	86,77	717,94	3	5,8	45,06	558,25
09/09	4	4,1	64,60	ND	5	8,2	23,45	ND
21/10	6	2,9	82,88	344,25	7	6,6	24,26	269,27
04/01	8	3,2	77,87	228,79	9	6,4	37,19	125,67

6.2.1 Oxigênio dissolvido (OD)

O OD é um dos parâmetros mais importantes de que se dispõem no campo do controle das águas. É um parâmetro fundamental para verificar e manter as condições aeróbias num curso d'água que recebe material poluidor. A presença de OD na água é fator de grande importância na sua qualidade.

A determinação da quantidade de oxigênio dissolvido é utilizado para controlar o processo de aeração e é indispensável nos estudos das atividades fotossintetizadoras e da corrosividade da água.

Foi observado que em períodos chuvosos a disponibilidade OD foi maior.

6.2.2 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

No Valão dos Bois, a variação da concentração de DQO foi entre 86,77mg/L e 64,60mg/L. O maior valor de DQO encontrado foi no período chuvoso, possivelmente devido a ocorrência de lixiviação de matéria orgânica. No entanto, no Rio das Onças, verificou-se uma menor concentração que variou de 45,08mg/L a 23,45mg/L. Essas diferenças de valores entre os rios se dão, provavelmente, pela ocupação desordenada vista no Valão dos Bois. O aumento da DQO, nos dois rios, acarretou uma queda nos valores de OD, isto porque durante o processo de degradação de matéria orgânica ocorreu um consumo de oxigênio.

6.3 Análises Biológicas

As análises biológicas foram realizadas obtendo o seguinte resultado, mostrado na tabela abaixo (tabela 5) para os dois rios. Onde encontram-se análises de coliformes totais, coliformes fecais e contagem de bactérias heterotróficas. Revelando o não enquadramento das amostras nos parâmetros da legislação. A presença de coliformes fecais no rio confirma a contaminação por esgoto doméstico.

Tabela 5 – Resultado das análises biológicas para coliformes totais, *E. coli* e contagem bactérias heterotróficas.

Análise	Resultados	Parâmetros da Legislação	Conclusão
Coliformes totais NMP/100 mL	≥ 1600 NMP/100mL	Ausência em 100mL	Reprovado
<i>E. coli</i> NMP/100 mL	500 NMP/100mL	Ausência em 100mL	Reprovado
Contagem Bactérias Heterotróficas UFC/mL	$>250 \times 10$ UFC/100mL	Recomendado $<5,0 \times 10^2$	Reprovado

6.4 Determinação de Cafeína

É esperado encontrar quantidades significativas de cafeína nas águas dos dois rios, já que eles são afluentes dos principais rios que recebem o despejo de efluentes doméstico (em sua maioria), havendo uma variação nessa quantidade devido ao tempo de residência e a deslocamento das substâncias pelas águas.

Devido às características do local também pode-se prever uma quantidade maior de matéria orgânica e cafeína no Valão Bois, porque esse tem mais influência antrópica que o Rio da Onça, possivelmente confirmando o argumento de Peeler (2004).

A Tabela 4 apresenta os valores dos parâmetros OD, DQO e cafeína. Com o aumento da DQO verifica-se uma queda nos valores de OD conseqüentemente o oxigênio foi consumido na degradação da matéria orgânica.

O aumento do teor de cafeína concomitantemente com a elevação da DQO evidência a presença de esgoto doméstico no corpo receptor.

7 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível determinar a cafeína e verificar a contaminação dos rios Valão dos Bois e Da onça resultantes de esgoto doméstico devido provavelmente a ocupação desordenada da região.

A determinação da cafeína está sendo utilizada como traçador de atividade antrópica e a sua presença sugere a existência de contaminantes emergentes. Estes contaminantes precisam ser estudados, pois causam efeitos tóxicos mesmo em pequenas quantidades nos corpos receptores.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACS CAERN14. **Tratamento de Esgoto.** Jan, 2014. Disponível em:
<<http://www.rn.gov.br/Conteudo.asp?TRAN=ITEM&TARG=12037&ACT=null&PAGE=null&PARM=null&LBL=NOT%C3%83+CIA>>, Acesso em 12/05/2015 às 17:30h.
- ARIOLIVER. **Panoramio.** 2005. Disponível em:
<<http://www.panoramio.com/photo/29202437>>, Acesso em 12/05/2015 às 19h.
- ARRUDAS, ETE. **Tratamento de esgotos - A nova prioridade da COPASA.** Fev, 2015.
Disponível em:
<<http://www.copasa.com.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=470&sid=31&tpl=printer view>>, Acesso em 12/05/2015 às 18:21h.
- BATT, A., BRUCE, I., AGA, D. **Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges.** Environmental Pollution, n.142, p.295-302, 2006.
- BENDZ, D., PAXEUS, N. A., GINN, T. R., LOGE, F. J. **Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Hoje River In Sweden.** Journal of Hazardous Materials, v.122, No.3, p.195-204,2005.
- BENOTTI, M. J., BROWNAWELL, B. J. **Distributions of pharmaceuticals in a urban estuary during both dry- and wet-weather conditions.** Environmental Science & Technology, v.41, No.16, p.5795-5802, 2007.
- BRADLEY, P. M., BARBER L. B., KOLPIN, D. W., MCMAHON and CHAPELLE, F. H. **Biotransformation of caffeine, cotinine, and nicotine in stream sediments: Implications for use as wastewater indicators.** Environmental Toxicology and Chemistry, v.26, No.6, p.1116-1121, 2007.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (SNIS). **Diagnóstico dos serviços de águas e esgoto**, 2010. Brasília: MCIDADES, SNSA, 2012. p.448.

- CAMARGO, M. C. R., TOLEDO, M. C. F., FARAH, H. G. **Caffeinedailyintakefromdietarysources in Brazil.** FoodAdditivesandContaminants, v.16, No.2, p.19-87, 1999.
- CANELA, M. C., JARDIM, W. F., SODRÉ, F. F., GRASSI, M. T. **Cafeína em águas de abastecimento público no Brasil / Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas – INCTAA.** Editora Cubo, 2014.
- CARDOSO, L. V. **Otimização e Validação de método empregando SPE e LC-APCI-MS/MS para determinação de fármacos em água de superfície e de abastecimento público.** Dissertação (Mestrado em Química), Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, 2011.
- CHEIS, D. **Remoção de nutrientes, como fósforo e nitrogênio no tratamento de esgotos.** Abr, 2014. Disponível em: <<http://www.revistatae.com.br/noticialnt.asp?id=7454>>, Acesso em: 22/07/2015 às 16:37h.
- CHEN, Z., PAVELIC, P., DILLON, P., NAIDU, R. **Determination of caffeine as a tracer of sewage effluent in natural water by on-line solid-phase extraction and liquid chromatography with diode-array detection.** Water Research, v.26, p.4830-4838, 2002.
- DAMSTRA T., BARLOW S., BERGMAN A., KAVLOCK R., VAN DER KRAAK G. **Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors.** International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva, 515p, 2002.
- DAUGHTON, C.G. **Environmental stewardship and drugs as pollutants.** Lancet, No.360; p.1035-1036, 2002.
- ENCARNAÇÃO, R. O., LIMA, D. R. **Café & Saúde Humana.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa. Brasília, DF. 2003. ISSN 1678-1694.

ESTADOS UNIDOS. United States Geological Survey (USGS). Disponível em: <<http://toxics.usgs.gov/regional/emc/index.html>>, Acesso em: 11 maio de 2015, às 13:03h.

FERREIRA, A. P. **Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems.** Caderno Saúde Pública, v.21, No.6, p.1884-1892, 2005. ISSN 1678-4464.

FILHO, D. T., ANTUNES, J. C. O., VETTORAZZI, J. S. **Bacia hidrográfica dos rios Guandu, da Guarda e Guandu-Mirim.** Experiências para a gestão dos recursos hídricos. Edição Inea Instituto estadual do ambiente. Rio de Janeiro: INEA, 2012. ISBN: 978-85-63884-10-7.

GHISELLI, G., JARDIM, W. F. **Interferentes endócrinos no ambiente.** Química Nova, v.30, No.3, 2007.

GONÇALVES, E. S. **Uso da cafeína como indicador de contaminação por esgoto doméstico em águas superficiais.** Dissertação (Mestrado em Geoquímica Ambiental), Universidade Federal Fluminense, 2008.

IDE, A. H., CARDOSO, F. D., SANTOS, M. M., KRAMER, R. D., AZEVEDO, J. C. R., MIZUKAWA, A. **Utilização da cafeína como indicador da contaminação por esgotos domésticos na bacia do Alto Iguaçu.** Revista Brasileira de Recursos Hídricos, v.18, No.2, p.201-211, 2013.

JARDIM, I. C. S. F. **Extração em fase sólida: Fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas.** Instituto Internacional de Cromatografia. Scientia Chromatographica, v.2, No.1, p.13-25, 2010. ISSN 1984-4433.

JARDIM, W. **Cafeína indica atividade estrogênica e contaminação por esgoto.** Revista Águas Subterrâneas – Associação de Águas Subterrâneas – ABAS, Janeiro/Fevereiro, 2014.

- LANÇAS, F. M. **A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massa finalmente “compatíveis”?** Instituto Internacional de Cromatografia, Scientia Chromatographica, v.1, No.2, p.35-61, 2009.
- LEITE G. S., AFONSO, R. J. C. F., AQUINO, S. F. **Caracterização de contaminantes presentes em sistemas de tratamento de esgotos, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tandem em alta resolução.** Química Nova, v.33, No.3, 2010.
- MACHADO, K. S. **Determinação de hormônios sexuais femininos na bacia do Alto Iguaçu, Região Metropolitana de Curitiba-PR.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental), Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal do Paraná, 2010.
- NAWROT, P. JORDAN, S., EASTWOOD, J., ROTSTEIN, J., HUGENHOLTZ, A., FEELEY, M. **Effects of caffeine on human health.** Food Addition Contamination, v.20, p.1-30, 2003.
- OGUNSEITAN. O. A. **Removal of caffeine in sewage by *Pseudomonas putida*: Implications for water pollution index.** World Journal of Microbiology & Biotechnology, v.12, p.251-256, 1996.
- PELLER, K. A. **Caffeine as an anthropogenic source indicator in freshwater and marine systems.** Dissertação (Mestrado em Oceanografia), Department Oceanography, The Florida State University, 2004.
- PUBCHEM. Disponível em: < <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>>, Acesso em: 27 de junho de 2015 às 14h.
- QUEIROZ, S. C. N., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F. **Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica.** Química Nova, São Paulo, v.24, No.1, p.68-76, 2001.

- RAIMUNDO, C. C. M. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia.** Dissertação (Mestrado em Química na Área de Química Analítica), Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, 2007.
- REVISTA CIDADANIA & MEIO AMBIENTE. Câmara Cultural. **A água que bebemos pode afetar nossos hormônios**, No.50, Ano IX, 2014. ISSN 2177-630X.
- RIO DE JANEIRO. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. **Bacias Hidrográficas e Recursos Hídricos da Macrorregião Ambiental 2 - Bacia da Baía de Sepetiba.** Cooperação Técnica Brasil-Alemanha, Projeto Planágua - SEMADS/GTZ. Rio de Janeiro, 2001, v.4 ISBN 85-87206-07-9.
- ROCHA, G. C. **Avaliação da atividade estrogênica das águas do Rio Paraíba do Sul.** Dissertação (doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental), Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, 2012.
- SAMPAIO, N. M. F., AZEVEDO, J. C. R., IDE, A. H., SANTOS, M. M., LEITZKE, F. L. S., PADILHA, C. F. **Determinação de Caféina em Águas da Bacia do Alto Iguaçu.** SICITE -Seminário de Iniciação Científica e Tecnologia da UTFPR XVII. Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2012.
- SANKARARAMAKRISHNAN, N., GUO, Q. **Chemical tracers as indicator of human fecal coliforms at storm water outfalls.** Environment International, v.31, No.8, p.1133–1140, 2005.
- SEILER, L. R., ZAUGG, S. D., THOMAS, J. M., HOWCROFT, D. L. **Caffeine and pharmaceuticals as indicators of waste water contamination in wells.** GroundWater, v.37, No.3, p.405-410, 1999.
- SILVA, A. P. B., KLAUCK C. R., MONTEIRO, G. S., BENVENUTI, T., RODRIGUES, M. A. S., OSORIO, D. M. M., LINDEN, R. **Determinação de cafeína em amostras de**

água do arroio Vila Kunz – Novo Hamburgo, RS, Brasil. XIX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos. Bento Gonçalves/RS, 2013.

SILVA, C. G. A., COLLINS, C. H. **Aplicações de cromatografia líquida de altaeficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes.** QuímicaNova, SãoPaulo, v.34, No.4, p.665-676, 2011.

SILVA, R. F., SILVA, P. T. S., SILVA, L. K .A., PAIM, A. P., SILVA, V. L. **Screening preliminar dos contaminantes emergentes encontrados em ETEs da região metropolitana do Recife-PE empregando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução.** 26º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2011.

SLACK, G. C., SNOW, N. H. **HPLC MethodDevelopment for Pharmaceuticals.** 8ªedição, Academic Press, 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 andSoilPollution, v.206, p.57-67, 2010.

TUBBS, D., FREIRE, R. B. & YOSHINAGA, S. **Utilização da cafeína como indicador de contaminação das águas subterrâneas por esgotos domésticos no bairro de Piranema – Municípios de Seropédica e Itaguaí/RJ,** XIII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas, 2003.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** Volume 1, 2ª ediçãorevisada, Belo Horizonte, 1996.

ZHANG Z. L., ZHOUL J. L. **Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** JournalofChromatography A, v.1154, p.205-213, 2007.