



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA

Everton Soares de Barros da Silva

**Extração de 17 β -estradiol em águas do sistema de abastecimento
da cidade de Dourados-MS e subterrânea consumida na Unidade
II da UFGD**

Dourados - MS

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**Extração de 17 β -estradiol em águas do sistema de abastecimento da cidade de
Dourados-MS e subterrânea consumida na Unidade II da UFGD**

Everton Soares de Barros da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso do
Curso de Bacharelado e Licenciatura
em Química da Universidade Federal
da Grande Dourados
Orientador: Prof. João Batista Gomes
de Souza

Dourados-MS

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586e	<p>Silva, Everton Soares de Barros da. Extração de 17β-estradiol em águas do sistema de abastecimento da cidade de Dourados-MS e subterrânea consumida na Unidade II da UFGD. / Everton Soares de Barros da Silva. – Dourados, MS : UFGD, 2014. 28f.</p> <p>Orientadora: Prof. João Batista Gomes de Souza. Monografia (Graduação em Bacharel e Licenciatura em Química) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. 17β-estradiol. 2. Extração em fase sólida. 3. Contaminação. I. Título.</p> <p>CDD –526.32</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

Foque nos seus objetivos, no seu caminho, nos seus desejos, nas suas vitórias, mas principalmente nas suas derrotas, pois é através delas que você se motiva a continuar tentando, errando, crescendo, aprendendo.

Assim, procurar entender, procurar sonhar e imaginar a vida de outra maneira. Problemas vêm e vão, mas a maneira como você irá solucioná-los é o que conta e sempre você irá se lembrar de que foi forte e superou todos os obstáculos que foram postos para você.

(Luhana Baldan)

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo agradeço aos meus pais, que sempre batalharam para me proporcionar condições adequadas de concluir o curso.

Agradeço também à orientação Prof. João Batista Gomes de Souza, que me guiou e manteve a paciência e o bom humor característicos comigo, mesmo nos momentos mais difíceis. Agradeço ao Luiz Henrique, que mesmo não tendo obrigação, também me ajudou no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao Laboratório de Química Geral por me cederem equipamentos e espaços necessários para conclusão deste estudo.

Em especial, agradeço às pessoas e situações que me impuseram dificuldades no percorrer deste curso de graduação, pois com elas consegui meus maiores e verdadeiros crescimentos profissionais e pessoais, me fazendo sempre superá-los como soube que conseguiria.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Formula estrutural 17 β -estradiol.....	12
Figura 2 - Espectro de absorbância ultravioleta para o 17 β -estradiol: Com varredura de 240 a 350 nm. Solução de 10 mg L ⁻¹ em água	19
Figura 3 - Curva analítica obtida para quantificação do 17 β -estradiol.....	20
Figura 4 - Teste de recuperação para o 17 β -estradiol na concentração de 8,0 μ g L ⁻¹	20
Figura 5 - Espectro de absorção para a determinação de quatro amostras do sistema de abastecimento de água de Dourados-MS (amostras 1).....	21
Figura 6 - Espectros de absorção para a determinação de duas amostras obtidas no piso térreo da UFGD-FACET (amostras 2).....	22
Figura 7 - Espectros de absorção para a determinação de duas amostras obtidas no piso 1 da UFGD-FACET (amostras 2).....	22
Figura 8 - Espectros de absorção para a determinação de duas amostras obtidas no piso 1 da UFGD-FACET (amostras 2).....	23
Figura 9 - Sistema de secagem utilizando nitrogênio.....	27
Figura 10 - Extração em fase solida.....	27
Figura 11 - Extração em fase solida. Imagem visual dos cartuchos C18.....	28

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Procedimentos de extração utilizado na recuperação do 17 β -estradiol.....	18
Tabela 2 – Níveis de recuperação obtidos para o 17 β -estradiol.....	21

LISTA DE ABREVIATURAS

C18 - Sílica funcionalizada com octadecilsilano para fase reversa.

E1 – Estrona.

E2 – 17 β -estradiol.

EE2 – 17 α -etinilestradiol.

ETEs - Estações de tratamento de esgoto sanitário.

EPA: Agência de proteção ambiental.

FACET: Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia.

HLB: copolímero hidrofílico - lipofílico.

MeOH– Metanol.

PDMS – Polidimetilsiloxano

pH:Potencial hidrogeniônico

SPE: Extração em fase sólida

UFGD: Universidade Federal da Grande Dourados.

US. EPA: Agência de proteção ambiental dos Estado Unidos.

LISTA DE SÍMBOLOS

ngL^{-1} : Nanogramas por litro.

mg L^{-1} : miligrama por litro.

mg: miligrama.

mL: mililitro

$\mu\text{g L}^{-1}$: micrograma por litro.

nm: Nanometro.

Kcal/mol^{-1} :quilocaloria por mol.

ppm: parte por milhão.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	11
RESUMO	12
1.0 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Estudo do 17 β -estradiol	15
1.2 Espectroscopia molecular UV-Visível.....	15
2.0 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos Gerais	17
2.2 Objetivos Específico	17
3.0 PARTE EXPERIMENTAL	18
3.1 Materiais	18
3.2 Reagentes, Solventes e Padrões	18
3.3 Equipamentos	18
3.4 Limpeza de vidraria	18
3.5 Preparo das Soluções.....	19
4.0 METODOLOGIADO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO	20
4.1 Extrações.....	20
4.2 Amostragem.....	21
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1 Escolha do comprimento de onda para análise das 17 β -estradiol	21
5.2 Curvas de Calibração.....	22
5.3 Procedimentos de Extração	22
5.4 Análises das Amostras	24
6.0 CONCLUSÕES	27
7.0 REFERÊNCIAS.....	28
8.0 APÊNDICES	30

RESUMO

Os desreguladores endócrinos têm chamado a atenção da comunidade científica devido aos problemas que podem causar aos animais em geral, quando liberados no meio ambiente. Portanto, avaliou-se na água consumida presença do estrogênio 17β -estradiol na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) unidade II e em uma amostra do sistema de abastecimento da cidade de Dourados. O procedimento de análise foi realizado por extração em fase sólida, aos quais possibilitaram a extração, purificação e concentração do estrogênio para determinação por espectrometria de ultravioleta. Como resultado dessa pesquisa foi sugerido que poderia ter quantidades significativas do estrógeno na água analisada.

PALAVRAS CHAVES: 17β -estradiol; extração em fase sólida; contaminação

1.0 INTRODUÇÃO

A grande preocupação da comunidade científica quanto à qualidade da água potável, a disposição do esgoto sanitário tratado e o seu reaproveitamento para consumo humano, deve-se à presença de micropoluentes orgânicos de concentração da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ngL^{-1} . Esses micropoluentes, os desreguladores endócrinos, como são chamados, causam danos ao meio ambiente e aos seres vivos que nele vivem. Alguns desses produtos químicos têm a habilidade de limitar ou bloquear a ação dos hormônios naturais nos animais, Exemplos dessas substâncias são: estrogênios naturais e sintéticos, fármacos, pesticidas, produtos de higiene pessoal, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, organoclorados, bisfenóis, parabenos, etc (DEZOTTI, 2007). Os desreguladores endócrinos são substâncias capazes de interferirem no funcionamento normal do sistema endócrino de humanos e animais.

Os desreguladores endócrinos são definidos pela “Environmental Protection Agency” (EPA), como sendo um: “agente exógeno que interfere com síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônio natural no corpo que são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento dos organismos” (US. EPA, 1997). Podendo ainda, segundo a União Européia (2001): causar dano diretamente a um órgão endócrino, alterar diretamente a sua função, interagir com receptores hormonais e alterar o metabolismo hormonal tanto em um órgão endócrino como periféricamente.

Os estrogênios naturais e sintéticos também são classificados como desreguladores endócrinos. Estrogênios são esteróides hormonais que regulam e sustentam o desenvolvimento sexual feminino e suas funções reprodutivas (JARDIM, 2007). O estrogênio natural 17β -estradiol (Figura 1) é o estrogênio predominante durante os anos reprodutivos da mulher e o principal responsável pela formação das características femininas.

Os estrógenos naturais 17β -estradiol e a estrona. Nos organismos superiores, a estrona é produzida como um metabólito do 17β -estradiol. Essas substâncias são responsáveis pelo desenvolvimento de características femininas no início da puberdade e pelo aumento das glândulas mamárias durante a gravidez. Além dessas funções, também assumem importante papel na diferenciação sexual e no desenvolvimento de características femininas pré e pós-nascimento (REIS FILHO et al., 2006).

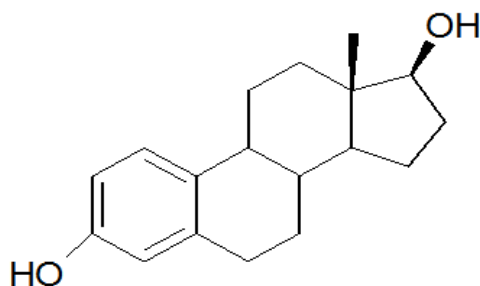


Figura 2- Formula estrutural 17 β -estradiol. Fonte. O autor.

Quantidades significativas de desreguladores endócrinos são encontradas em: efluentes e lodo biológico das Estações de tratamento de esgoto sanitário (ETEs), fontes de água potável, águas subterrâneas e águas superficiais, sedimentos marinhos e solo; causando alterações tanto na fauna quanto na flora desses ambientes. Sendo assim, podendo estar presentes em altos níveis nas carnes, leite e derivados e ovos de mamíferos e também nos peixes. Onde também há ocorrência de 17 β -estradiol e estrona entre outros (HARTMANN et. al., 1998).

Para isolamento e purificação os métodos analíticos descritos na literatura baseiam-se basicamente na extração em fase sólida onde são empregados uma variedade de sorventes (LOPES, 2007; TAN et al., 2007; KOYUNCU et al., 2008; TOMSIKOVA et al., 2012).

Nos métodos de extração em fase sólida para análises desses hormônios podem ser usados cartuchos de fase polimérica como o HLB (copolímero hidrofílico - lipofílico), nestes casos é usado como solvente de eluição acetato de etila, MeOH ou misturas de solventes (GABET et al., 2008). O uso de fase de poliestireno-divinil-benzeno (Strata-X, Phenomenex) foi descrito para uma série de hormônios (E1, E2, E3, e EE2) analisados simultaneamente em efluente de ETE (VULLIET & JEAN-BAPTISTE, 2007).

Discos e cartuchos de C18 também são utilizados, geralmente a eluição ocorre com acetona ou MeOH. Diferentes tipos de sorventes de SPME (micro extração em fase sólida) podem ser empregados para extração dos hormônios como PDMS (polidimetilsiloxano), poliacrilato, PDMS-divinilbenzeno, carboxin-PDMS e carbowax-divinilbenzeno (CARPINTEIRO et al., 2004).

No processo de condicionamento dos cartuchos várias combinações de solventes são utilizadas com o intuito de desembaraçar as cadeias deixando-as totalmente abertas para a penetração dos hormônios, aumentando a adsorção. Alguns métodos utilizam solução ácida (pH=3) para evitar que ocorra a ionização dos grupos OH fenólicos dos estrogênios.

1.1 Estudo do 17 β -estradiol

O estudo do 17 β -estradiol é de grande interesse científico, devido essa substância pertencer ao grupo de substâncias químicas presentes no ambiente que podem interferir no sistema endócrino de humanos e outros animais, o crescimento e a reprodução. Todos os seres humanos, bem como os animais, excretam estrógenos, através da urina ou fezes, os quais são lançados no ambiente, sendo encontrado nos esgotos domésticos chegando aos mananciais superficiais e/ou subterrâneos (BILA e DEZOTTI, 2003, REIS FILHO et al., 2006, GHISELLI e JARDIM, 2007). Uma vez que a produção dessas substâncias ocorre de forma natural ou através do consumo na forma de medicamentos, elas são introduzidas de forma contínua no ambiente.

Grande parte dos estrógenos é metabolizada e excretada na forma inativa, conjugadas com ácido glicurônicos e sulfatos. A ação de enzimas produzidas por bactérias comumente encontradas em áreas de despejo de efluentes biotransformam em compostos biologicamente ativos (YING et al., 2002; REIS FILHO et al., 2006).

Muitos resíduos das estações de tratamentos, lodos, são utilizados como adubos orgânicos para a agricultura, permeiam o solo, e com as chuvas esses compostos podem ser levados até o lençol freático e por muitas vezes contaminam as águas subterrâneas. Outro caso importante são os usos das fossas tradicionais de dejetos humanos, que acarreta à contaminação do solo e subsequentemente a água subterrânea. Então as águas de poços também não estão livres desses compostos, visando que poços de 30 metros são diferentes de poços de 100 metros. No entanto a contaminação de um poço mais próximo a superfície torna-se maior.

O material de estudo escolhido foi amostra de água consumida na unidade II da UFGD devido ela ser capitada diretamente do subsolo, “e não possuir tratamento adequado”.

Por esses motivos o trabalho busca desenvolver a possível determinação do hormônio 17 β -estradiol em amostra de água coletadas nos bebedouros da FACET/UFGD, visto que essa água é de poços artesianos.

1.2 Espectroscopia molecular UV-Visível

A espectroscopia molecular de UV-Visível é um dos métodos analíticos mais usados nas determinações em diversas áreas. É aplicada para determinações de compostos orgânicos e inorgânicos, como, por exemplo, na identificação do princípio ativo de fármacos.

A espectroscopia de absorção molecular UV-Vísível é adequada para a identificação dos grupos funcionais na molécula. Mais importante, entretanto, são as aplicações da espectroscopia de absorção molecular para a determinação quantitativa de compostos contendo grupos absorventes.

A região ultravioleta do espectro é geralmente considerada na faixa de 200 a 400 nm, e a região do visível entre 400 a 800 nm. As energias correspondentes a essas regiões estão em torno de 150 a 72 Kcal/mol¹ região ultravioleta, e 72 a 36 Kcal/mol¹ para a região visível. Energias dessa magnitude correspondem, muitas vezes, à diferença entre estados eletrônicos de muitas moléculas.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

O presente projeto visa a determinação do 17β -estradiol em amostras de água consumida na unidade II da UFGD e no abastecimento da cidade de Dourados por extração em fase sólida e análise por espectrometria na região do ultravioleta.

2.2 Objetivos Específico

- Realizar a extração, purificação e concentração de 17β -estradiol em água para consumo humano;
- Determinar a presença da substância por espectroscopia de absorção molecular.

3.0 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais

- Vidraria de uso comum em laboratório (béquer, erlenmeyer, pipeta, balão volumétrico e tubos de ensaio de 15 mL graduados);
- Micropipeta automática de volume variável de 100 e 1000 μL , fabricada pela *Hamilton*;
- Conjunto de filtração para extração em fase sólida, com 12 posições, *Agilent Technologies*;
- Cartucho para extração em fase sólida de octadecilsilano THAL-UBC181M6 de 1000 mg e 6 mL. *Thorium*;
- Papel indicador de pH. *ColorpHast*;
- Outros materiais: suporte, garra.

3.2 Reagentes, Solventes e Padrões

- Hexano P. A. *Neon*;
- Acetona, P.A. *Proquimicos*;
- Álcool metílico. P.A. *CRQ*.
- padrões do hormônio 17β -estradiol, com grau de pureza 99,4%, *FLUKA*.

3.3 Equipamentos

- Compressor-aspirador modelo *DIA PUMP CAL. Fanem*;
- Sistema de purificação de água por osmose reversa *GEHAKA* modelo OS10LXE;
- Espectrômetro de absorção molecular “*Cary 50*” (Varian),

3.4 Limpeza de vidraria

As vidrarias foram lavadas com água corrente e detergente alcalino. Em seguida, enxaguados com água da torneira, água destilada e etanol (96%), sendo deixados para secar a temperatura ambiente de 25 °C.

3.5 Preparo das Soluções

Todas as soluções foram preparadas a partir de uma solução estoque de 100 mg L⁻¹ de 17β-estradiol em acetonitrila.

As soluções de trabalho foram preparadas através da diluição da solução estoque em balões volumétricos de 5,0 mL com água deionizada. As concentrações das soluções de trabalho foram de 0,5 – 8,0 mg L⁻¹ para preparo da curva de calibração e de 10 mg L⁻¹ para a realização da varredura no espectrômetro de absorção molecular para determinação do comprimento de onda do hormônio. As soluções de trabalho foram armazenadas em geladeira a temperatura aproximadamente de 4 °C.

4.0 METODOLOGIA DO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO

4.1 Extrações

A metodologia analítica foi conduzida por testes de adição e recuperação do analito, linearidade e faixa de aplicação. Foram utilizadas amostras de água destiladas fortificadas com o analito 17 β -estradiol.

Foram realizados testes de recuperação em dois níveis de recuperação, esses níveis foram estabelecidos após a obtenção da curva de linearidade e calibração para o sistema de espectrometria de ultravioleta. Para cada nível de fortificação foram realizadas duas extrações e uma testemunha que consiste na extração sem que houvesse a adição do padrão na amostra pelo cartucho de C18.

Amostras de água destiladas foram fortificadas com 17 β -estradiol nas concentrações obtidas de 8,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 32,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ após a diluição em 250 mL estando dentro do intervalo da curva de calibração. As amostras tiveram o pH corrigido para 5,0 com ácido clorídrico 0,1 mol L para evitar que ocorresse a ionização dos grupos OH fenólicos do estrogênio, uma vez que possui pKa relativamente elevado (17 β -estradiol) ele tende a se ionizar aumentando a polaridade e prejudicando a adsorção do analito. Aplicou-se então o método descrito na Tabela 1.

Após a eluição as amostras foram secas sob fluxo de nitrogênio sendo ressuspensas com 2,0 mL de água deionizada e submetida à leitura no espectroscopia de absorção molecular.

Tabela 1 - Procedimentos de extração utilizado na recuperação do 17 β -estradiol

Método	Volume de amostra	Massa de sorvente	Condicionamento do cartucho	Limpeza do cartucho	Volume do eluente
	250mL	1000 mg	3mL de Hexano 2mL de Ace 3 mL de MeOH	10 ml de metanol 10%	3mL de MeOH

Fonte: O autor

4.2 Amostragem

As amostras foram coletadas no bairro Jardim dos Estados proveniente do sistema de abastecimento da cidade de Dourados (Amostra 1) e do prédio da FACET encontrado na Unidade II da UFGD que é abastecido por um poço artesiano. As amostras foram coletadas em um frasco de poliuretano de 1,0 L e a análise realizada em seguida não sendo necessário o armazenamento da mesma.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Escolha do comprimento de onda para análise das 17 β -estradiol

A Figura 2 mostra o espectro na região do ultravioleta do 17 β -estradiol. Verificou-se absorção máxima (λ_{\max}) entre 270 e 280 nm. O comprimento de onda de 270nm foi escolhido para análise do 17 β -estradiol o comprimento de onda de 280 nm não foi utilizado para que não houvesse uma saturação do sistema.

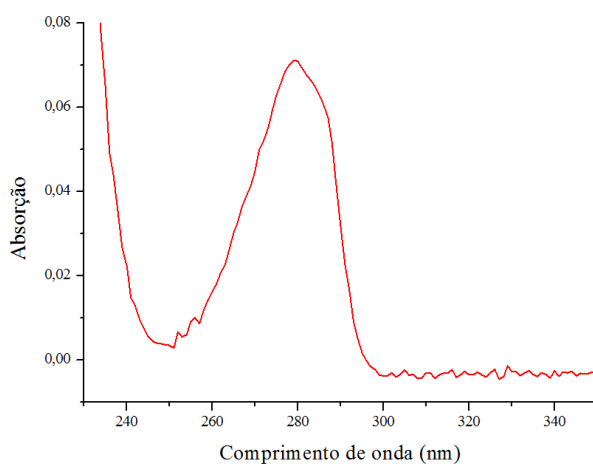


FIGURA 2 - Espectro de absorbância ultravioleta para o 17 β -estradiol: Com varredura de 240 a 350 nm. Solução de 10 mg L⁻¹ em água.

5.2 Curvas de Calibração

Com a determinação do comprimento de onda foi obtido uma curva de calibração para posterior quantificação do analito na amostra. O intervalo de concentração utilizado na obtenção da curva analítica foi de 0,5 – 8,0 mg L⁻¹. A Figura 3 apresenta a curva obtida neste intervalo.

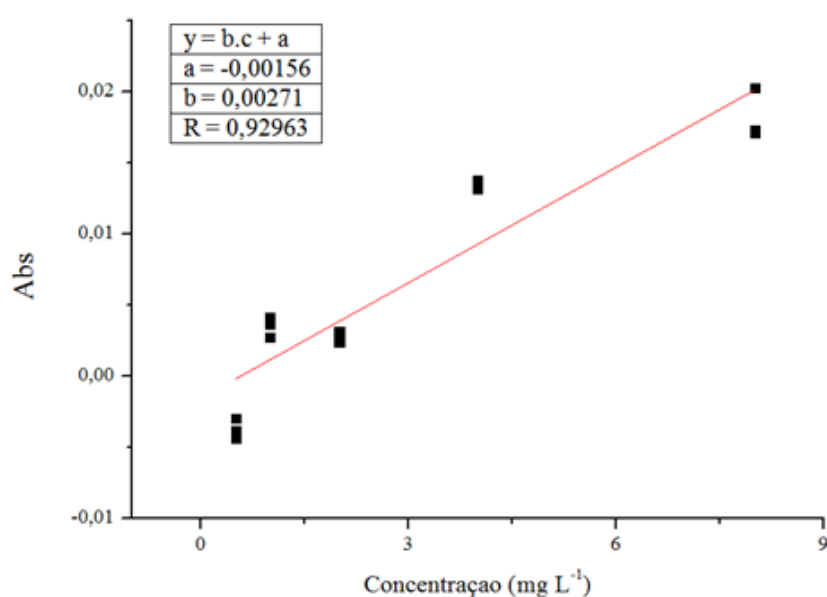


Figura 3 - Curva analítica obtida para quantificação do 17 β-estradiol.

5.3 Procedimentos de Extração

Após a realização do teste de recuperação pode se observar pelas Figuras 4 e 5 que houve absorção na região de 270 nm evidenciado a recuperação do analito submetido ao procedimento.

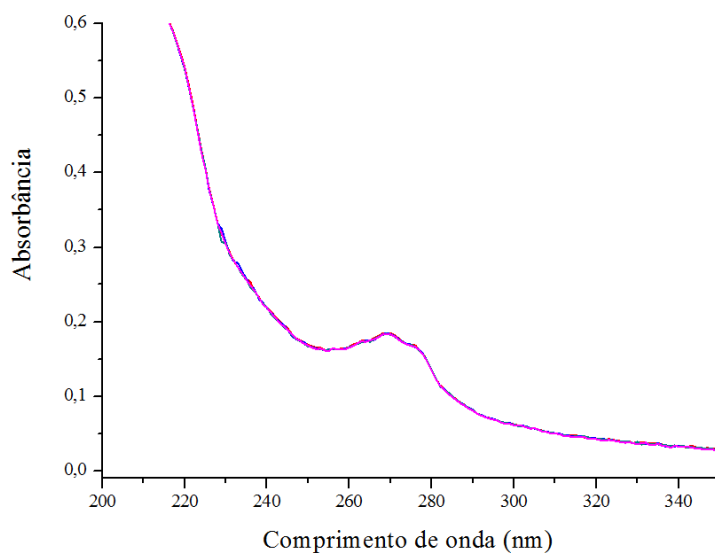


Figura 4 - Teste de recuperação para o 17 β -estradiol na concentração de 8,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

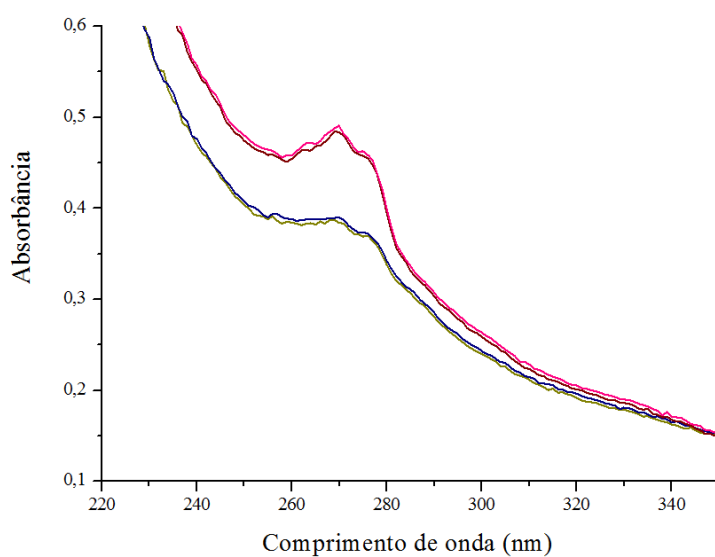


Figura 5- Teste de recuperação para o 17 β -estradiol na concentração de 32,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

As recuperações em ambas extrações ficaram a cima de 100% (Tabela 2) evidenciando que o processo de extração foi eficiente na faixa de concentração analisada. Desta forma este procedimento foi aplicado as análises das amostras.

Tabela 2 – Níveis de recuperação obtidos para o 17 β -estradiol.

Substância	Nível de Fortificação	Recuperação (%) CV
17 β -estradiol	8,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	120
	32,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	115

5.4 Análises das Amostras

O método foi aplicado em duas amostras diferentes, uma obtida em um bairro da cidade de Dourados proveniente do sistema de abastecimento da cidade (amostra 1) e outra do prédio da Unidade II da UFGD-FACET proveniente de um poço artesiano (amostra 2).

A Figura 5 mostra o resultado encontrado para a amostra 1, pode-se observar que não houve absorção no comprimento de onda de 270 nm o que evidenciaria a presença do 17β - estradiol na amostra.

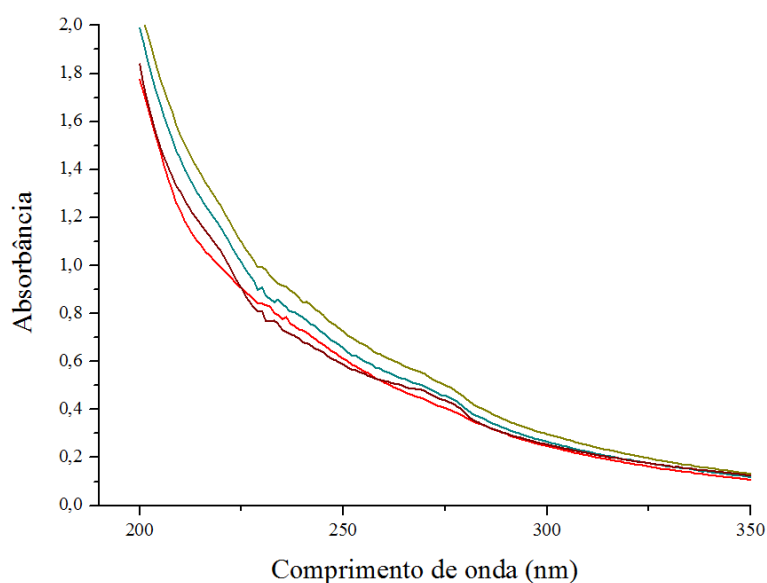


Figura 6 - Espectro de absorção para a determinação de quatro amostras do sistema de abastecimento de água de Dourados-MS (amostras 1).

Para a amostra 2, foram coletadas águas do piso térreo e do piso 1 da unidade dois da UFGD-FACET, como apresentado nas Figuras 6 e 7 podemos observar que no comprimento de onda de 270 nm houve a ocorrência de absorção evidenciando a presença do 17β - estradiol nas amostras do piso térreo e do piso 1 respectivamente.

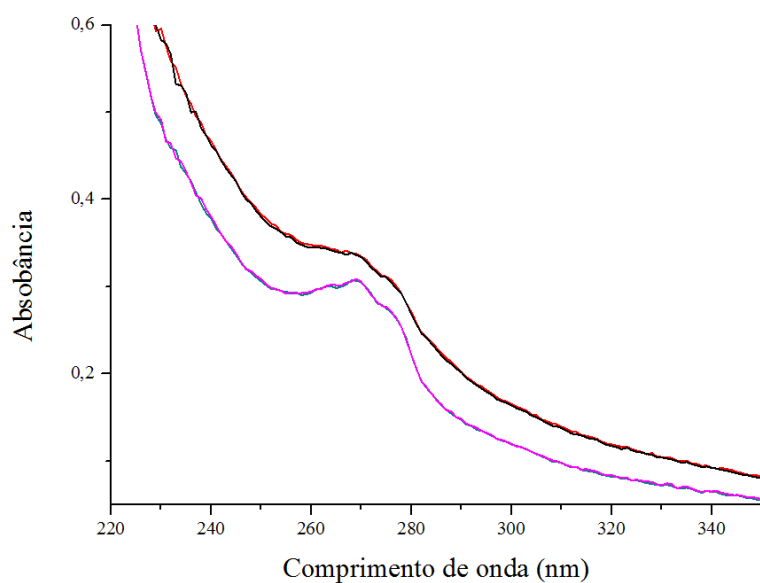


Figura 7 - Espectros de absorção para a determinação de duas amostras obtidas no piso térreo da UFGD-FACET (amostras 2).

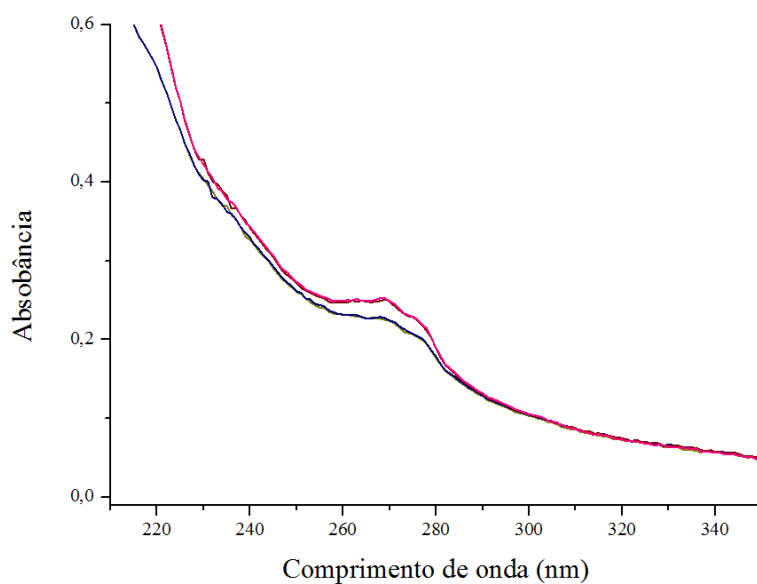


Figura 8 - Espectros de absorção para a determinação de duas amostras obtidas no piso 1 da UFGD-FACET (amostras 2).

A concentração média de 17β – estradiol encontrada no piso térreo foi estimada em $26,40 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que no piso 1 a concentração encontrada foi de $16,88 \mu\text{g L}^{-1}$. Assim podemos concluir que mesmo em pequena quantidade ocorre uma contaminação da água por essas substâncias.

O 17 β -estradiol possui atividade biológica a uma concentração de 10 ng L⁻¹ (BAREL-COHEN et al., 2006) valor muito menor do que a determinada neste trabalho.

Uma análise com a aplicação de um método oficial e com um número maior de amostra é necessário para se ter uma extensão desta contaminação no campus da Unidade dois da UFGD uma vez que a metodologia aqui proposta é apenas um estudo de verificação da eficiência do método e novos parâmetros devem ser estudados.

6.0 CONCLUSÕES

O sistema extração em fase solida mostrou-se um procedimento analítico confiável para a extração do 17β estradiol, em amostra de água após testes de recuperação.

Conforme os gráficos apresentados foram sugeridos a presença de estrogênios 17β -estradiol, na faixa de comprimento de onda de 270 a 280 nm em amostra coletadas nos bebedouros de uso coletivo da FACET-UFGD. No piso térreo foi estima em $26,40 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que no piso 1 a concentração encontrada foi de $16,88\mu\text{g L}^{-1}$.

Os dados encontrados na presente pesquisa demonstram a necessidade de construir um sistema de tratamento de água mais eficientes na unidade II da UFGD. Pois comunidade acadêmica vem crescendo a cada ano. E também sistema mais eficiente de tratamento de efluente, para não ter possíveis problemas futuros relacionados à saúde dos consumidores dessa água e ao meio ambiente.

7.0 REFERÊNCIAS

BAREL-COHEN, K. et al. Monitoring of natural and synthetic hormones in a polluted river. **Journal of Environmental Management**, v. 78, n. 1, p. 16-23, Jan. 2006.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, jul. 2007.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, jul. 2007.

CARPINTEIRO, J. et al. Applicability of solid-phase microextraction followed by on-fiber silylation for the determination of estrogens in water samples by gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1056, p. 179-185, July 2004.

DEZOTTI, M.; BILA, D. M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. *Química Nova*, vol.30, nº 3, 651-666, 2007.

European Workshop on Endocrine Disrupters, European ED workshop, Aronsborg (Balsta) Sweden, 2001.

GABET, V. et al. Analysis of estrogens in environmental matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 11, p. 1113-1131, Dec. 2007.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 695-706, fev. 2007

HARTMANN, S.; LACORN, M.; STEINHART, H. Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chemistry*, Vol. 62, No. 1, 7-20, 1998.

JARDIM, W. F.; GHISELLI, G. Interferentes Endócrinos no Ambiente. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 3, 695-706, 2007.

KOYUNCU, I. et al. Removal of hormones and antibiotics by nanofiltration membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 309, n. 1-2, p. 94-101, Feb. 2008.

LOPES, L. L. **Estudo sobre a ocorrência de estrógenos em águas naturais e tratadas da região de Jaboticabal - SP** . 2007. 122 f. Tese (Doutorado em Química)- Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

REIS FILHO, R. W. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 817-822, abril, 2006

TOMSIKOVA, H.; AUFARTOVA, J.; SOLICH, P.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRIGUEZ, J. J.; NOVAKOVA, L. High-sensitivity analysis of female-steroid hormones in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 34, 2012.

US.EPA, 1997; Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis, U.S. Environmental Protection Agency, Report No. EPA/630/R-96/012, Washington D. C, 1997.

VULLIET, E. et al. Analytical methods for the determination of selected steroid sex hormones and corticosteroids in wastewater. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, p. 2143–215, Jan. 2007.

YING, G. G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y. J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environment International**, v. 28, p. 545-551, Sept. 2002.

8.0 APÊNDICES



Figura 9 Sistema de secagem utilizando nitrogênio

Figura 10 Extração em fase solida



Figura 11 extração em fase solida. Imagem visual dos cartuchos C-18