

VI Fórum de Recursos Hídricos

Presença de hormônios na água

**Estudos de detecção do hormônio sintético 17 alfa etinilestradiol :
Um caminho para as análises em amostras de águas naturais.**

Professor: Marlon Cavalcante Maynart

Doutor Colaborador em Química na Universidade Federal do ABC - UFABC

Centro Universitário Senac - Engenharia Ambiental e Sanitária



marlon.cmaynart@sp.senac.br



20.03.2018



Programação



— **1** —

Reflexão

**Contaminação
Ambiental**



— **2** —

**Poluentes
Emergentes**

***Hormônios**



— **3** —

**Procedimentos
Experimentais**

**Técnicas de
Detecção**



— **4** —

Resultados

Considerações

Agradecimentos





Fonte: Revista em Foco – Biocombustíveis/Maio-2012

“Nos dias atuais é inegável a necessidade do uso da **inovação tecnológica** como meio gerador de mudanças. Contudo este desenvolvimento ocasiona um impacto fortíssimo visto através da degradação do meio ambiente. Portanto, faz-se necessário pensar em uma inovação tecnológica que promova o respeito a um meio ambiente saudável, haja vista ser um direito de todos” *Eliane A. de Oliveira.*

Mas afinal, quais os fatores que podem estar gerando tais degradações ?

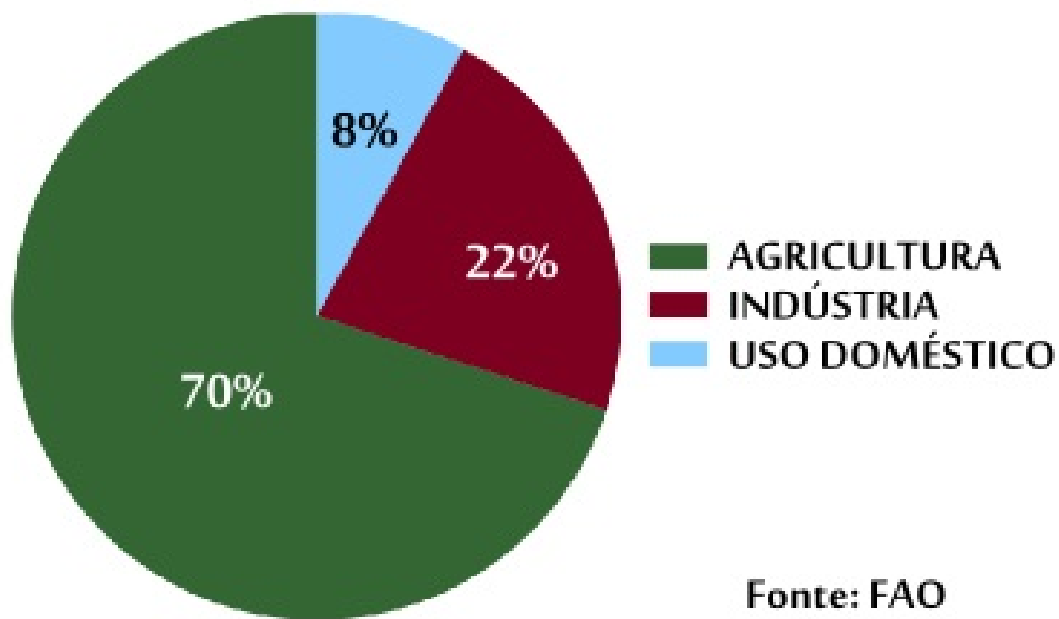


Casos de Contaminação



DISTRIBUIÇÃO DA ÁGUA NO MUNDO

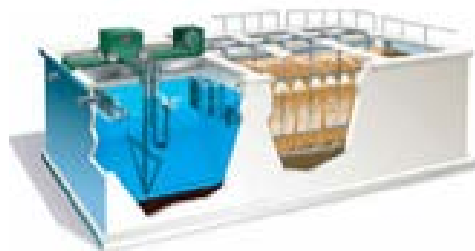
USO DA ÁGUA POR SETORES



Fonte: [1]Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.4, n.3, p.465-473, 2015 Campina Grande, PB, DEAg/UFPB



A intensa **exploração ambiental** associada ao crescimento da população desordenada tem permitido o aumento de inúmeros poluentes nos corpos de água, incluindo reservatórios de provisionamento. Os poluentes que foram encontrados como sede ambiental são os **interferentes endócrinos** (IEs) que são definidos como substâncias com capacidade para interferir no sistema endócrino, gerando alterações na síntese, secreção e metabolismo



[4] Ghiselli, G; Jardim, W.F. Interferentes Endócrinos no Ambiente. Química Nova 30, 3 (2007), 695-706.



1 Microgramas = 0.000001 Gramas

1 Microgramas = 1.0×10^{-6} Gramas



SINQUISP

Substância	CAS Nº	Solo (mg kg ⁻¹ peso seco)					Águas Subterrâneas (µg L ⁻¹)
		Valor de Referência Qualidade	Valor de Prevenção	Valor de Intervenção (VI)			
		(VRQ)	(VP)	Agrícola	Residencial	Industrial	VI

São para

HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Antraceno	120-12-7	-	0,3	2300	4600	10000 ^(a)	900
Benzo(a)antraceno	56-55-3	-	0,2	1,6	7	22	0,4
benzo(b)fluoranteno	205-99-2	-	0,7	2	7,2	25	0,4
Benzo(k)fluoranteno	207-08-9	-	0,8	27	75	240	4,1
Benzo(g,h,i)perileno ⁽³⁾	191-24-2	-	0,5	-	-	-	-
Benzo(a)pireno	50-32-8	-	0,1	0,2	0,8	2,7	0,7
Criseno	218-01-9	-	1,6	95	600	1600	41
Dibenz(a,h)antraceno	53-78-5	-	0,2	0,2	0,2	0,2	0,04

Valor de Alerta (

limite para ur
simplificada que
necessidade de
mais detalhada na

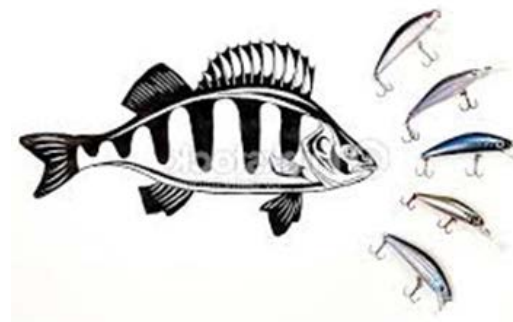
BENZENOS CLORADOS

Clorobenzeno (Mono)	108-90-7	-	0,3	1,6	1,3	8,3	120
1,2-Diclorobenzeno	95-50-1	-	0,7	9,2	11	84	1000
1,3-Diclorobenzeno ⁽³⁾	541-73-1	-	0,4	-	-	-	-
1,4-Diclorobenzeno	106-46-7	-	0,1	0,3	0,6	2,1	300
1,2,3-Triclorobenzeno	87-61-6	-	0,01	0,4	1,1	6,1	20 ^(b)
1,2,4-Triclorobenzeno	120-82-1	-	0,01	0,4	1	8,4	
1,3,5 Triclorobenzeno ⁽³⁾	108-70-3	-	0,5	-	-	-	
1,2,3,4- Tetraclorobenzeno ⁽³⁾	634-66-2	-	0,003	-	-	-	-
1,2,3,5- Tetraclorobenzeno ⁽³⁾	634-90-2	-	0,006	-	-	-	-
1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	95-94-3	-	0,01	0,3	0,6	3,6	1,8
Hexaclorobenzeno	118-74-1	-	0,02	0,2	1,3	3,4	0,2

são
orie



A **água** é um recurso fundamental para a vida na Terra e apesar da sua importância, sua qualidade e quantidade têm sido comprometidas pelas atividades humanas. Há um crescente **lançamento de poluentes nas águas superficiais**, incluindo reservatórios de abastecimento, por meio do despejo irregular de efluentes domésticos e industriais.





no plan

O Brasil tem a maior reserva de água doce

Os **disruptores**

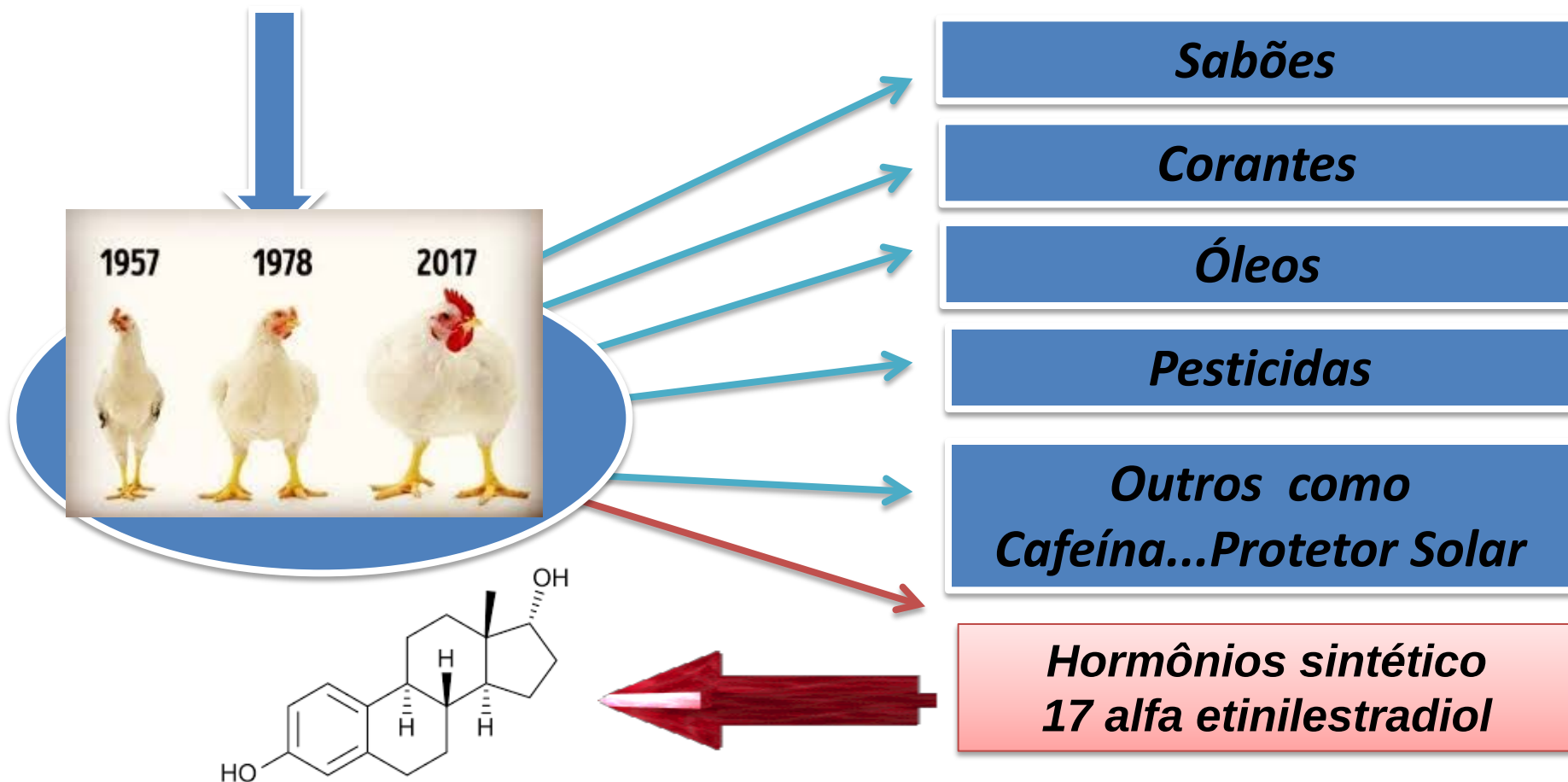
presentes no ambiente q
promovendo mudanças
hormonais de um organis



[2] BROCENSCHI, R.F. **Determinação e degradação eletroquímica do estrogênio natural estrona usando anodos de diamante dopado com boro.** São Carlos, 2013, 223 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, 2013.

O desenvolvimento de **novas metodologias como as eletroanalíticas** para

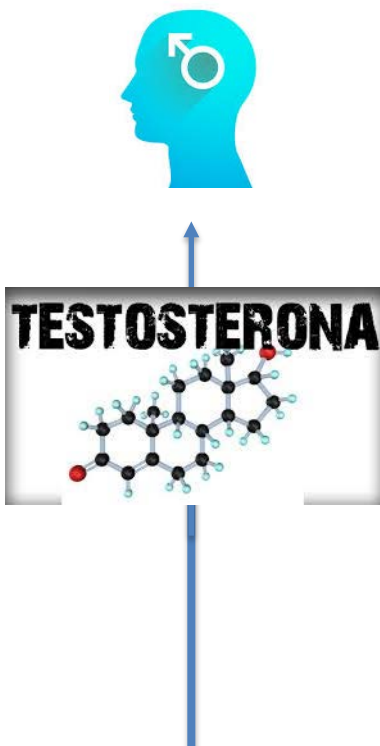
a determinação de substâncias contaminantes para o meio ambiente é importante.



[3] Perez, Caroline ; Simões, Fábio Ruiz ; Codognoto, Lúcia . Voltammetric determination of 17α-ethinylestradiol hormone in supply dam using BDD electrode. Journal of Solid State Electrochemistry (Print) , v. 20, p. 2471-2478, 2016.



No entanto, o organismo de um adulto do **sexo masculino produz cerca de 20 a 30 vezes** mais que o feminino.

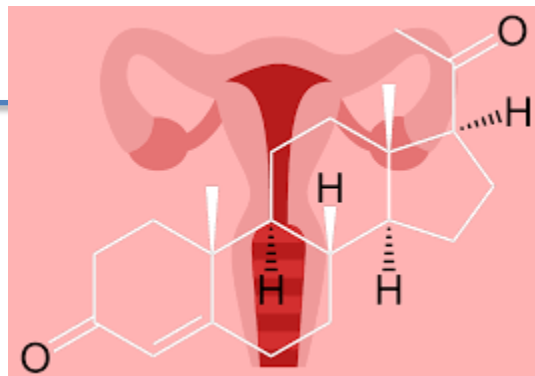


A testosterona é o **hormônio esteroide masculino** produzido pelos testículos e em pequenas quantidades pelas glândulas suprarrenais.

Exemplo de Estrogênios sintéticos são os **esteroides**.



Progesterona

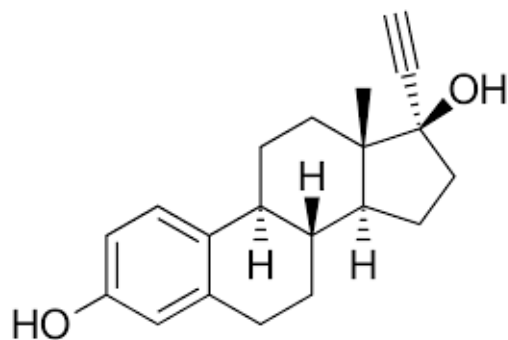


A **progesterona** atua no útero durante a gravidez para permitir que o embrião se instale e se desenvolva no útero.

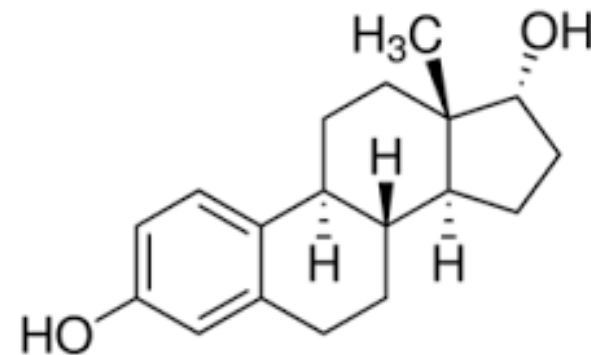
Parte dos métodos contraceptivos hormonais, como o medicamento, **inibe a produção** de progesterona, impedindo que o período fértil (**Ovulação**) tenha início.



Essa classe de compostos é objeto de estudo desde o século passado, no entanto, ainda há muitas incertezas sobre os seus efeitos no meio ambiente e no organismo de seres humanos, animais e vegetais. São **substâncias extremamente danosas** a qualidade da água e a biota, portanto, necessitam de técnicas que sejam eficazes tanto na sua detecção como na sua remoção das matrizes ambientais (ALMEIDA, 2007; GEROLIN, 2008).



17 α -etinilestradiol



17 β -estradiol



17 alfa Etinilestradiol – EE2

17alfa etinilestradiol é um **hormônio sintético** ativo presente na formulação de contraceptivos utilizados por uma grande quantidade da população feminina.

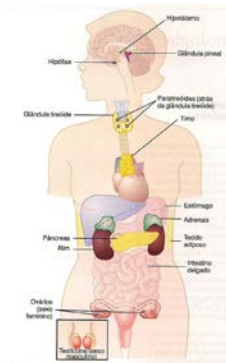
17alfa etinilestradiol



Efeitos:

- Possuem **baixo grau** de solubilidade na água;
- Solubilidade de 4,8 mg/L a 20°C.
- Massa Molecular de 296 g mol⁻¹.
- São compostos com tendência para adsorção em sedimentos e partículas de solo [alto coeficiente de repartição octanol / água - (Kow) 4,15].

Kow é uma medida que define a hidrofobicidade de um composto orgânico



[5] RAIMUNDO, C.C.M. **Contaminantes Emergente em água tratada e seus Mananciais: Sazonalidade, remoção e atividade estrogênica**. Campinas, 2011, 202 p. Tese (Doutorado). Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 2011.



Estudos de Detecção do hormônio 17 alfa etinilestradiol em Águas Naturais



A análises de resíduos como **fármacos** **por exemplo**, nos mais diferentes meios, é tradicionalmente realizada por técnica de cromatografia.

As *Técnicas Analíticas* padrão para a **detecção de pesticidas** são:

Cromatográficas

Cromatografia
Líquida de Alta
eficiência
HPLC

Cromatografia
Gasosa e
Cromatografia de
Camada Delgada



Óleo



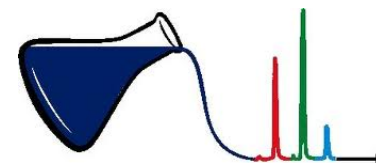
Alimentos



Águas Superficiais/Subterrâneas



Solo



Outros



[6] Garbellini, G. S.; Avaca, L. A.; Salazar-Banda, G. R., Ultrasound Potentialities on the Determination of the Pesticide Carbaryl Using Diamond Electrodes. *Quim Nova* 2010, 33 (10), 2261-2265.

Técnicas Eletroanalíticas

Mesmos que sejam necessárias algumas separações prévias



Menor Custo

Menor Tempo

Mais simplificadas

Voltametria de Onda Quadrada



Em geral, as técnicas eletroanalíticas relacionam medidas de quantidades elétricas, tais como: **corrente**, **potencial** e **carga**, com **parâmetros químicos** [7-8].

[7] Pleskov, Y.V.; *Electrochemistry of diamond: a Review. Russian Journal of Electrochemistry* **2002**; v.38, 1411 -1429.

[8] Codognoto, L.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A., Square wave voltammetry on boron-doped diamond electrodes for analytical determinations. *Diam Relat Mater* 2002, **11**.



Técnicas Eletroanalíticas



Físico-Química SINQUISP

Química Ambiental/

Agricultura

Entre outras...

Oferecem:

- ✓ Altos limites de detecção.
- ✓ Instrumentação relativamente barata.

Oferece maior **rapidez** de análise e **baixo custo** da instrumentação em relação a outras técnicas.

A técnica consiste na possibilidade da medida ser realizada **diretamente** na amostra sem a necessidade de etapas de **tratamento** de amostras.

Voltametria de Onda Quadrada:

Pertence a um conjunto de técnicas voltamétricas de análises denominada de **eletroanalíticas**.





Estudos da **detecção** do hormônio 17alfa-etinilestradiol em diferentes eletrólitos usando DDB como um eletrodo de trabalho.

Pré-tratamento - Estudos sobre diferentes eletrólitos:

- Ácido sulfúrico ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$)
- Urina Sintética ($\text{pH}=6.0$)
- Tampão Briton Robson (BR) ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$)



Para todos os experimentos, foram utilizadas células eletroquímicas convencionais constituídas de **três** eletrodos.

Contra-eletrodo de **Platina** com área geométrica com cerca de 2 cm^2 .

Eletrodo de Trabalho : de **Diamante Dopado com Boro (DDB)** com $0,3 \text{ cm}^2$ de área geométrica.

Eletrodo de Referência de: **Ag/AgCl** (KCl saturado)

Eletrólito de Suporte

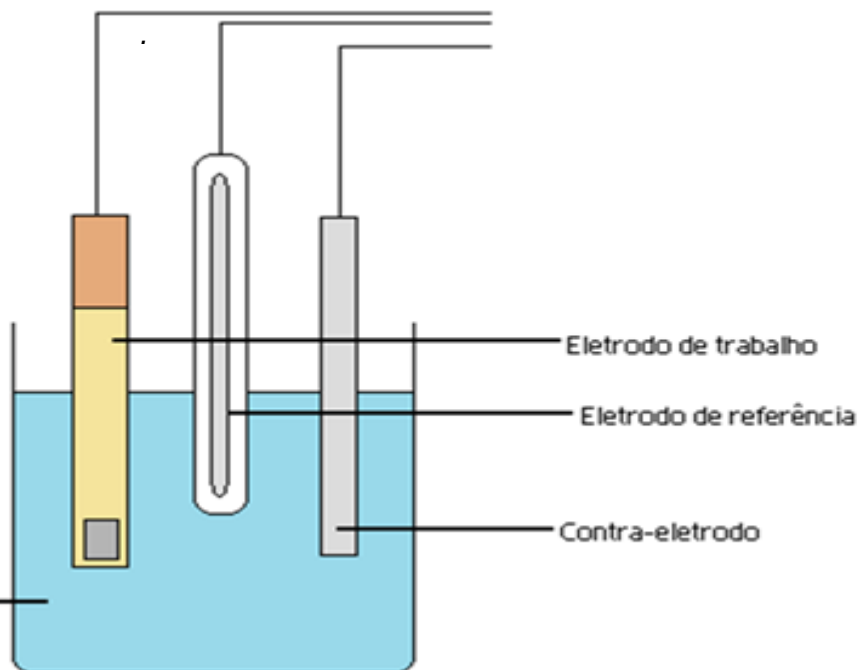
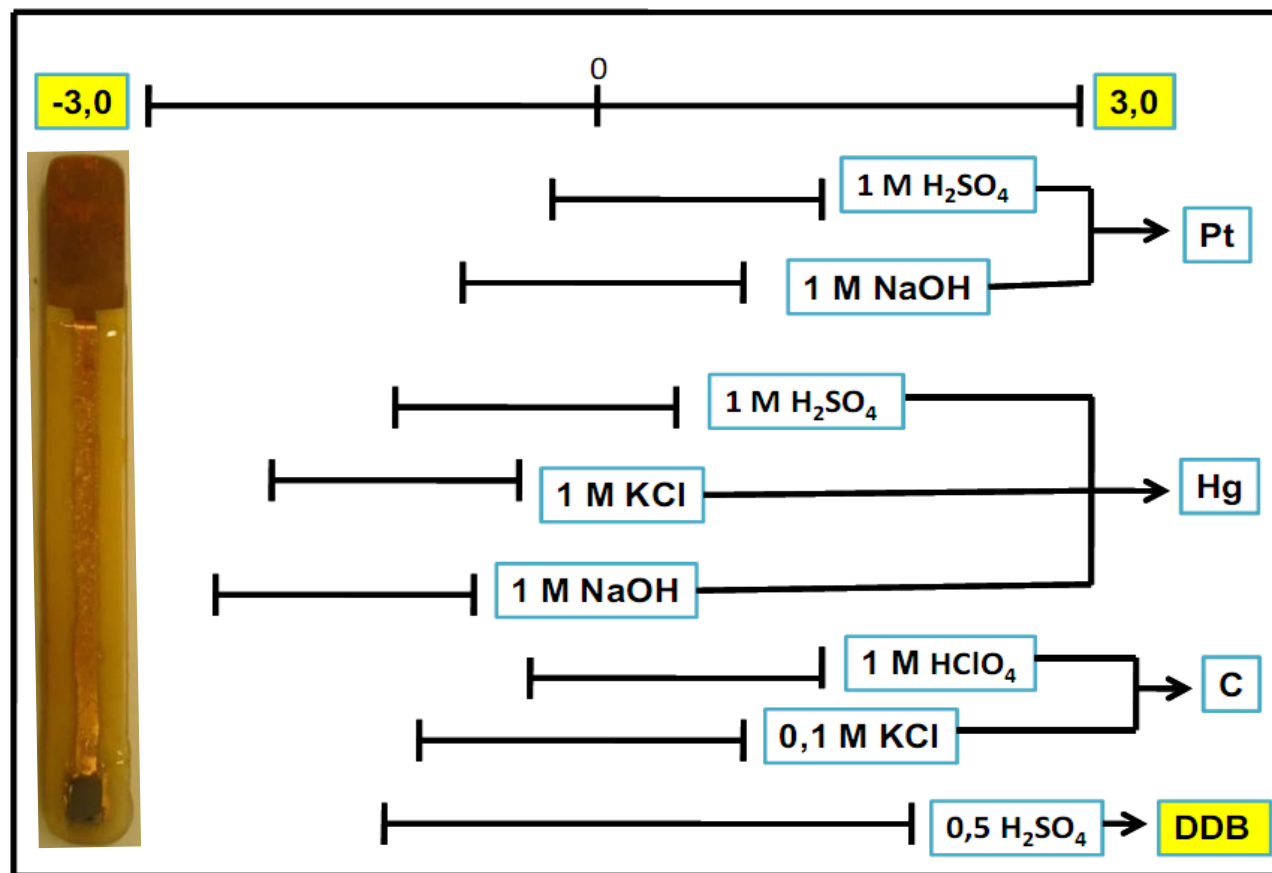


Figura 1 – Representação esquemática da célula eletroquímica utilizada em todos os estudos realizados

Eletrodo de Diamante

DDB



Eletrodos de diamante dopado com boro, são ferramentas eletroquímicas bastante versáteis que vem sendo utilizadas nas mais variadas aplicações, destacando-se a eletroanalítica.

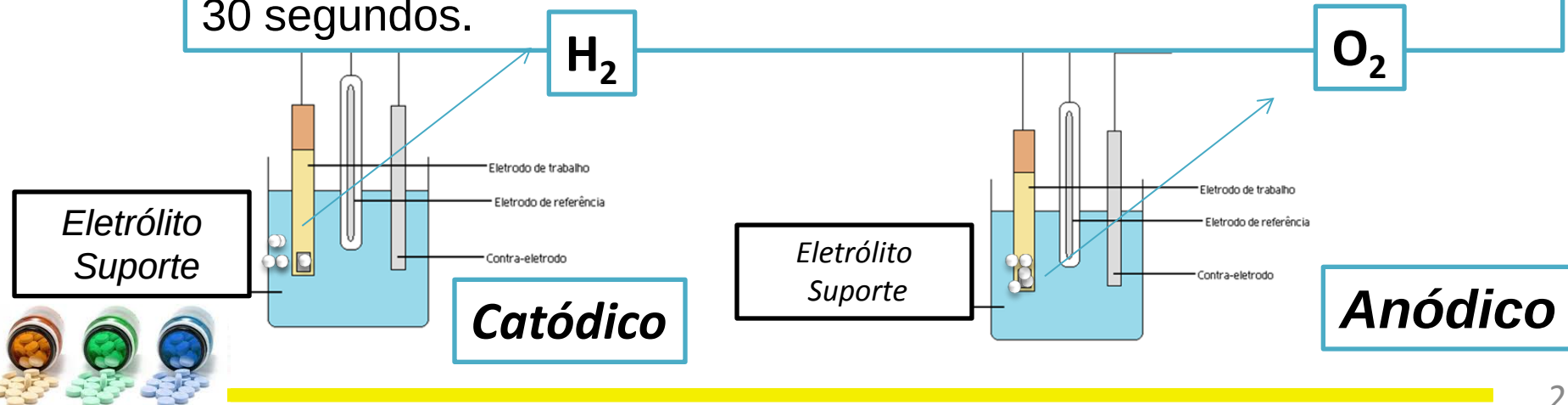
Vantagens
como uma *maior janela* de potencial permitem uma ampla aplicação frente a outros metais também muito utilizados.

Antes de todos os experimentos, o eletrodo de diamante deve sofrer uma limpeza eletroquímica por meio de tratamento **anódico** e **catódico**.

→ **Anódico** – Aplicando-se potenciais positivos de **3.0V** cerca de 30 segundos.

→ **É feita a troca da solução**

→ **Catódico** – Aplicando-se potenciais negativos de **-3.0V** cerca de 30 segundos.

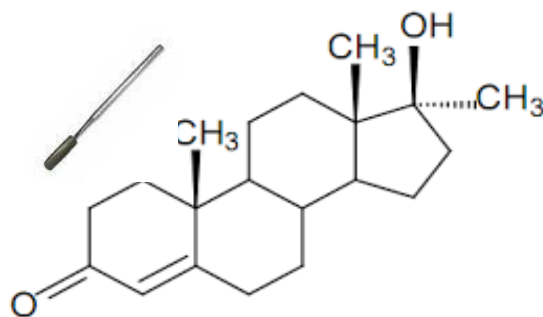


Inicialmente preparou-se uma amostra contendo **acetonitrila** em presença de **17 alfa etinilestradiol** de concentração de **$1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$**



Acetonitrila

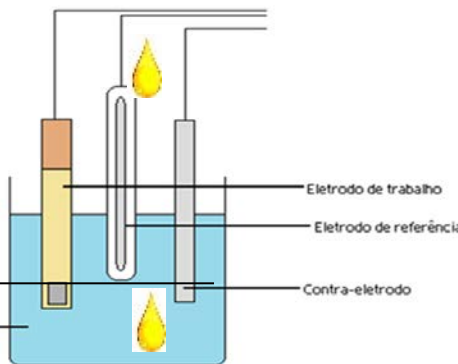
(17 alfa)



H_2SO_4 0,5 mol.L⁻¹

Tampão BR 0,1 mol.L⁻¹

Urina Sintética



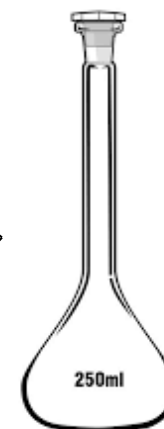
A solução foi agitada para permitir a homogeneização do sistema e transferiu-se diferentes alíquotas para a célula eletroquímica que continha **50 ml** de solução como eletrólito de suporte.



Composição – Urina Sintética



NaCl	0.73 g
KCl	0.40 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.27 g
Na_2SO_4	0.56 g
KH_2PO_4	0.35 g
NH_4Cl	0.25 g
$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2$	6.25 g



[10] SILVA, LAÍS PEREIRA ; LOURENCAO, BRUNA C. ; FATIBELLO-FILHO, ORLANDO . **SIMULTANEOUS VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF AMLODIPINE BESYLATE AND HYDROCHLOROTHIAZIDE IN SYNTHETIC URINE SAMPLES USING A BORON-DOPED DIAMOND ELECTRODE.** Química Nova (Impresso), v. 38, p. 801-806, 2015.



Voltametria de Onda Quadrada do eletrodo de diamante dopado com boro em meio ácido

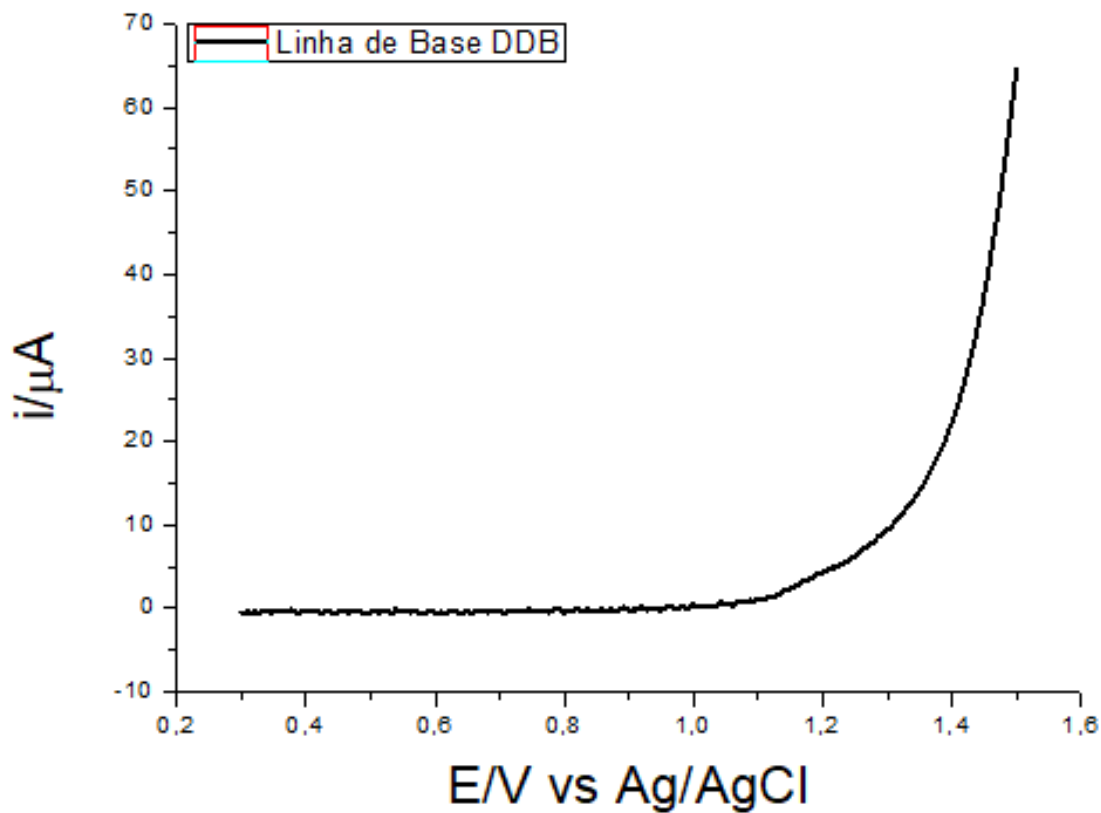


Figura 2- Voltamograma de Onda Quadrada para o eletrodo de diamante dopado com boro em ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹.



Detecção de 17 alfa em H_2SO_4 0,5 mol.L⁻¹ Diferentes Adições

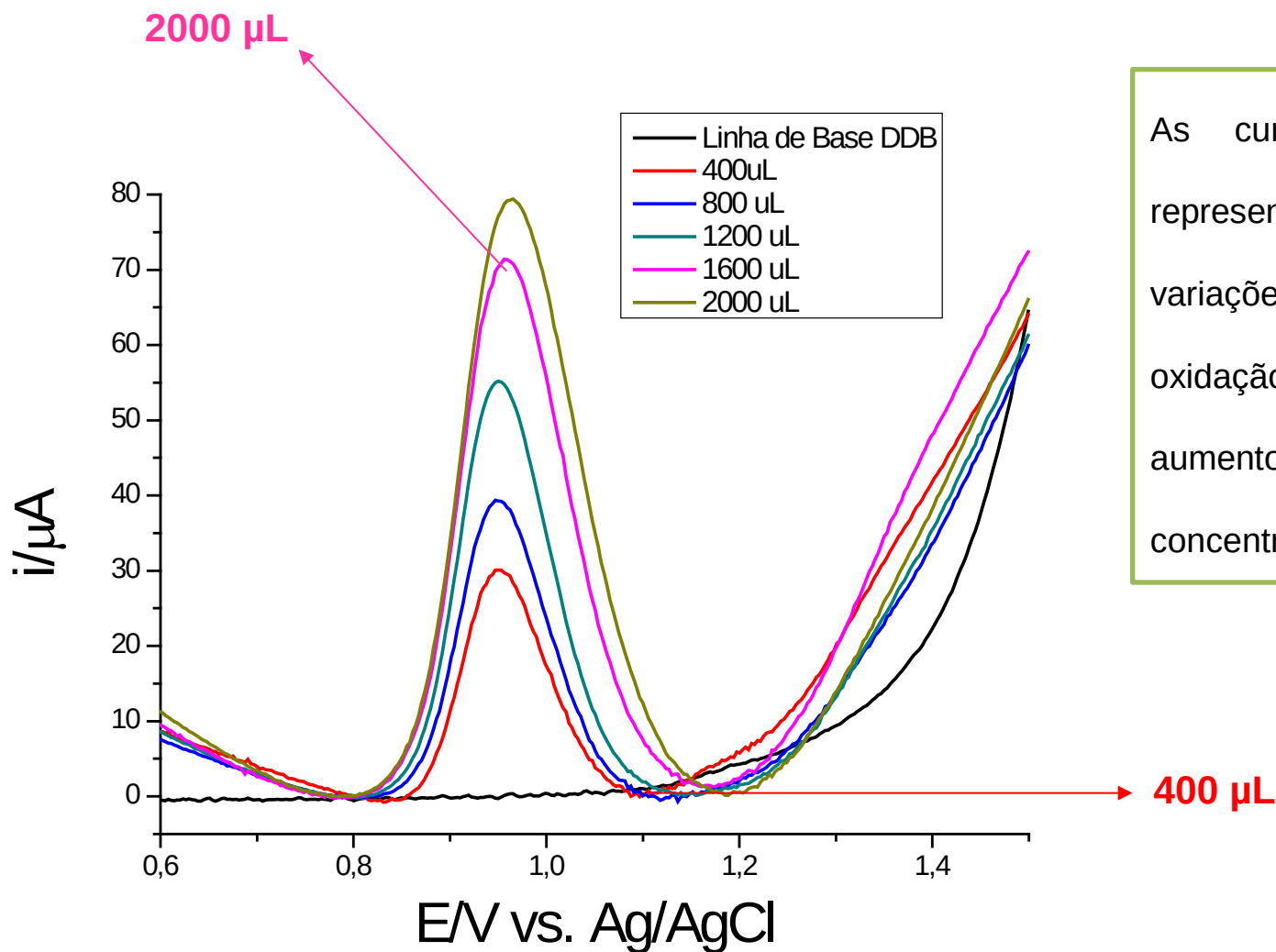


Figura 3 - Voltamogramas de onda quadrada realizados utilizando o eletrodo de DDB. As respostas obtidas representam as variações do pico de oxidação contendo 17 alfa etinilestradiol com ácido Sulfúrico 0,5 mol. L⁻¹. Parâmetros: a = 30mV, $\Delta E = 3\text{mV}$ e $f = 10\text{ s}^{-1}$.



Detecção de 17 alfa em H_2SO_4 0,5 mol.L⁻¹ Avaliação da Frequência de Varredura

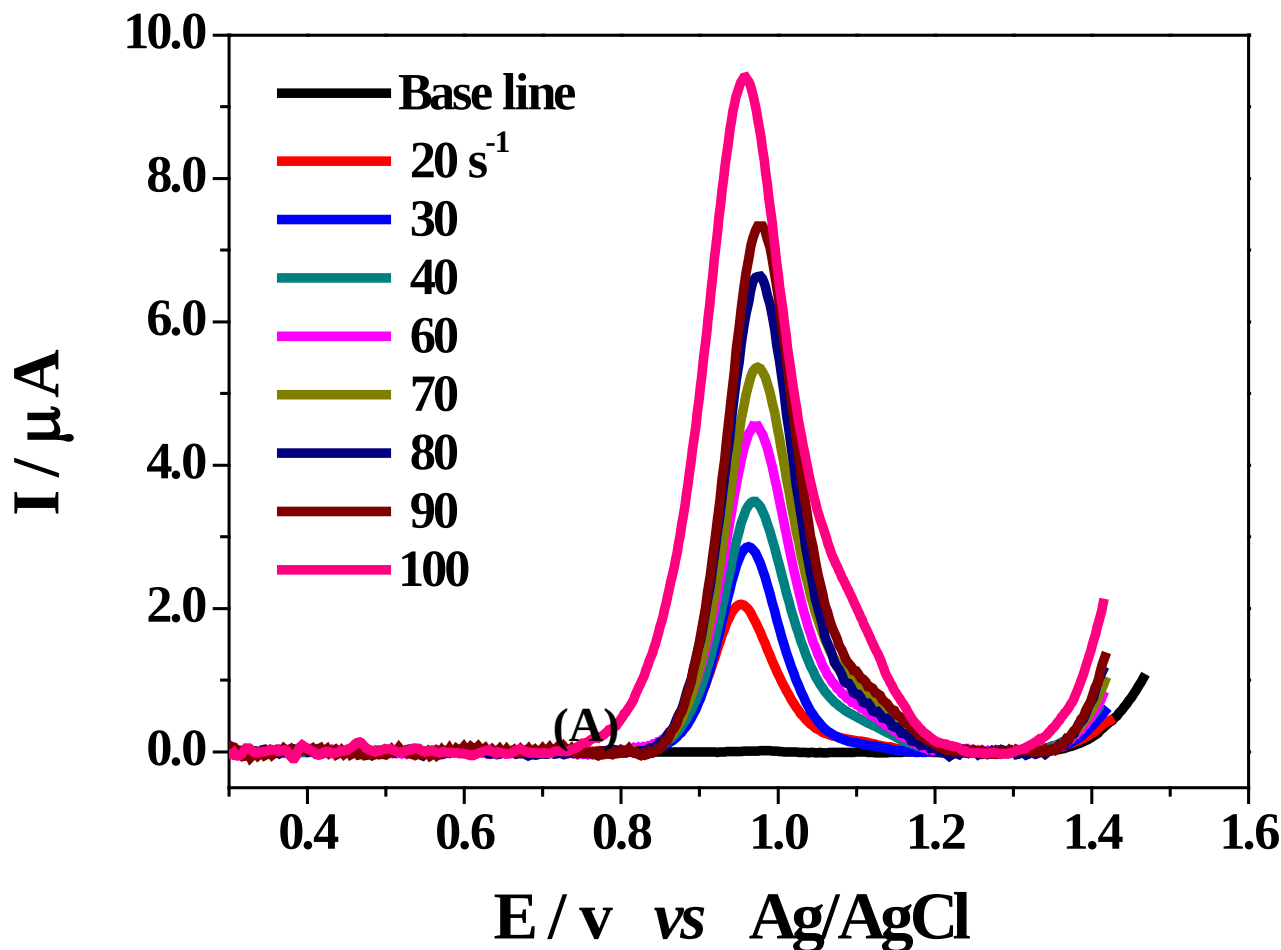


Figura 4 - Voltamograma de onda quadrada realizado utilizando o eletrodo de DDB. As respostas obtidas representam as variações do pico de oxidação contendo 17 alfa etinilestradiol com ácido Sulfúrico 0,5 mol/L. Parâmetros: a = 30mV, ΔE = 3mV



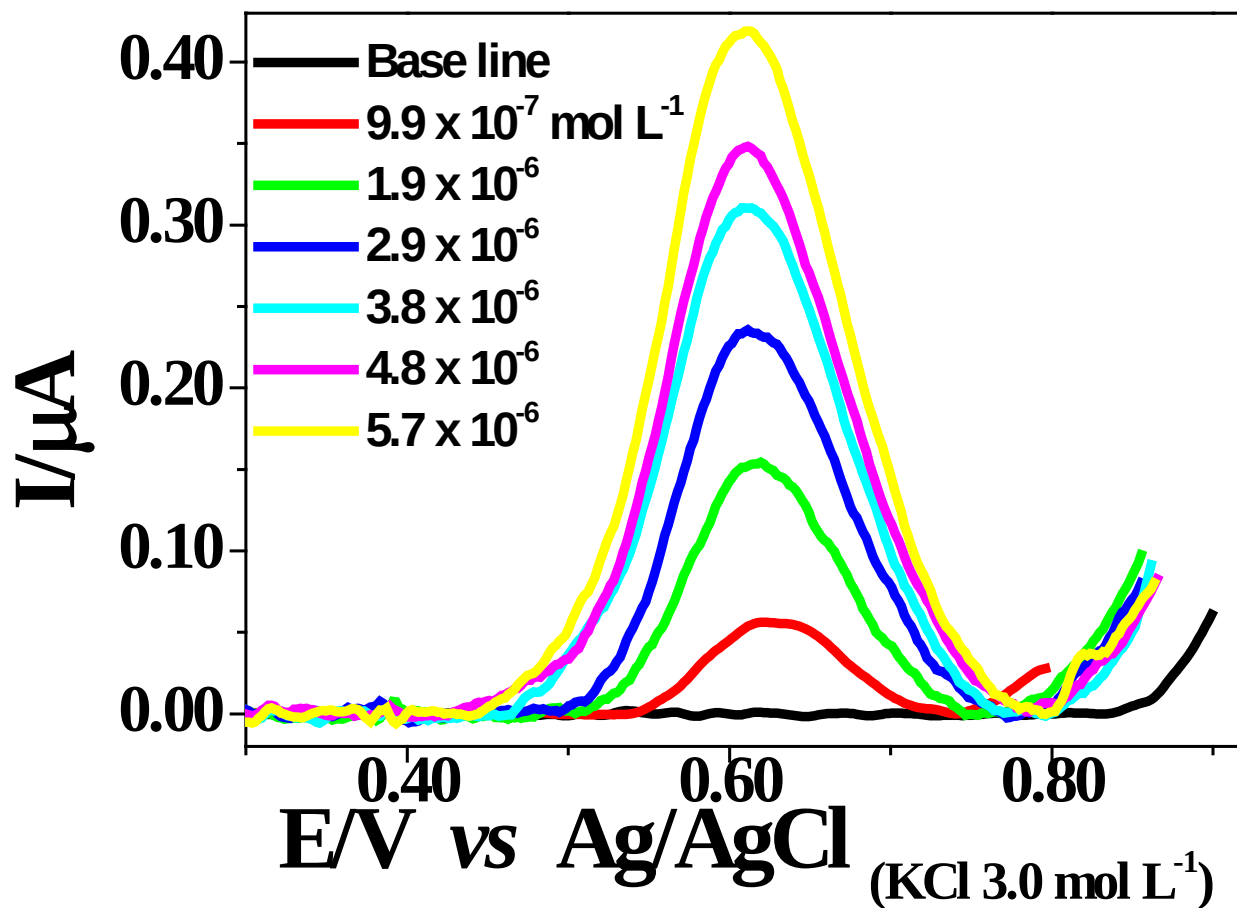


Figura 5: Voltamogramas VOQ em função da concentração para EE2 ($f = 100$ Hz, $a = 60$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV (tampão BR 0,1 mol) L⁻¹, pH 7,0);



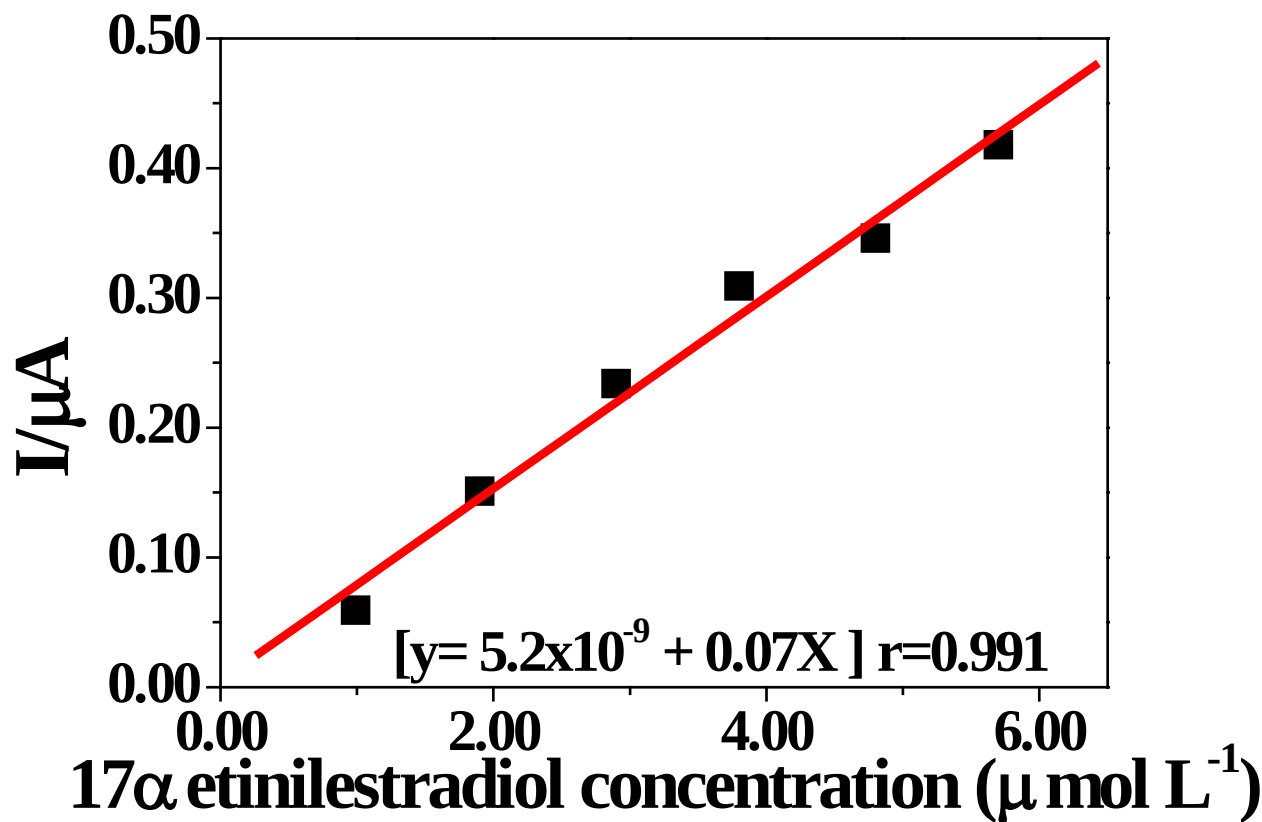


Figura 6: Dependência da corrente de pico de concentração para 17α -etinilestradiol.



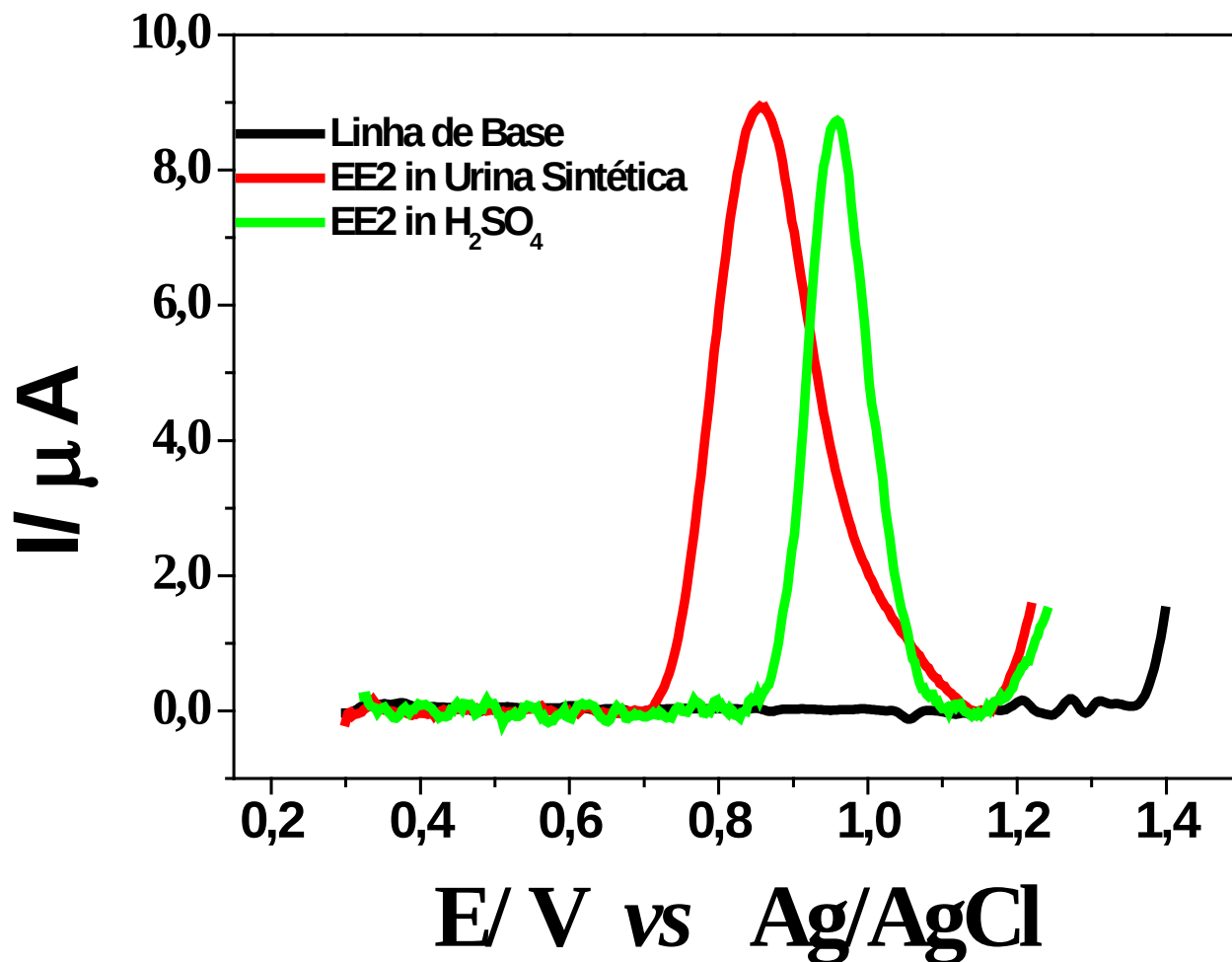


Figura 7 – Voltamogramas de onda quadrada obtidos para EE2 em urina sintética, e EE2 in H_2SO_4 . (concentração $8.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$; $f = 100 \text{ s}^{-1}$).



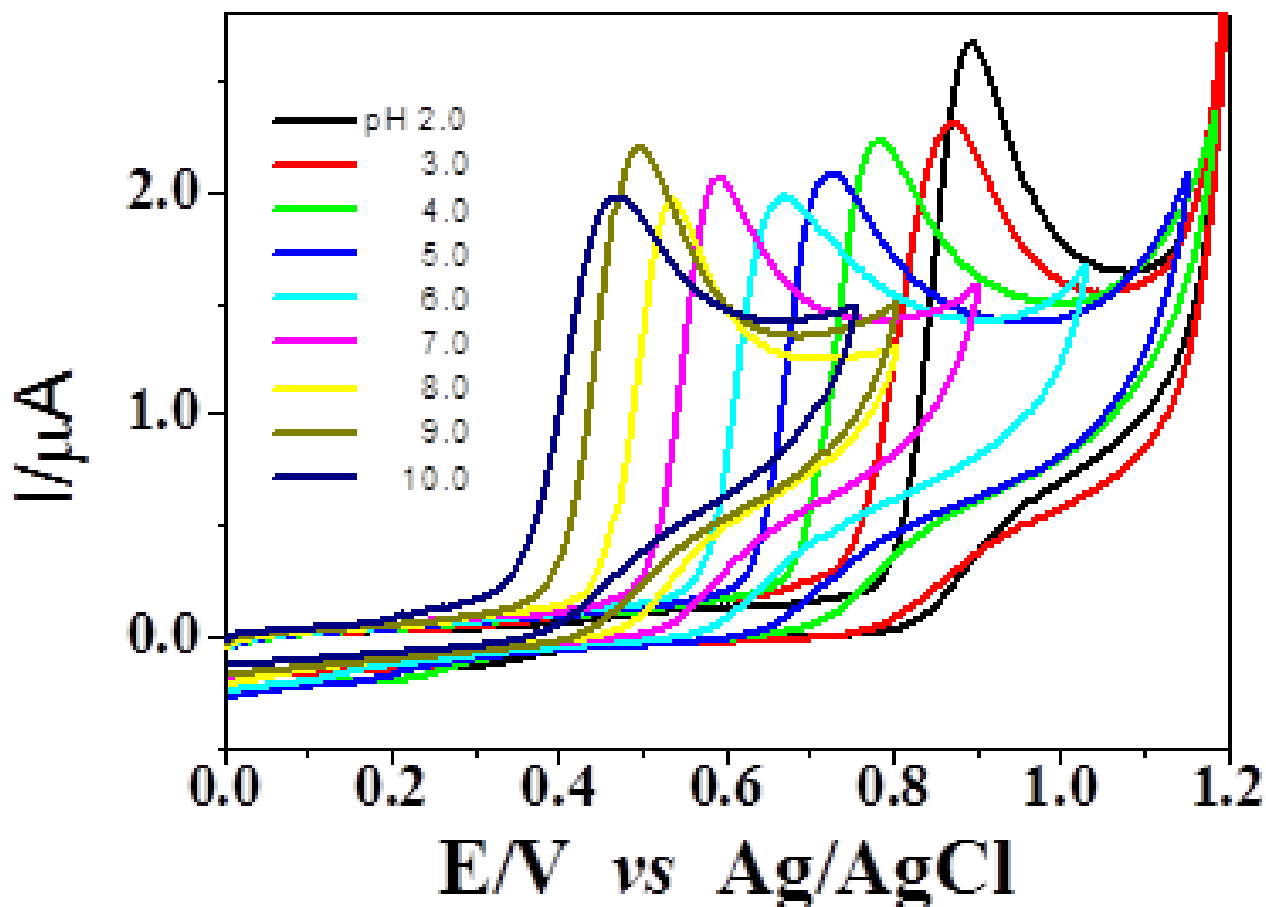


Figura 8 - (A) Voltamograma de onda quadrada para 17 α -etinilestradiol ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$) em função do pH (tampão BR 0,1 mol L $^{-1}$, $f = 100$ Hz, $a = 50$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV).

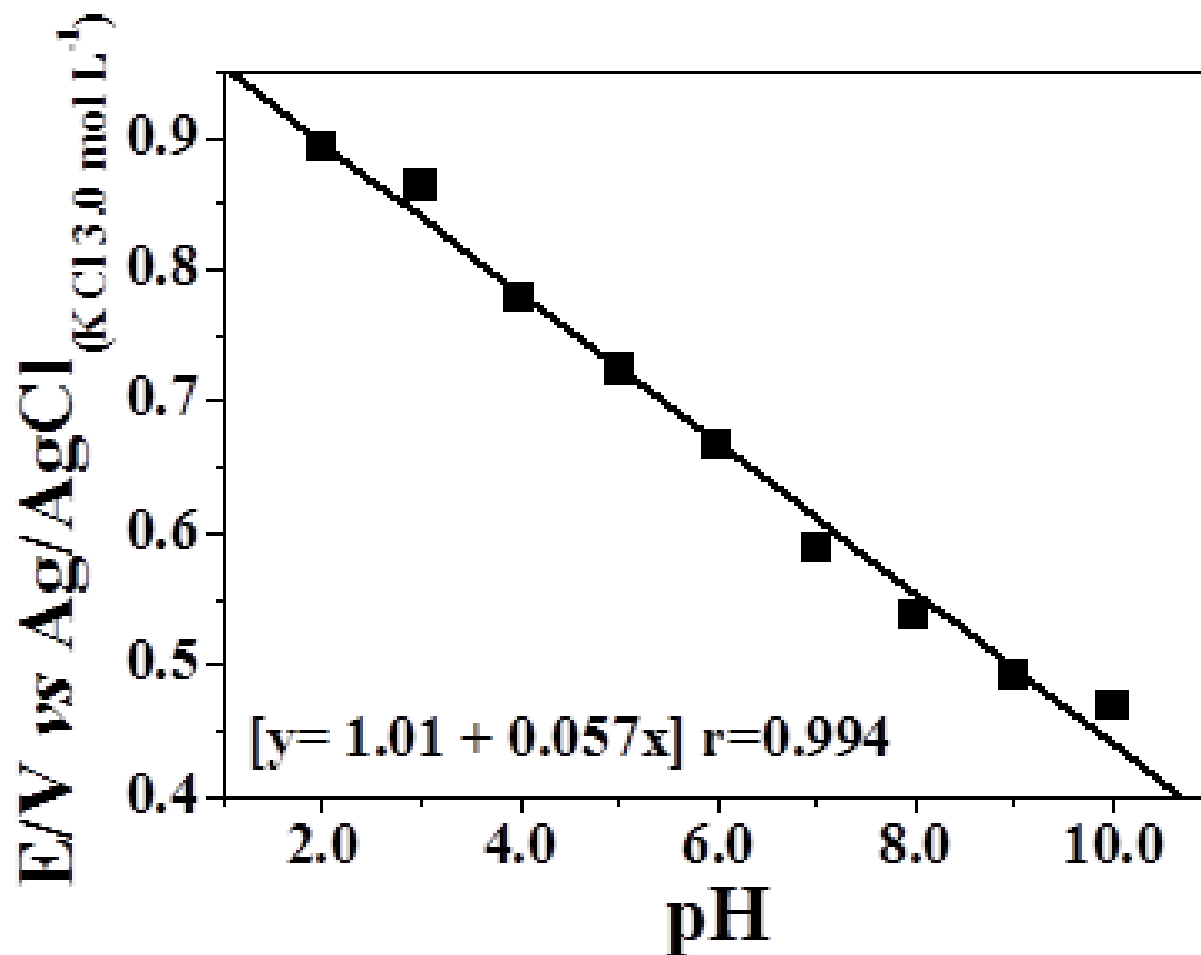


Figura 9 - Mudança potencial com pH para 17 α -etinilestradiol.



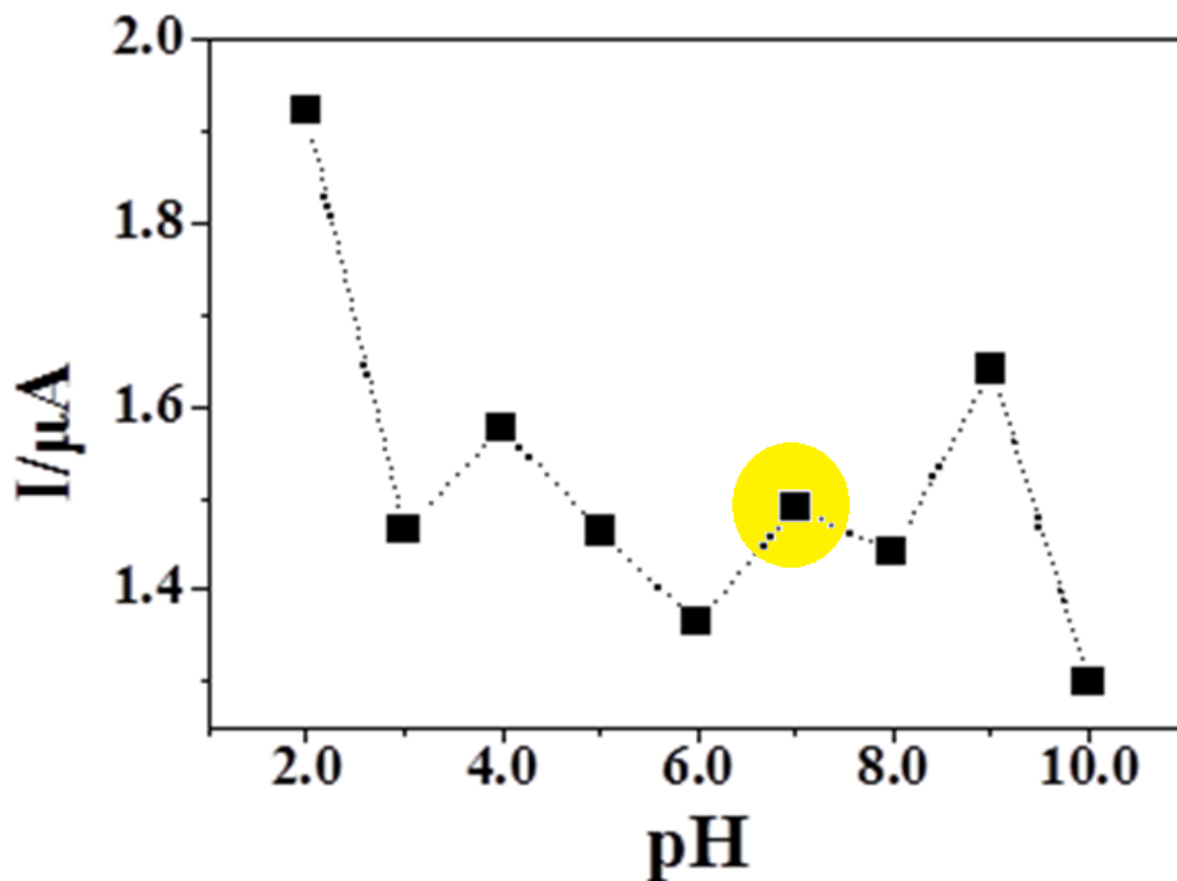


Figura 10 - Dependência das correntes de pico versus pH (tampão BR 0,1 mol L⁻¹, $f = 100$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 2$ mV).



- ❑ O presente trabalho teve como objetivo a aplicação de **técnicas eletroanalíticas** para a detecção de hormônio 17 α -etinilestradiol em urina sintética , ácido sulfúrico (H₂SO₄) e Tampão BR. Os resultados mostram que foi possível detectar este composto em torno da concentração de **$\mu \text{ mol.L}^{-1}$** em ambos os eletrólitos de suporte, o que permitiu a **criação de linhas de concentração para estudo posterior em águas naturais**.
- ❑ Para isso, será necessário adaptar a técnica aplicada neste trabalho para realizar estudos com amostras de água, avaliando também se é possível detectar o hormônio em concentrações inferiores a **$1,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$** .
- ❑ A técnica desenvolvida neste trabalho permitiu a detecção de 17 α -etinilestradiol do hormônio proposto, que pode dar subsídio ao estudo e desenvolvimento de técnicas eficientes para **remover (POA's)** este composto de esgoto e água. O que contribuirá para uma gestão mais eficiente e adequada do problema da contaminação dos reservatórios de abastecimento por disruptores endócrinos.



Próximos
passos

- 1 Avançar os estudos de detecção de hormônios em águas naturais
- 2 Estudos de degradação hormonal em urina e águas naturais.
- 3 Padronização e Detecção de Hormônios na normalização do Ácido Sulfúrico e Detecção de Hormonas em Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) e Urina Sintética.
- 4 Validação da metodologia e Estudos de Degradação (POA's)



Agradecimentos



SINQUISP



Universidade Federal do ABC



1933



(2015/10314-8)

(150532/2016-4)



CÂMARA TÉCNICA DE MEIO AMBIENTE
E MUDANÇAS CLIMÁTICAS ABES-SP



contaminação Meio
ambiente etinilestradiol
recursos Hormônios alfa hídricos
água

 marlon.cmaynart@sp.senac.br

