



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

JULYENNE MENEGHETTI CAMPOS

***CONSTRUCTED WETLANDS NA RETENÇÃO DE
INTERFERENTES ENDÓCRINOS PRESENTES EM ÁGUAS
RESIDUÁRIAS***

CAMPINAS
2018

JULYENNE MENEGHETTI CAMPOS

***CONSTRUCTED WETLANDS* NA RETENÇÃO DE
INTERFERENTES ENDÓCRINOS PRESENTES EM ÁGUAS
RESIDUÁRIAS**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Agrícola, na área de Água e Solo.

Orientador: Prof. Dr. Denis Miguel Roston

Coorientadora: Dr.^a Sonia Cláudia do Nascimento de Queiroz

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA JULYENNE MENEGHETTI CAMPOS, E ORIENTADA PELO PROF. DR. DENIS MIGUEL ROSTON.

CAMPINAS
2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 149364/2014-8; CAPES
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3532-6396>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

C157c Campos, Julyenne Meneghetti, 1985-
Constructed wetlands na retenção de interferentes endócrinos presentes em águas residuárias / Julyenne Meneghetti Campos. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Denis Miguel Roston.

Coorientador: Sonia Claudia do Nascimento de Queiroz.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola.

1. Leitões cultivados. 2. Bisfenol A. 3. Etinilestradiol. 4. Levonorgestrel. 5. Macrófitas. I. Roston, Denis Miguel, 1951-. II. Queiroz, Sonia Claudia do Nascimento de. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Agrícola. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Retention of endocrine disruptors present in wastewater using *constructed wetlands*

Palavras-chave em inglês:

Constructed wetlands

Bisphenol A

Ethinylestradiol

Levonorgestrel

Macrophytes

Área de concentração: Água e Solo

Titulação: Doutora em Engenharia Agrícola

Banca examinadora:

Denis Miguel Roston [Orientador]

Ariovaldo José da Silva

Marcelus Alexander Acorinte Valentim

Ronaldo Stefanutti

José Euclides Stipp Paterniani

Data de defesa: 25-05-2018

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Agrícola

Este exemplar corresponde à redação final da **Tese de Doutorado** defendida por **Julyenne Meneghetti Campos**, aprovada pela Comissão Julgadora em **25 de Maio de 2018**, na Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas.

FEAGRI

Prof. Dr. Denis Miguel Roston – Presidente e Orientador
FEAGRI/UNICAMP

Prof. Dr. Ariovaldo José da Silva – Membro Titular
FEAGRI/UNICAMP

Prof. Dr. Marcelus Alexander Acorinte Valentiim – Membro Titular
FATEC/Guarulhos

Faculdade de

Ronaldo Stefanutti – Membro Titular
UFC/Ceará

Engenharia Agrícola

José Euclides Stipp Paterniani – Membro Titular
FEAGRI/UNICAMP

Unicamp

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do discente.

À minha avó Irma Meneghetti de Campos (in memoriam) que sempre acreditou em mim e no meu potencial, sempre torceu por mim e nunca duvidou do meu caráter e da minha capacidade nem por um segundo; que sempre me apoiou, cuidou e me amou incondicionalmente, com eterna saudade...

DEDICO!

À minha mãe Eliete e ao meu noivo Thiago, por todo amor, ajuda, apoio, compreensão e paciência proporcionados à mim durante a realização deste trabalho...sem vocês não teria conseguido...

OFEREÇO!

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos processo 149364/2014-8, e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos de 07/2014 à 09/2015.

À Universidade Estadual de Campinas e à Faculdade de Engenharia Agrícola, pela possibilidade de realização do doutorado.

Agradeço à Universidad de Jaén pelo apoio acadêmico e disponibilização dos laboratórios, e também por toda ajuda nos trâmites burocráticos.

Ao Programa Fórmula de Bolsa de Mobilidade Internacional, do Santander Universidades (Edital VRERI 105/2015) pela bolsa concedida para a realização de um estágio na Universidad de Jaén (Jaén, España).

À Deus e Nossa Senhora Maria Desatadora dos Nós por todas bênçãos concedidas durante toda minha vida, e realização deste doutorado.

*Também agradeço à Deus por ter colocado no meu caminho os três melhores orientadores que eu poderia ter tido na vida: **Prof. Dr. Denis M. Roston** (orientador), **Dr.ª Sônia C. N. de Queiroz** (Coorientadora) e **Prof.ª Dr.ª María Victória L. Ramón** (orientadora do estágio no exterior). Com certeza minha jornada durante o doutorado foi muito mais calma e proveitosa tendo vocês três como orientadores, admiro muito vocês e com certeza serão sempre minha inspiração e exemplos de bons profissionais e orientadores, para quando eu for professora e tiver orientados. Meu muito obrigada a vocês três!*

*Agradeço ao **Prof. Dr. Denis Miguel Roston** pela oportunidade de realização do doutorado sob sua orientação, por toda ajuda, pelos ensinamentos, apoio, paciência, calma transmitida, conversas, amizade, e por sempre estar disposto a me atender e me ajudar quando eu precisei.*

*Agradeço à **Dr.ª Sonia Claudia do Nascimento de Queiroz** pelo acolhimento no Laboratório de Resíduos e Contaminantes na Embrapa Meio Ambiente, pela orientação, ensinamentos, apoio, infinita paciência com os cálculos de concentração...rs, conversas, amizade, e também por estar sempre disposta a me atender e me ajudar quando precisei.*

*Agradezco a la **Prof.ª Dr.ª María Victória López Ramón** por la acogida en el Laboratorio de Química Orgánica y Inorgánica en la Universidad de Jaén, por la oportunidad de realización de la estancia de investigación, por toda la orientación y enseñanzas, por toda paciencia y amistad. Muchas gracias por continuar quitando mis dudas aún un año después que terminó mi estancia, y por las correcciones en el capítulo de carbón de mi tesis.*

*Agradeço à disponibilidade, dicas, sugestões e ensinamentos dos professores **Ariovaldo José da Silva** e **José Roberto Guimarães** de participarem da minha banca de qualificação. Agradeço aos professores **Ariovaldo José da Silva**, **José Euclides Stipp Paterniani**, **Marcelus Alexander Acorinte Valentim** e **Ronaldo Stefanutti** pela disponibilidade, dicas, sugestões e ensinamentos ao participarem da minha banca de defesa de tese.*

*À todos funcionários e coordenadores da Comissão de Pós-graduação da FEAGRI/UNICAMP, especialmente à **Rita de Cássia** por toda ajuda, esclarecimentos e paciência na realização dos processos burocráticos.*

*Agradeço ao **Prof. Dr. Antonio Ludovico Beraldo** por disponibilizar o carvão de bambu utilizado no experimento.*

*Agradeço ao meu noivo e melhor amigo **Thiago**, por toda ajuda, infinita paciência e compreensão durante a realização deste trabalho. Agradeço também por todo amor, apoio,*

incentivo e carinho. Não tenho palavras para agradecer tudo o que você fez e faz por mim, sem você ao meu lado teria sido tudo infinitamente mais difícil!

*Agradeço a minha mãe **Eliete** por todo amor, incentivo, calma transmitida, força, compreensão, apoio e ajuda durante a realização deste trabalho. Agradeço também por ter me acompanhado na minha aventura na Espanha!*

*Agradeço à minha prima-irmã **Tatiane**, por sempre me incentivar e vibrar por minhas conquistas e vitórias, por sempre torcer para que tudo desse certo, e dizer que sente orgulho de mim!*

*Agradeço ao meu sogro **José Umberto Bampa** pelo incentivo, apoio e carinho, e por compreender e dar valor na minha carreira acadêmica.*

*Agradeço à minha tia **Elizabeth** pelo incentivo sempre, carinho, apoio e valorização da minha trajetória acadêmica.*

*Também agradeço aos meus tios **Ademir, Ivana e Nivaldo** e aos meus primos **Leonardo e Lucas** pelo incentivo. Agradeço também à **Dona Diva** por sempre dizer que um dia eu seria doutora, mesmo antes de eu saber que queria ser! rs*

*Agradeço de coração aos queridos amigos do Laboratório de Saneamento (FEAGRI/FEC), e da FEAGRI que um dia fizeram parte da minha jornada e deixaram meus dias mais divertidos: **Adriana Ribeiro, Aline Nazário, Allan Charles, Ana Zoratto, Daniel Bueno, Érika Moretti, Flávia Santos, Guilherme Augusto (Padre), Joyce Ferraz, Monalisa Franco, Nádia Veiga, Rívia Amaral, Selma Barros e Thaís Carraro.***

*Agradeço especialmente ao grande amigo que fiz no Laboratório de Saneamento **Douglas Batista**, por toda amizade, por sempre estar disposto a me ouvir e tentar me acalmar, especialmente nos problemas laboratoriais e com o experimento. Muito obrigada por sua ajuda, incentivo, apoio e carinho amigo! Ter você como colega de sala e laboratório durante esses anos tornou meus dias mais leves e divertidos! rs*

*Também agradeço de coração aos alunos de Iniciação Científica Voluntária **Gustavo Nagasaka** e **Raquel Menezes**. Muito obrigada pela ajuda, apoio, dedicação, comprometimento, perseverança, e por abastecerem o experimento enquanto eu estava na Espanha. Agradeço muito pelas risadas, amizade e paciência comigo...rs. Espero que eu tenha feito diferença na vida de vocês como vocês fizeram na minha. Muito obrigada também pela oportunidade de aprendizagem de ser sua Coorientadora de TCC, **Gustavo Nagasaka**.*

*Agradeço ao **Prof. Edson Matsura** por disponibilizar um espaço no Laboratório de Hidráulica e Irrigação, e permitir que desenvolvesse meu experimento lá. Muito obrigada professor!*

*Meu muito obrigado à todos do Laboratório de Resíduos e Contaminantes da Embrapa Meio Ambiente: **Márcia Assalin** (por toda ajuda, paciência, ensinamentos de cromatografia, tira-dúvidas, conversas e treinamentos com os cromatógrafos), à **Márcia Godoy** (pela amizade, apoio, conversas, ajuda, paciência, e momentos de risadas), à **Débora Cassoli, Marley Tavares, Maria Rosa e Rosângela** pela paciência, por tirar minhas dúvidas durante os ensaios cromatográficos, e conversas no dia-a-dia. Agradeço também à funcionária **Rose** pelas conversas. Muito obrigada a todos!*

*Muchas gracias a **Dr.ª María Angeles Fontecha-Camara** por la amistad, apoyo y las enseñanzas en el laboratorio de la Universidad de Jaén, y al **Prof. Dr. Miguel Ángel Alvarez-Merino** (Universidad de Jaén) por el apoyo y enseñanzas sobre los ensayos con los carbones activados.*

*Agradeço aos técnicos, pesquisadores e alunos do Laboratório de Microbiologia Ambiental da Embrapa Meio Ambiente pela disponibilização do laboratório e ensinamentos: **Anamaria, Itamar, João e Leonardo**. Meu agradecimento especial à **Rosely**, pelas ideias*

com os ensaios, conversas, paciência, amizade, orientações e ajuda na realização das análises microbiológicas.

Agradeço às amigadas que fiz na Embrapa Meio Ambiente pela ajuda, ensinamentos e momentos de diversão passados juntos: **Andressa, Daniele, Erica, Jéssica, Jorge, Letícia, Patrícia, Rhuan, Thamires e Wallace.**

Agradeço ao pesquisador **Cláudio Jonsson** (Laboratório de Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança) por ajuda com as dúvidas de toxicidade e estatística, e à **Neusa Domingos** (na época técnica do Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança) pela ajuda com os testes toxicológicos e conversas.

Sou grata aos funcionários da seção de protótipos, especialmente ao **Luiz Carlos dos Santos Silva**, pela construção das estruturas para as lâmpadas das wetlands.

Agradeço ao técnico do Laboratório de Hidrologia **Sérgio Lopes**, e aos Funcionários do Campo Experimental **Antonio Sipriano, Antonio Souza** e ao **Carlos** por me ajudarem com a coleta das macrófitas sempre, desde o mestrado, e transporte de britas. Agradeço à **Izabel** pelas conversas no café!

Agradeço ao **Tulio Ribeiro** (técnico do Laboratório de Hidráulica) pelas ideias e dicas durante a instalação do meu experimento. Agradeço ao **Paulo Nunes** (técnico do Laboratório de Materiais e Estruturas) pelos empréstimos de peneiras e disponibilização do laboratório para os ensaios de granulometria.

Muito obrigada à **Rosa**, ao **Prof. Dr. Rafael Oliveira** e à **Gislaine**, todos do Laboratório de Pós-Colheita (FEAGRI/UNICAMP), pela disponibilização e ajuda com o uso da centrífuga.

Agradeço ao pesquisador **Marcelo Saldanha** (pesquisador da Central de Inorgânica) e à técnica **Juliana de Oliveira** (Laboratório de Matéria Orgânica), ambos da Embrapa Meio Ambiente, pela realização das análises de macro e micronutrientes nas macrófitas.

Sou grata à **Prof.^a Dr.^a Cassiana Carolina Montagner Raimundo** (Instituto de Química – UNICAMP) pela disponibilidade em me atender e tirar dúvidas em relação à interferentes endócrinos em matrizes ambientais, além de me emprestar um pouco de padrão de levonorgestrel e bisfenol A para que eu pudesse realizar testes, até que chegassem os meus. Muito obrigada professora!

Agradeço aos fisioterapeutas **Cláudia Peres** e **Guilherme Colombo** (CECOM), porque além de tratarem meus problemas com acupuntura e fisioterapia, escutavam meus desabafos e me acalmavam...rs...muito obrigada pelas conversas e pelo cuidado com os pacientes, é muito bom saber que ainda existem profissionais como vocês!

Agradeço também ao **Thomaz Albrecht** pela ajuda no experimento e oportunidade de aprendizagem como Coorientadora de TCC.

Muito obrigada aos alunos do PIBIC-EM **Gabriela, Letícia, Lucas e Tauany** pela ajuda e acompanhamento durante a realização do experimento.

Agradeço ao Prof. Dr. Welbe, ao aluno Guilherme e ao Renato (IB/UNICAMP), e à Valéria e Tiago Paladino (CPQBA), pela elucidação de metodologias de contagem/identificação bacteriana.

E por fim, mas não menos importante, agradeço aos queridos amigos de longa data **Eduardo Cavaleira** e **Juliana Germano**, bem como minhas queridas “R’s”: **Raquel, Rebeca, Regina** e **Renata**, a **Tania Souza** e a **Priscila Olante**.

A todos, meu muito obrigada!!!

“Inteligência é a capacidade de se adaptar às mudanças.”

(Stephen Hawking)

RESUMO: *Constructed wetlands* são sistemas naturais de tratamento de águas residuárias e de abastecimento, que removem poluentes por macrófitas aquáticas e pelo biofilme formado nas raízes dessas plantas fixadas a um meio suporte. Esse método de tratamento tem como vantagem o baixo custo de implantação e manutenção, economia de energia elétrica durante seu funcionamento, além de serem eficientes na retenção de poluentes. Os poluentes que tem gerado grande preocupação devido aos riscos à saúde humana e ao meio ambiente são os interferentes endócrinos. Essas substâncias estão cada vez mais presentes no meio ambiente, especialmente nos corpos hídricos, e podem causar câncer em seres humanos e animais, mutagenicidade nos órgãos reprodutores das espécies animais presentes na biota aquática, esterilidade em homens, entre outros efeitos adversos à saúde. Portanto a presença dessas substâncias em águas residuárias tem despertado grande preocupação e o uso de métodos para a retenção das mesmas é de extrema relevância e importância. Neste contexto, o presente projeto visou avaliar a eficiência de *constructed wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal, em escala de bancada, na retenção dos interferentes endócrinos: bisfenol A (BPA), etinilestradiol (EE2) e levonorgestrel (LNG) adicionados à esgoto sintético previamente preparado. Foram utilizados quatro diferentes tipos de *wetlands*: três contendo brita como meio suporte, uma cultivada com *Cyperus isocladius* (WL1), uma sem macrófita (WL2) e outra cultivada com *Eichhornia crassipes* (WL3); a quarta *wetland* (WLC) possuía além da brita, carvão de bambu (*Dendrocalamus asper*) como meio suporte, e foi cultivada com a mesma macrófita de WL1. Foram avaliados também a toxicidade do esgoto sintético, a adsorção no meio suporte utilizado, e a absorção dos interferentes endócrinos pelas macrófitas. Parâmetros físico-químicos como pH, demanda química de oxigênio, carbono orgânico dissolvido, série de sólidos, série de nitrogênio, e fósforo total, assim como a quantidade de biomassa, e concentração de macro e micronutrientes nas macrófitas foram avaliados para controle do sistema. As retenções médias de BPA foram de 80,7 (\pm 6%) em WLC, para WL1 42,3 (\pm 16,8%), em WL2 30,2 (\pm 19,5%) e para WL3 20,0 (\pm 21,1%). Para EE2 as retenções médias foram 85,2 (\pm 3,4%) para WLC, 51,4 (\pm 9,7%) em WL1, 23,3 (\pm 17,6%) em WL2 e 55,4 (\pm 4,3%) em WL3. Para o hormônio LNG a WLC obteve retenção de 82,7 (\pm 5,0%), 74,2 (\pm 9,3%) em WL1, 81,2 (\pm 5,0%) em WL2 e por fim, 82,8 (\pm 6,8) em WL3. Com os resultados obtidos, conclui-se que as *constructed wetlands* avaliadas são sistemas eficientes de tratamento de interferentes endócrinos em águas residuárias, podendo ser utilizadas para mitigação desse tipo de contaminação ambiental.

Palavras-chave: leitões cultivados; bisfenol A; etinilestradiol; levonorgestrel; macrófitas.

ABSTRACT: Constructed wetlands are natural systems of wastewater treatment and supply, which remove pollutants by aquatic macrophytes and the biofilm formed in the roots of these plants attached to a support medium. This method of treatment has the advantage of low cost of implantation and maintenance, saving of electricity during its operation, besides being efficient in the removal of pollutants. The pollutants that have generated great concern due to the risks to human health and the environment are endocrine disruptors. These substances are increasingly present in the environment, especially in water bodies, and can cause cancer in humans and animals, mutagenicity in the reproductive organs of animal species present in aquatic biota, sterility in men, among other adverse health effects. Therefore, the presence of these substances in wastewater has raised great concern and the use of methods to remove them is extremely relevant and important. In this context, the present project aimed to evaluate the efficiency of horizontal subsurface flow constructed wetlands, in bench scale, in the retention/removal of endocrine disruptors: bisphenol A (BPA), ethinylestradiol (EE2) and levonorgestrel (LNG), added to synthetic wastewater previously prepared. Four different types of wetlands were used: three containing gravel as support medium, one cultivated with *Cyperus isocladius* (WL1), one without macrophyte (WL2), and another cultivated with *Eichhornia crassipes* (WL3); the fourth wetland (WLC) had besides gravel, bamboo charcoal (*Dendrocalamus asper*) as support medium, and was cultivated with the same WL1 macrophyte. The toxicity of the synthetic wastewater, the adsorption in the medium used, and the absorption of the endocrine disruptors by the macrophytes were also evaluated. Physicochemical parameters such as pH, chemical oxygen demand, dissolved organic carbon, solids series, nitrogen series, and total phosphorus, as well as the amount of biomass and macro and micronutrient concentrations in the macrophytes, were also evaluated. The mean retentions of BPA were 80.7 (\pm 6%) at WLC, to WL1 was 42.3 (\pm 16.8%), at WL2 30.2 (\pm 19.5%) and for WL3 20.0 (\pm 21.1%). For EE2 the mean retentions were 85.2 (\pm 3.4%) to WLC, 51.4 (\pm 9.7%) to WL1, 23.3 (\pm 17.6%) to WL2 and 55.4 (\pm 4.3%) at WL3. For the hormone LNG the WLC obtained retention of 82.7 (\pm 5.0%), 74.2 (\pm 9.3%) in WL1, 81.2 (\pm 5.0%) in WL2 and, 82.8 (\pm 6.8) at WL3. With the results obtained, it can be concluded that the constructed wetlands evaluated are efficient systems for the treatment of endocrine disruptors in wastewater, and can be used to mitigate this type of environmental contamination.

Keywords: constructed wetlands; bisphenol A; ethinylestradiol; levonorgestrel; macrophytes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática dos componentes de um <i>constructed wetland</i>	30
Figura 2. O sistema endócrino de seres humanos.....	32
Figura 3. Fórmulas estruturais dos interferentes endócrinos de interesse.	35
Figura 4. Sensibilidade e seletividade das técnicas cromatográficas utilizadas para análise de interferentes endócrinos.....	48
Figura 5. Corte das <i>wetlands</i>	54
Figura 6. Macrófitas: (a) <i>Cyperus isocladius</i> (mini-papiro), e (b) <i>Eichhornia crassipes</i> (aguapé).	54
Figura 7. Lâmpada <i>GreenPower</i> TLED.	56
Figura 8. Tubulações perfuradas nas <i>wetlands</i>	57
Figura 9. WLC e WL1 cultivadas com mini-papiro (a) e WL3 cultivada com aguapé (b).	58
Figura 10. Representação esquemática de uma unidade do sistema de tratamento.	59
Figura 11. Detalhe das tubulações que foram colocadas a cada terço da caixa (a) e sistema de tratamento completo (b).....	59
Figura 12. Cromatógrafos utilizados para quantificação de interferentes endócrinos: <i>Shimadzu Class VP</i> (a) e <i>UFLC Shimadzu</i> (b).	62
Figura 13. Extração em fase sólida das amostras de esgoto sintético.	63
Figura 14. <i>Microtox</i> ® (<i>Model 500 Analyser</i>).....	66
Figura 15. Extração em fase sólida das amostras diluídas de tecido vegetal.	69
Figura 16. Análises microbiológicas: (a) coleta de amostra de raiz, (b) colônias de bactérias e (c) colônias de fungos.....	71
Figura 17. Ponto de coleta dos meios suporte nas <i>wetlands</i> laboratoriais.....	73
Figura 18. Microscópio eletrônico de varredura.	75
Figura 19. (a) borbulhamento de N ₂ em solução salina para retirada de CO ₂ ; (b) medição de pH de solução salina com carvão; (c) amostras com diferentes pHs.....	76
Figura 20. Espectrofotômetro de duplo feixe de luz com detector UV-VIS (<i>CECIL CE7200/7000 series</i>).	77
Figura 21. Amostras de EE2 e BPA em agitador na estufa.....	79
Figura 22. (a) tela do espectrofotômetro mostrando as absorbâncias e comprimentos de onda dos picos obtidos; (b) tela do computador acoplado ao espectrofotômetro mostrando os espectros obtidos.	79
Figura 23. (a) mistura de carvão com KOH; (b) secagem em infravermelho; (c) carvão seco em estufa; (d) maceração do carvão.	81
Figura 24. Problemas observados nas <i>wetlands</i> laboratoriais.	88
Figura 25. Concentrações de entrada e saída de BPA na fase de baixa concentração.	90
Figura 26. Concentrações de entrada e saída de BPA na fase de alta concentração.	91
Figura 27. Retenção média de concentração de bisfenol A.	92

Figura 28. Gráfico de interações de bisfenol A na fase de baixa concentração.....	96
Figura 29. Gráfico de fatores principais para bisfenol A na fase de baixa concentração.	96
Figura 30. Gráfico de interações para bisfenol A na fase de alta concentração.	98
Figura 31. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de baixa concentração e TDH = 2 dias. 99	
Figura 32. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de baixa concentração e TDH = 4 dias. 99	
Figura 33. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de alta concentração e TDH = 2 dias. . 100	
Figura 34. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de alta concentração e TDH = 4 dias. . 100	
Figura 35. Retenção média de carga de bisfenol A.	101
Figura 36. Concentrações de entrada e saída de EE2 na fase de baixa concentração.	104
Figura 37. Concentrações de entrada e saída de EE2 na fase de alta concentração.	105
Figura 38. Retenções médias de etinilestradiol.	106
Figura 39. Gráfico de interações para etinilestradiol na fase de baixa concentração.	109
Figura 40. Gráfico de interações para etinilestradiol na fase de alta concentração.	110
Figura 41. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de baixa concentração e TDH = 2 dias.	111
Figura 42. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de baixa concentração e TDH = 4 dias.	111
Figura 43. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de alta concentração e TDH = 2 dias. . 112	
Figura 44. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de alta concentração e TDH = 4 dias. . 112	
Figura 45. Retenções médias de carga de etinilestradiol.	113
Figura 46. Gráfico de interações para cargas de etinilestradiol na fase de alta concentração. 116	
Figura 47. Concentrações de entrada e saída de LNG na fase de baixa concentração.	117
Figura 48. Concentrações de entrada e saída de LNG na fase de alta concentração.	117
Figura 49. Retenções médias de levonorgestrel.	119
Figura 50. Gráfico de interações para levonorgestrel na fase de baixa concentração ($100\mu\text{g.L}^{-1}$).	121
Figura 51. Gráfico de interações para levonorgestrel na fase de alta concentração.	122
Figura 52. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de baixa concentração e TDH = 2 dias.	123
Figura 53. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de baixa concentração e TDH = 4 dias.	123
Figura 54. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de alta concentração e TDH = 2 dias. 124	
Figura 55. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de alta concentração e TDH = 4 dias. 124	
Figura 56. Retenções médias de carga de levonorgestrel.	125
Figura 57. Gráfico de interações para cargas de levonorgestrel na fase de baixa concentração ($100\mu\text{g.L}^{-1}$).	127
Figura 58. Cromatogramas utilizados para avaliação da seletividade: (a) amostra branco (280nm) e (b) padrões BPA e EE2 (280nm).	129
Figura 59. Cromatograma da amostra de esgoto branco fortificada com padrões de BPA e EE2	

(280nm).	129
Figura 60. Cromatogramas utilizados para avaliação da seletividade: (a) amostra branco (254nm) e (b) padrão de LNG (254nm).	130
Figura 61. Cromatograma de amostra de esgoto branco fortificada com padrão de LNG (254nm).	130
Figura 62. Amostra de entrada do sistema no dia 18/08/2016 (linha preta = 280nm, linha vermelha = 254nm).	131
Figura 63. Amostra de saída do sistema no dia 18/08/2016 (linha preta = 280nm, linha vermelha = 254nm) – (a) WLC, (b) WL1, (c) WL2 e (d) WL3.	132
Figura 64. Linearidade, faixa linear de trabalho e distribuição dos resíduos.	134
Figura 65. Cromatogramas de especificidade do aguapé: (a) amostra branco e (b) amostra fortificada com BPA e EE2.	150
Figura 66. Cromatogramas de seletividade do mini-papiro: (a) amostra branco e (b) amostra fortificada com BPA e EE2.	151
Figura 67. Cromatograma dos padrões de BPA e EE2 em fase móvel no HPLC-FL.	151
Figura 68. Cromatogramas das amostras de macrófitas das <i>wetlands</i> WLC, WL1 e WL3. ..	152
Figura 69. Linearidade, faixa linear de trabalho e distribuição dos resíduos para mini-papiro.	154
Figura 70. Linearidade, faixa linear de trabalho e distribuição dos resíduos para aguapé.	154
Figura 71. Bactérias isoladas das raízes de <i>Cyperus isocladius</i> das <i>wetlands</i> WLC e WL1. ..	162
Figura 72. Colônias de fungos isolados das raízes de <i>Cyperus isocladius</i> da <i>wetland</i> WLC. ..	162
Figura 73. Colônias de fungos isoladas das raízes de <i>Cyperus isocladius</i> da <i>wetland</i> WL1. .	163
Figura 74. Colônias de fungos preservadas em frascos de penicilina.	163
Figura 75. Microscopia das colônias de bactérias isoladas do meio suporte da <i>wetland</i> WL2.	167
Figura 76. Colônias de fungos isoladas do meio suporte das <i>wetlands</i>	168
Figura 77. Microscopia dos fungos isolados do meio suporte das <i>wetlands</i>	169
Figura 78. Aparência das cinzas obtidas das amostras Bambu, BK-0 e BK-1.	172
Figura 79. Micrografias SEM das amostras: (a) bambu; (b) BK-0, (c) e (d) BK-1.	174
Figura 80. Método de desvio de pH para obter o pH_{PZC} dos três carvões estudados.	175
Figura 81. Diagrama de especiação do BPA em função do pH da solução.	177
Figura 82. Diagrama de especiação do EE2 em função do pH da solução.	177
Figura 83. Curvas de calibração de BPA e EE2 realizadas no espectrofotômetro UV-VIS. ..	178
Figura 84. Isotermas de adsorção de BPA e EE2 nos carvões BK-0 e BK-1.	180
Figura 85. Isotermas de adsorção de BPA e EE2 com BK-1 em água destilada e de torneira.	181

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Interferentes endócrinos de interesse com suas características físico-químicas, e níveis encontrados em águas superficiais e/ou residuárias.....	35
Tabela 2. IE's de interesse e seus respectivos níveis toxicológicos, IDA, nível de referência na saúde humana e tempo de biodegradação.....	36
Tabela 3. Concentrações de interferentes endócrinos encontrados em águas residuárias, superficiais e subterrâneas ao redor do mundo.....	43
Tabela 4. Principais concentrações de hormônios injetadas em experimentos.	47
Tabela 5. Esgoto sintético utilizado no experimento.	57
Tabela 6. Composição dos meios de cultura utilizados.	70
Tabela 7. Fatores e níveis envolvidos no planejamento experimental.	83
Tabela 8. Fórmulas para cálculo do número de amostras.....	83
Tabela 9. Interações e número de amostras para análises físico-químicas e cromatográfica de hormônios.	84
Tabela 10. Interações e número de amostras para análise toxicológica de hormônios.	84
Tabela 11. Retenções mínimas e máximas para BPA com ambas concentrações e TDH estudados.	91
Tabela 12. Análise de variância de BPA na fase de baixa concentração.	95
Tabela 13. Teste de Tukey para BPA na fase de baixa concentração.....	95
Tabela 14. Análise de variância de BPA na fase de alta concentração.	97
Tabela 15. Teste de Tukey para BPA na fase de alta concentração.....	97
Tabela 16. Retenções mínimas e máximas de carga de BPA com ambas concentrações e TDH estudados.	100
Tabela 17. Análise de variância das cargas de BPA na fase de baixa concentração.....	102
Tabela 18. Teste de Tukey para cargas de BPA na fase de baixa concentração.....	102
Tabela 19. Análise de variância das cargas de BPA na fase de alta concentração.....	103
Tabela 20. Teste de Tukey para cargas de BPA na fase de alta concentração.....	103
Tabela 21. Retenções mínimas e máximas de EE2 com ambas concentrações e TDH estudados.	105
Tabela 22. Análise de variância de EE2 na fase de baixa concentração.....	108
Tabela 23. Teste de Tukey para EE2 na fase de baixa concentração.....	108
Tabela 24. Análise de variância de EE2 na fase de alta concentração.....	109
Tabela 25. Teste de Tukey para EE2 na fase de alta concentração.....	110

Tabela 26. Retenções mínimas e máximas de carga de EE2 com ambas concentrações e TDH estudados.	113
Tabela 27. Análise de variância das cargas de EE2 na fase de baixa concentração.	114
Tabela 28. Teste de Tukey para cargas de EE2 na fase de baixa concentração.	114
Tabela 29. Análise de variância das cargas de EE2 na fase de alta concentração.	115
Tabela 30. Teste de Tukey para cargas de EE2 na fase de alta concentração.	115
Tabela 31. Retenções mínimas e máximas de LNG com ambas concentrações e TDH estudados.	118
Tabela 32. Análise de variância de LNG na fase de baixa concentração.	120
Tabela 33. Teste de Tukey para LNG na fase de baixa concentração.	120
Tabela 34. Análise de variância de LNG na fase de alta concentração.	121
Tabela 35. Teste de Tukey para LNG na fase de alta concentração.	122
Tabela 36. Retenções mínimas e máximas de carga LNG com ambas concentrações e TDH estudados.	125
Tabela 37. Análise de variância de carga de LNG na fase de baixa concentração.	126
Tabela 38. Teste de Tukey para cargas de LNG na fase de baixa concentração.	126
Tabela 39. Análise de variância de carga de LNG na fase de alta concentração.	127
Tabela 40. Teste de Tukey para cargas de LNG na fase de alta concentração.	128
Tabela 41. Valores do teste <i>F</i> e do teste <i>t</i> de <i>Student</i> para as amostras de esgoto de entrada e saída do sistema.	133
Tabela 42. Concentrações, desvios-padrão, médias e coeficientes de variação dos interferentes endócrinos.	135
Tabela 43. Recuperações obtidas do bisfenol A em esgoto sintético com três níveis de concentração.	137
Tabela 44. Recuperações obtidas do etinilestradiol em esgoto sintético com três níveis de concentração.	137
Tabela 45. Recuperações obtidas do levonorgestrel em esgoto sintético com três níveis de concentração.	138
Tabela 46. Recuperações obtidas na mesma data e repetitividade do método analítico.	139
Tabela 47. Resultados de precisão intermediária do método analítico.	139
Tabela 48. Toxicidade das amostras de entrada e saída das <i>wetlands</i> na fase de baixa concentração.	141
Tabela 49. Toxicidade das amostras de entrada e saída das <i>wetlands</i> na fase de alta concentração.	143

Tabela 50. Resultados dos testes estatísticos não-paramétricos.	145
Tabela 51. Correlação entre interferentes endócrinos e amônia com resultados de toxicidade.	145
Tabela 52. Concentrações e massa total removida de BPA e EE2 pelas macrófitas das <i>wetlands</i>	146
Tabela 53. Limites de detecção e quantificação do método para mini-papiro e aguapé.	155
Tabela 54. Recuperações obtidas de bisfenol A na macrófita <i>Eichhornia crassipes</i>	157
Tabela 55. Recuperações obtidas de etinilestradiol na macrófita <i>Eichhornia crassipes</i>	157
Tabela 56. Recuperações obtidas do hormônio etinilestradiol na macrófita <i>Cyperus isocladius</i>	158
Tabela 57. Recuperações obtidas de bisfenol A na macrófita <i>Cyperus isocladius</i>	158
Tabela 58. Repetitividade do método analítico para aguapé e mini-papiro.	160
Tabela 59. Resultados de precisão intermediária do método analítico para aguapé.	160
Tabela 60. Contagem total de micro-organismos e quantidade de colônias isoladas obtidas nas raízes.	161
Tabela 61. Contagem total de micro-organismos e quantidade de colônias isoladas obtidas no meio suporte.	165
Tabela 62. Análise elementar das amostras de carvão de bambu.	170
Tabela 63. Área de superfície e porosidade dos adsorventes.	173
Tabela 64. Propriedades químicas dos adsorbatos.	176
Tabela 65. Resultados da aplicação da equação de Langmuir às isotermas de adsorção a 298 K (25 °C): capacidade de adsorção e afinidade relativa para adsorção de BPA e EE2 nas amostras de carvão ativado.	179
Tabela 66. Resultados da aplicação da equação de Langmuir às isotermas de adsorção a 298 K (25 °C): capacidade de adsorção e afinidade relativa para adsorção de BPA e EE2 na amostra de BK-1 em diferentes matrizes de água.	179

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANOVA – Análise de Variância
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*
- APHA - *American Public Health Association*
- ASTM - *American Society for Testing and Materials*
- BK-0 – carvão de bambu pirolisado
- BK-1 – carvão de bambu ativado quimicamente e pirolisado
- BPA – bisfenol A
- C - carbono
- CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CAS-Number - *Chemical Abstracts Service Number*
- CCMVSP - Comitê Científico das Medidas Veterinárias relacionadas com a Saúde Pública
- CEASA - Centrais de Abastecimento de Campinas S.A.
- CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- CO₂ – dióxido de carbono
- COD – carbono orgânico dissolvido
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- CV – coeficiente de variação
- CW – *constructed wetlands*
- DAD – detector de arranjo de diodos
- DDT - Dicloro-Difenil-Tricloroetano
- DQO – demanda química de oxigênio
- E₀ - energia de adsorção característica do carvão
- E1 – estrona
- E2 - estradiol
- E3 – estriol
- EC – *European commission*
- EE2 – etinilestradiol
- EFS – extração em fase sólida
- ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
- EM – efeito matriz

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ESI – ionização por eletronebulização

ETA – Estação de Tratamento de Água

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

FA – fase alta

FB – fase baixa

FEAGRI – Faculdade de Engenharia Agrícola

FDA - *U.S. Food and Drug Administration*

FH – fluxo horizontal

FID – *flame ionization detector*

FL – fluorescência

FS – fluxo superficial

FV – fluxo vertical

GAC – *Granular activated carbon*, ou, carvão ativado granular

GC/MS – cromatógrafo gasoso com detector de massas

GC-MS/MS - cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas sequencial

GIZ - *Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit GmbH*

H – hidrogênio

HCl – ácido clorídrico

HPLC-DAD – cromatógrafo líquido acoplado à detector de arranjo de diodos

HPLC-FL - cromatógrafo líquido acoplado à detector de fluorescência

HPLC-ESI-MS – cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com fonte de ionização *electrospray*

HPLC-MS – cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas

HPLC-MS/MS - cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial

HPLC-UV - cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector ultravioleta

HRL – *health risk limits*, ou, nível de referência para a saúde humana

ICP-OES - *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* ou Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente

IE – Interferente(s) endócrino(s)

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

IDA – ingestão diária aceitável

IOMC - *Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals*

ITRC – *Interstate Technology Regulatory Council*

KOH – hidróxido de potássio

L₀ - largura média dos poros do carvão

LED - *Light Emitting Diode*

LC-ESI-MS/MS - cromatógrafo líquido acoplado à espectrometria de massas sequencial com fonte de ionização *electrospray*

LC-MS - cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

LC-MS/MS - cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial

LD – limite de detecção

LMA – Laboratório de Microbiologia Ambiental

LNG - levonorgestrel

LOAEL - *Lowest Observed Adverse Effect Level*

LOD – limite operacional de detecção

logK_{ow} - coeficiente de partição octanol/água

LOQ – limite operacional de quantificação

LQ – limite de quantificação

LQA – Laboratório de Qualidade de Águas

LRC - Laboratório de Resíduos e Contaminantes

MGA - acetato de melengestrol

m.o. – micro-organismos

MS - *mass spectrometer* (espectrômetro de massas)

MS/MS - espectrometria de massas sequencial

N – nitrogênio

N₂ – nitrogênio gasoso

NaCl – cloreto de sódio

NBR – norma brasileira regulamentadora

NOAEL - *No Observed Adverse Effect Level*

NPOC - *Non-Purgeable Organic Carbon* ou carbono orgânico não purgável

NTK - nitrogênio total Kjeldahl

NTU - *Nephelometric turbidity unit*, ou unidades nefelométricas de turbidez

OD – oxigênio dissolvido

P – fósforo

PDA - *potato dextrose agar* ou ágar batata-dextrose

pH – potencial hidrogeniônico

pH_{PZC} - pH no ponto zero de carga
PID - *photoionization detector*
POP – procedimento operacional padrão
PTFE – politetrafluoretileno ou teflon
Q – vazão
R² = coeficiente de determinação
rpm – rotações por minuto
S - enxofre
S_{BET} - área superficial do carvão
SEM - *scanning electron microscopy* ou microscopia eletrônica de varredura
SPE – *solid phase extraction* (extração em fase sólida)
SF – sólidos fixos
SSF – sólidos suspensos fixos
SST – sólidos suspensos totais
SSV – sólidos suspensos voláteis
SV – sólidos voláteis
ST – sólidos totais
TCH – taxa de carregamento hidráulico
TDH – tempo de detenção hidráulico
TP – *Total phosphorus*, ou fósforo total
UFC – unidades formadoras de colônia
UFLC - *ultra fast liquid chromatography*
UPLC - cromatografia líquida de ultra performance
UPLC-ESI-QToF MS - *Ultra-performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry*
USEPA – *United States Environmental Protection Agency*
UV – ultravioleta
UV-VIS – ultravioleta visível
VRERI – Vice-reitoria executiva de relações internacionais da UNICAMP
W₀ - volume total de microporos do carvão
WL1 – *Wetland 1* (brita como meio suporte e cultivada com mini-papiro)
WL2 – *Wetland 2* (brita como meio suporte, sem macrófita)
WL3 – *Wetland 3* (brita como meio suporte e cultivada com aguapé)
WLC – *Wetland* (carvão e brita como meio suporte, cultivada com mini-papiro)

LISTA DE SÍMBOLOS

α - alpha

β - beta

λ – lambda/comprimento de onda

C – concentração

cm – centímetro

°C – graus Celsius

g.l. – grau de liberdade

h – hora

= - igual

K - carga

L – litro

m – metro

M - molar

mg – miligrama

mL – mililitro

mm – milímetro

μ - mi

μ g – micrograma

ng – nanograma

r – correlação de Pearson

% - porcentagem/por cento

kg - quilograma

km – quilômetro

trim. – trimestre

V – volt

W – watt

x - vezes

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. HIPÓTESE.....	27
3. OBJETIVOS	28
3.1. Objetivo geral.....	28
3.2. Objetivos específicos	28
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
4.1. <i>Constructed wetlands</i>	29
4.2. Interferentes endócrinos (IE).....	30
4.3. Contaminação por interferentes endócrinos e consequências nos seres vivos.....	32
4.4. Bisfenol A, etinilestradiol e levonorgestrel	34
4.5. Remoção de interferentes endócrinos em águas superficiais e residuárias por tratamentos convencionais.....	40
4.6. Remoção de interferentes endócrinos em águas residuárias por <i>wetlands</i>	44
4.7. Metodologias de identificação de interferentes endócrinos em águas residuárias e superficiais.....	48
4.8. Toxicidade de interferentes endócrinos em águas residuárias e superficiais	50
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	53
5.1. Descrição do sistema de <i>wetlands</i>	53
5.1.1. Abastecimento do sistema	56
5.2. Interferentes endócrinos utilizados	60
5.3. Parâmetros monitorados nas <i>wetlands</i>	60
5.3.1. Esgoto sintético.....	61
5.3.1.1. Amostragem do esgoto sintético	61
5.3.1.2. Interferentes endócrinos no esgoto sintético	62
5.3.1.3. Toxicidade do esgoto sintético	65
5.3.1.4. Quantidade de esgoto sintético.....	66
5.3.2. Macrófitas	67
5.3.2.1. Interferentes endócrinos no tecido vegetal.....	67
5.3.2.2. Análises microbiológicas	69
5.3.3. Meio suporte	73
5.3.3.1. Análises microbiológicas	73
5.3.3.2. Ensaio com carvão de bambu	74

5.4. Planejamento experimental	82
5.5. Método de análise dos dados obtidos	84
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
6.1. Desempenho das <i>wetlands</i> laboratoriais	87
6.2. Esgoto sintético	89
6.2.1. Interferentes endócrinos no esgoto sintético.....	89
6.2.1.1. Bisfenol A (BPA).....	89
6.2.1.2. Etinilestradiol (EE2).....	103
6.2.1.3. Levonorgestrel (LNG).....	116
6.2.1.4. Validação do método cromatográfico.....	128
6.2.2. Toxicidade do esgoto sintético.....	140
6.3. Macrófitas	146
6.3.1. Interferentes endócrinos no tecido vegetal	146
6.3.1.1. Validação do método cromatográfico.....	149
6.3.2. Análises microbiológicas e isolamento de micro-organismos.....	161
6.4. Meio suporte	165
6.4.1. Análises microbiológicas e isolamento de micro-organismos.....	165
6.4.2. Ensaio com carvão de bambu.....	169
6.4.2.1. Caracterização físico-química dos carvões de bambu.....	169
6.4.2.2. Caracterização dos adsorbatos	176
6.4.2.3. Isotermas de adsorção	178
6.5. Discussão geral.....	182
7. CONCLUSÕES	187
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	189
APÊNDICE 1. Dados de vazão média diária de entrada e saída no período monitorado.	209
APÊNDICE 2. Resultados de concentrações, cargas, e taxas de retenção de interferentes endócrinos nas <i>wetlands</i>	212
APÊNDICE 3. Parâmetros físico-químicos analisados no esgoto sintético.....	225
APÊNDICE 4. Resultados de concentrações, cargas, e taxas de retenção dos parâmetros físico-químicos nas <i>wetlands</i>	262
APÊNDICE 5. Produção de biomassa e teor de umidade nas macrófitas.....	294
APÊNDICE 6. Análise de nutrientes nas macrófitas.....	297

1. INTRODUÇÃO

Na área de saneamento ambiental, a cada dia que passa mais se tem ouvido falar sobre poluentes emergentes, que são substâncias químicas utilizadas no dia a dia nas residências como, por exemplo, produtos de higiene pessoal e de limpeza, fármacos, cosméticos, inseticidas, e também produtos químicos utilizados em indústrias de diversos segmentos. Parte desses poluentes emergentes é classificada como interferentes endócrinos, pois interferem no sistema endócrino de seres humanos e animais causando problemas como feminização de órgãos predominantemente masculinos em peixes machos, e vice-versa, antecipação da menarca em meninas, esterilidade em homens, entre outros.

Entre os interferentes endócrinos estão os hormônios estrogênicos (como etinilestradiol) e o progestógeno levonorgestrel, que são utilizados em anticoncepcionais, em pílulas de reposição hormonal para mulheres na menopausa, tratamento de câncer, além de também serem produzidos naturalmente pelo corpo humano e de animais. As mulheres produzem e excretam mais hormônios naturais durante a gestação e menstruação, e os hormônios artificiais ingeridos não são totalmente absorvidos pelo organismo sendo também excretados. Além disso, animais de grande porte confinados são considerados uma fonte pontual de poluição estrogênica.

Além dos hormônios também existe uma diversidade de substâncias químicas consideradas como interferentes endócrinos e que possuem características estrogênicas, como por exemplo o composto utilizado na fabricação de plásticos o bisfenol A, que apesar de ser proibido em diversos países é usado amplamente no Brasil na fabricação de garrafas e galões de água mineral, recipientes plásticos alimentícios, dentre outros.

Esses interferentes endócrinos têm como destino final as águas residuárias, porém as Estações de Tratamento de Esgoto convencionais não são capazes de remover totalmente esses poluentes, que são lançados nos rios juntamente com o esgoto tratado, podendo prejudicar os organismos aquáticos. Alguns hormônios sintéticos e outros interferentes endócrinos são extremamente persistentes no meio ambiente, podendo ser captados nas águas superficiais e chegar até as residências.

Em alguns países da Europa, como a França, ou mesmo nos Estados Unidos *constructed wetlands* têm sido utilizadas para tratamento de esgoto de cidades, e alguns autores relatam que esse tipo de sistema foi eficiente na remoção de pesticidas com características levemente hidrofóbicas (GRAY e SEDLAK, 2005). Tendo em vista que alguns destes interferentes endócrinos são substâncias com características levemente hidrofóbicas, a

exploração da alternativa de tratamento de águas residuárias contaminadas com estas substâncias por *constructed wetlands* fornecerá subsídios para a implementação de um sistema com baixo custo de implantação e operação, e com eficientes taxas de retenção de interferentes endócrinos, reduzindo assim a contaminação das águas superficiais e subterrâneas por essas substâncias, e os problemas que estas podem causar nos seres vivos.

2. HIPÓTESE

A hipótese desta pesquisa é que *wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal contendo brita e/ou carvão como meio suporte, e cultivadas ou não com aguapé ou minipapiro, são capazes de reter os interferentes endócrinos: bisfenol A, etinilestradiol e levonorgestrel, que comumente estão presentes em águas residuárias.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a eficiência de *constructed wetlands* (CW) de fluxo subsuperficial horizontal, em escala de bancada, na retenção dos interferentes endócrinos (IE) presentes em esgoto sintético.

3.2. Objetivos específicos

- Verificar a eficiência de retenção dos interferentes endócrinos bisfenol A, etinilestradiol e levonorgestrel presentes em esgoto sintético pelas *wetlands*;
- Avaliar qual dos diferentes tipos de *wetlands* estudados possui maior eficiência na retenção dos interferentes endócrinos e redução de toxicidade;
- Desenvolver e validar uma metodologia analítica para identificação e quantificação de BPA, EE2 e LNG em esgoto sintético utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector ultravioleta;
- Avaliar a toxicidade nas amostras de esgoto sintético das *wetlands* por meio do teste Microtox[®] com a bactéria *Vibrio fischeri*;
- Verificar a quantidade e diversidade de colônias de micro-organismos presentes no meio suporte e nas macrófitas das *wetlands*;
- Avaliar a concentração de interferentes endócrinos nas macrófitas *Cyperus isocladius* e *Eichhornia crassipes* das *wetlands*;
- Desenvolver e validar uma metodologia analítica para identificação e quantificação de BPA e EE2 em macrófitas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector de fluorescência;
- Caracterizar o carvão de bambu utilizado como meio suporte e realizar ensaios de adsorção do carvão com BPA e EE2.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. *Constructed wetlands*

A palavra *wetlands*, que traduzida do inglês significa “zonas húmidas”, caracteriza áreas alagadas com solo regularmente saturado e nível d’água por volta de 0,6 m, onde macrófitas aquáticas conseguem crescer e se desenvolver (BRIX, 1994; METCALF & EDDY, 1991). Como exemplo pode-se citar brejos, pântanos e outras áreas similares que abriguem formas de vida aquática (VON SPERLING *et al.*, 2009).

Constructed wetlands (CW) são sistemas de tratamento de esgoto abertos e rasos construídos com a finalidade de simular a estrutura das *wetlands* naturais, transformando bioquimicamente os poluentes através da população microbiana presente no biofilme aderido ao meio suporte (geralmente brita, areia ou cascalho), além de promover mecanismos de fitorremediação (HERRERA-MELÍAN *et al.*, 2017; ITRC, 2003). No Brasil não existe uma nomenclatura oficial para a designação do termo *constructed wetlands*, alguns autores traduzem para “leitos cultivados”, “alagados construídos”, “zona de raízes” ou “*wetlands* construídos”, e outros utilizam parte do termo originário do inglês “*wetlands*” como será utilizado neste trabalho.

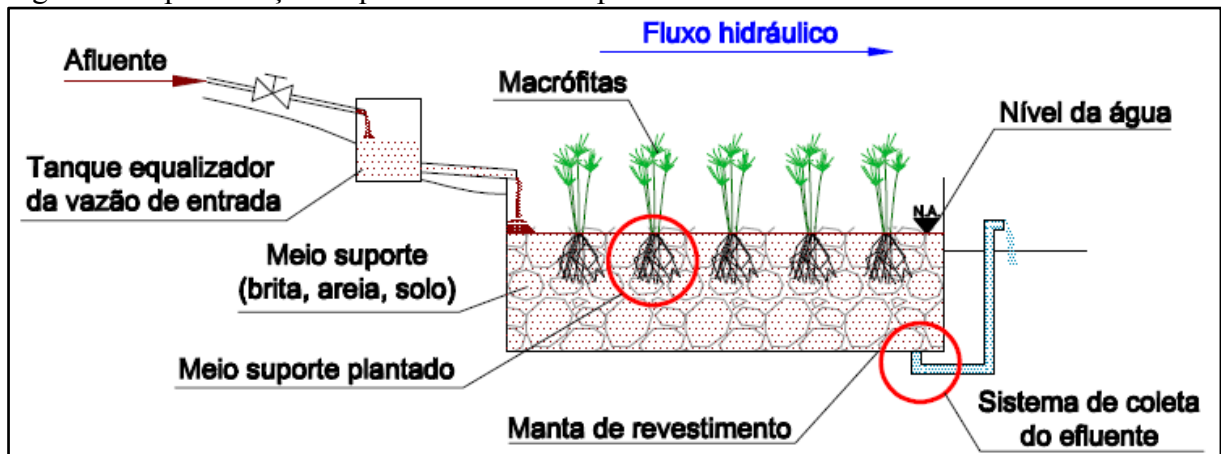
Pode-se citar como vantagem das *wetlands* simples projeto, operação e pouca manutenção do sistema, possível aplicação em comunidades isoladas, baixa produção de resíduos secundários do processo, baixos custos de operação e manutenção, criação de um *habitat* para espécies animais e incorporação à paisagem local – o que aumenta a aceitação pela população (HERRERA-MELÍAN *et al.*, 2017; ITRC, 2003; USEPA, 1988). Em contrapartida, os sistemas de tratamento de efluentes mecanizados como em Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), por exemplo, demandam energia elétrica, produtos químicos e alguns tipos demandam grandes áreas para construção; por esses motivos as *wetlands* podem ser mais adequadas em pequenas comunidades e comunidades rurais isoladas.

O tratamento realizado por *wetlands* baseia-se nas interações que envolvem o solo, a vegetação e os micro-organismos presentes neste tipo de sistema (VYMAZAL, 2007) promovendo diversos processos físicos e biológicos como adsorção, precipitação, nitrificação, decomposição, filtração física e biológica, que é realizada pelo biofilme bacteriano aderido ao meio suporte e raízes da macrófita (GIZ, 2011). *Constructed wetlands* possuem alta eficiência de remoção de matéria orgânica, coliformes fecais e série de sólidos, e de baixa a média eficiência na remoção de fósforo e nitrogênio (HERRERA-MELÍAN *et al.*, 2017).

As *wetlands* são indicadas como sistema de tratamento de esgoto em pequenas comunidades, e são classificadas em: fluxo vertical, fluxo horizontal, fluxo superficial e fluxo subsuperficial (HERRERA-MELÍAN *et al.*, 2017). Segundo GIZ (2011) a principal vantagem da utilização de *wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal é o nível d'água permanecer abaixo da superfície do meio suporte, diminuindo a proliferação de insetos e maus odores. Podem ser utilizados para tratamento secundário ou terciário (polimento).

De acordo com Vymazal e Kröpfelová (2008) as *wetlands* de fluxo subsuperficial são assim designadas porque o afluente a ela escoar de maneira horizontal, lentamente sobre a superfície do meio suporte até o sistema de coleta, fazendo com que o esgoto passe por zonas anaeróbias, anóxicas e aeróbias entrando em contato com os mais diversos tipos de microorganismos. Na Figura 1 estão apresentados os componentes que fazem parte de uma *constructed wetland* de fluxo subsuperficial.

Figura 1. Representação esquemática dos componentes de um *constructed wetland*.



Fonte: Figura desenhada por Julyenne M. Campos (2018).

4.2. Interferentes endócrinos (IE)

A incidência de várias doenças na população tem crescido atualmente, e um dos fatores que contribuem para isso é o aumento da exposição às diversas substâncias químicas presentes no meio ambiente como fármacos, pesticidas, herbicidas, antibióticos, produtos de higiene pessoal - que são substâncias indispensáveis à saúde humana e ao desenvolvimento industrial, mas que em elevadas concentrações podem causar alteração no sistema endócrino de seres vivos, e por isso são chamados interferentes endócrinos (IOMC, 2012).

Interferentes endócrinos compreendem um amplo espectro de substâncias naturais e sintéticas, além de serem compostos emergentes de natureza exógena (WEE & ARIS, 2017).

É difícil determinar exatamente quais substâncias são interferentes endócrinos, pois apesar dos produtos farmacêuticos e de higiene pessoal serem um grupo já bem conhecido e definido, existem vários outros produtos e compostos químicos que podem interferir no funcionamento endócrino de humanos e animais, porém ainda não foram testados, ou as informações disponíveis sobre os efeitos adversos estão incompletas ou são controversas (KIM *et al.*, 2007).

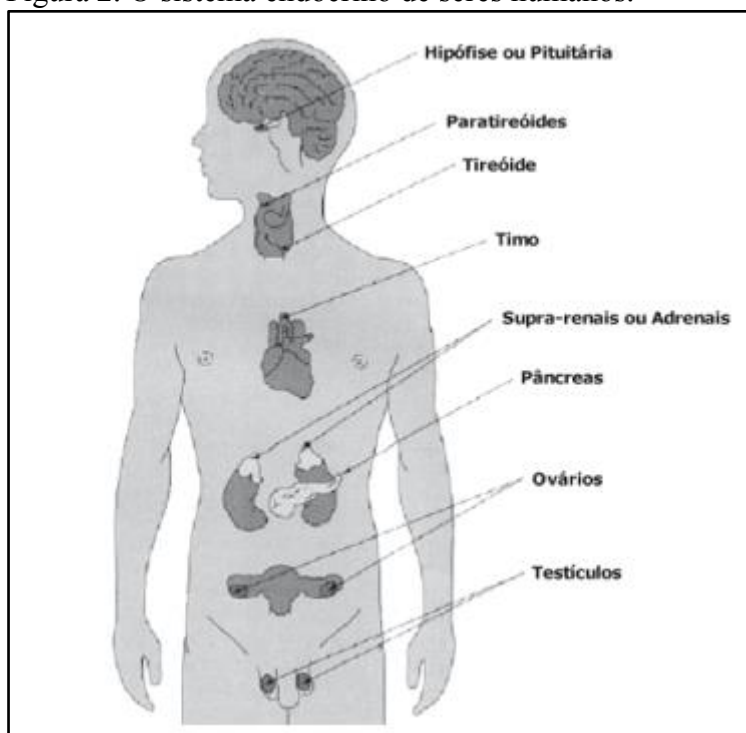
De acordo com Vymazal *et al.* (2017), os produtos farmacêuticos geralmente são lipofílicos e persistentes com o intuito de manterem suas propriedades no organismo dos humanos e animais domésticos e realizar seu efeito terapêutico, o que pode levar esses produtos a serem persistentes também no meio ambiente. Pelo fato dos produtos farmacêuticos serem muito utilizados em grandes quantidades ao redor do mundo, sua ampla presença no meio ambiente pode vir a trazer consequências inesperadas e indesejáveis (VYMAZAL *et al.*, 2017).

A classificação dos interferentes endócrinos na literatura geralmente é dada em quatro classes principais: estrogênios naturais (por exemplo, estrona, estradiol, estriol), estrogênios sintéticos (ex. etinilestradiol), fitoestrogênios (compostos químicos naturais que incluem toxinas produzidas por plantas e toxinas produzidas por fungos, por exemplo) e xenoestrogênios, que são compostos químicos industriais como o bisfenol A, que é utilizado em indústrias que produzem plástico, por exemplo, o nonilfenol que é um detergente e o dicloro-difenil-tricloroetano mais conhecido como DDT, que é um pesticida (COMISSÃO EUROPEIA, 1999; AEPHC-NHMRC–NRMMC, 2008).

Além dos hormônios, pesticidas e produtos de origem farmacêutica, alguns dos interferentes endócrinos de uso industrial são fragrâncias, retardadores de chamas, tintas, surfactantes, plásticos, adesivos, lubrificantes, selantes, detergentes, desinfetantes, limpadores de superfícies, materiais de construção, eletrodomésticos, móveis, têxteis, dentre outros (WEE & ARIS, 2017).

Os interferentes endócrinos podem ser transportados pela água ou pelo ar e comumente podem ser encontrados em solos e sedimentos, esses compostos acumulam-se em diferentes tipos de organismos por meio de biomagnificação na cadeia alimentar, resultante de suas características persistente e hidrofóbica (XIONG *et al.*, 2018). Na Figura 2 estão ilustrados os órgãos que fazem parte do sistema endócrino humano.

Figura 2. O sistema endócrino de seres humanos.



Fonte: JARDIM E GHISELLI (2007).

4.3. Contaminação por interferentes endócrinos e consequências nos seres vivos

Segundo o Comitê Científico de Medidas Veterinárias relacionadas com a Saúde Pública - CCMVSP (citado por Comissão Européia, 1999), a ingestão excessiva de resíduos hormonais de 17- β -estradiol, progesterona, testosterona (sintéticos, porém idênticos aos naturais), MGA (acetato de melengestrol), trembolona e zeranol (ambos sintéticos) e seus metabólitos, presentes na carne bovina pode acarretar problemas endócrinos, imunológicos, imunotóxicos, neurobiológicos, genotóxicos e cancerígenos - sendo o maior grupo de risco as crianças até a idade da puberdade.

Os hormônios podem ser substâncias persistentes e cumulativas, podendo causar a antecipação da menarca (primeira menstruação), problemas no sistema endócrino de homens e mulheres, feminilização de diversas espécies de peixes machos, alteração no metabolismo e no desenvolvimento de anfíbios e moluscos, além de diversos outros problemas e doenças, que ainda não foram investigados, descobertos ou talvez ainda não associados à contaminação por hormônios naturais ou sintéticos (BAIRD, 2002; COMISSÃO EUROPÉIA, 1999; GRAY e SEDLAK, 2005).

Os interferentes endócrinos atuam ligando-se aos receptores de estrogênio

bloqueando ou mimetizando a função hormonal natural dos organismos (JUGAN *et al.*, 2009). Além disso, em águas contaminadas com estrogênios já foram encontrados nas gônadas de peixes machos oócitos de peixes fêmeas, um sinal de feminilização (JUGAN *et al.*, 2009).

De acordo com a Comissão Européia (1999), a contaminação por hormônios e interferentes endócrinos em geral pode estar associada tanto à exposição direta (ingestão de hormônios) quanto à exposição indireta, no caso da ingestão de água ou alimentos contaminados com resíduos hormonais.

A contaminação por interferentes endócrinos pode ser feita por fontes pontuais, como o lançamento de águas residuárias *in natura* ou mesmo tratadas, tendo em vista que as Estações de Tratamento de Esgoto não são capazes de remover totalmente essas substâncias, ou por fontes difusas como aplicação de pesticidas e herbicidas em culturas, ou ainda disposição de lodo e águas residuárias no solo (KOOKANA *et al.*, 2007). Outras fontes de poluição por interferentes endócrinos podem acontecer durante a fabricação, uso e aplicação desses produtos na indústria, além do descarte incorreto do efluente industrial contendo essas substâncias químicas (WEE & ARIS, 2017).

Alguns desses compostos trazem efeitos adversos aos seres vivos mesmo em baixas concentrações, e como geralmente estão presentes nas águas simultaneamente com outros interferentes endócrinos a mistura pode haver sinergismo, ou seja, a mistura desses compostos trazer ainda mais malefícios do que o composto sozinho, e esse é o problema dos IE não serem removidos por completo nas estações de tratamento de águas superficiais e residuárias (JUGAN *et al.*, 2009).

No entanto, nos níveis baixos de concentração que os interferentes endócrinos são encontrados no meio ambiente é difícil avaliar se poderá ocorrer sinergismo ou antagonismo quando ocorrem misturas destes produtos químicos, por isso geralmente os efeitos adversos à saúde são associados individualmente às substâncias que estão em maiores concentrações naquele meio (AEPHC-NHMRC–NRMMC, 2008). É necessária uma avaliação mais detalhada do risco ambiental que as misturas dessas substâncias químicas podem causar (RUNNALLS *et al.*, 2015).

Difícilmente os interferentes endócrinos são totalmente removidos em ETE convencionais, sendo lançados nos corpos d'água e, conseqüentemente, comprometendo a biota aquática. Segundo Atkinson *et al.* (2012), apesar dos hormônios reduzirem sua quantidade durante o tratamento de esgoto, estudos mostraram que seu potencial estrogênico não diminui, o que evidencia a persistência dessas substâncias em efluentes.

De acordo com Shore *et al.* (2005), quando lançados em rios, apesar das concentrações de estrogênios naturais e sintéticos reduzirem pela metade ao longo dos primeiros 25 km após a contaminação, os mesmos podem ser detectados em até 100 km depois. Isto é um fator preocupante, pois mostra que essas substâncias podem ser transportadas por longas distâncias, com a possibilidade de interferir no sistema endócrino de humanos e animais.

A remoção destes compostos abaixo dos níveis de detecção é infactível, porém alguns processos de tratamento de águas superficiais e residuárias como processos oxidativos avançados, carvão ativado e biorreatores de membrana, são mais eficientes na redução destes compostos do que outros métodos tradicionais (YAN *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2007). Pesquisadores buscam diferentes tecnologias de remoção destes compostos pelo fato destas tecnologias avançadas disponíveis possuem limitações, alto custo, ou não removerem os compostos por completo (XIONG *et al.*, 2018). No entanto, geralmente os métodos mais eficientes não são adequados para implementação no campo ou em comunidades rurais e isoladas (SOPHIA A. & LIMA, 2018).

Segundo Cai *et al.* (2012), grande quantidade de estrógenos liberados por vacas são eliminados no esterco, e em muitos países europeus e norte-americanos as vacas leiteiras são confinadas na maior parte do ano, às vezes durante todo o ano, e todo esterco produzido é coletado e disposto no solo como adubo. O adubo disposto no solo evidencia uma carga pontual de poluição estrogênica que poderia vir a contaminar não só o solo, mas também as águas subterrâneas por meio de infiltração, e as águas superficiais através da lixiviação.

Conforme dados estatísticos, as fazendas produtoras de leite são as maiores contribuintes para o lançamento de estrogênios no meio ambiente na Nova Zelândia, nos Estados Unidos e no Reino Unido (CAI *et al.*, 2012; JOHNSON *et al.*, 2006; LANGE *et al.*, 2002; SARMAH *et al.*, 2006). Leet *et al.* (2015) estudaram a feminilização de peixes em contato com águas residuárias de confinamento animal, e verificaram que 84% dos peixes machos que entraram em contato com esses resíduos durante os primeiros 45 dias (fase larval) desenvolveram uma cavidade para ovário, um sinal de feminilização.

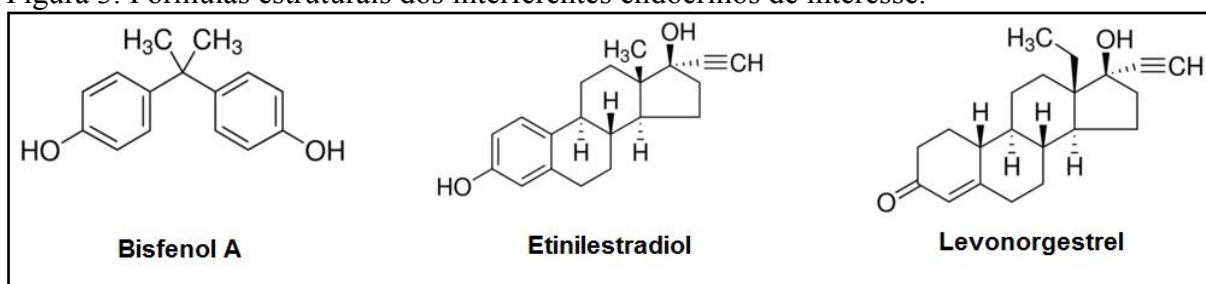
4.4. Bisfenol A, etinilestradiol e levonorgestrel

Os interferentes endócrinos estudados na presente pesquisa foram o bisfenol A, etinilestradiol e levonorgestrel, que são comumente encontrados em águas residuárias e superficiais ao redor do mundo (MIGEOT *et al.*, 2013; HERRERA-MELÍAN *et al.*, 2017;

GRAY e SEDLAK, 2005; KUMAR *et al.*, 2011), e serão detalhados a seguir.

Etinilestradiol também pode ser chamado de 17- α -etinilestradiol, EE2, etinil E2 e estra-1,3,5(10)-triene-3,17 β -diol,17 α -ethynyl-. O composto bisfenol A pode ser conhecido como 2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propane, 4,4'-isopropylidenediphenol, diphenylolpropane, entre outros. Já o hormônio levonorgestrel pode ser conhecido como norgestrel e d-norgestrel. Na Figura 3 estão apresentadas as fórmulas estruturais dos IE's citados anteriormente.

Figura 3. Fórmulas estruturais dos interferentes endócrinos de interesse.



Fonte: Adaptado de <http://www.sigmaaldrich.com/>.

Não existem valores de referência para estes interferentes endócrinos na legislação brasileira, mas apesar destas substâncias estarem na *Contaminant Candidate List 3* (lista de candidatos a contaminantes da água potável) da USEPA, não existe dose de referência ou nível de risco mínimo para estas, de acordo com *Unregulated Contaminant Monitoring Regulation 3 – Information Compendium* da USEPA (2012). Na Tabela 1 pode-se visualizar os IE's citados anteriormente com seus níveis mínimos de detecção, uso ou fonte natural e efeitos na saúde humana.

Tabela 1. Interferentes endócrinos de interesse com suas características físico-químicas, e níveis encontrados em águas superficiais e/ou residuárias.

Interferente endócrino	CAS-Number	Fórmula molecular	$\log Kow$ ⁽¹⁾	Solubilidade em água (mg.L ⁻¹)	Meia-vida (dias)	Nível mínimo detectado* (µg.L ⁻¹)
Bisfenol A	80-05-7	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	3,4	300	0,2 – 75	0,0009
Etinilestradiol	57-63-6	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	3,67	11,3	60	0,0009
Levonorgestrel	797-63-7	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	3,48	2,1	12,5 – 74,5	0,005

⁽¹⁾Coefficiente de partição octanol-água.

*Nível mínimo detectado em águas superficiais e/ou residuárias.

Fonte: Adaptado de *Environmental Protection Agency – USEPA 2* (2012), *Environmental Protection Agency – USEPA 2* (2015), *CAS-Number – Chemical Abstracts Service Registry Number*, *European Union Risk Assessment Report* (2003), *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), *Li et al.* (2014), *Runnalls et al.* (2015).

O tempo estimado para biodegradação (meia-vida) de EE2 é de 60 dias, o que

mostra que este hormônio é persistente no meio ambiente (USEPA, 2012). Já os dados sobre meia-vida de BPA e LNG em águas residuárias e superficiais são os mais variados na literatura, por exemplo, para bisfenol A varia de 0,2 à 75 dias, e para LNG de 12,5 à 74,5 dias (EC, 2003; Li *et al.*, 2014). De qualquer forma, os maiores tempos de meia-vida para BPA e LNG indicam que podem ser substâncias persistentes no meio ambiente. Na Tabela 2 pode-se observar os níveis toxicológicos, ingestão diária aceitável e o nível de referência para saúde humana (HRL).

Tabela 2. IE's de interesse e seus respectivos níveis toxicológicos, IDA, nível de referência na saúde humana e tempo de biodegradação.

Interferente endócrino	NOAEL⁽¹⁾ (mg.kg⁻¹.dia⁻¹)	LOAEL⁽²⁾ (mg.kg⁻¹.dia⁻¹)	IDA⁽³⁾ (mg.kg⁻¹.dia⁻¹)	HRL⁽⁴⁾ (µg.L⁻¹)
Bisfenol A	5	50	0,05	nd*
Etinilestradiol	0,04	0,015	nd	0,035
Levonorgestrel	< 0,8	0,8	nd	nd

Fonte: Adaptado de USEPA (2012), USEPA (2015), USEPA (2010), Zeilinger *et al.* (2009).

*dados não encontrados.

(1) NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*), efeito adverso não observado; (2) LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*), menor efeito adverso observado; (3) IDA (ingestão diária aceitável); (4) HRL (*Health Reference Level*), valor de referência para saúde humana; (5) *logKow* (coeficiente de partição octanol-água); (6) Solubilidade em água.

Bisfenol A (BPA) é uma substância química utilizada na fabricação de resinas de policarbonato e epóxi-fenólicas, e também policarbonato, que são utilizados na fabricação de garrafas plásticas de água, potes plásticos, mamadeiras, brinquedos, tubulações de água, entre outros produtos plásticos (WEE & ARIS, 2017; FDA, 2012; USEPA, 2010). As resinas epóxi-fenólicas também são utilizadas no revestimento de embalagens metálicas de alimentos e bebidas, no revestimento de tampas metálicas de bebidas com embalagem de vidro, e ainda como revestimento de tanques de armazenamento de água em residências (EFSA, 2006).

A preocupação com essa substância teve início por ser encontrada nas águas minerais contidas em embalagens plásticas, e também em águas superficiais (MONTAGNER *et al.*, 2011; FDA, 2012) que podem não ser resultante apenas da migração de BPA das embalagens plásticas, mas também da poluição dos corpos d'água com este composto, e da baixa eficiência de tratamento de águas residuárias e superficiais na eliminação deste interferente endócrino (WEE & ARIS, 2017). O bisfenol A é continuamente introduzido no meio aquático por meio de efluentes industriais, agrícolas e municipais (MIGEOT *et al.*, 2013).

Devido à migração do BPA do plástico de mamadeiras e embalagens de alimentos,

alguns países regulamentaram o uso de BPA nesses tipos de embalagens, especialmente em mamadeiras (WEE & ARIS, 2017), sendo o Canadá o primeiro país a considerar o BPA como substância tóxica e estabelecer legislações para este composto (MIGEOT *et al.*, 2013).

Nos diferentes grupos de interferentes endócrinos, o BPA é classificado como “composto fenólico” junto ao nonilfenol e octilfenol (WEE & ARIS, 2017). De acordo com AEPHC-NHMRC–NRMMC (2008) o valor máximo de BPA encontrado em águas residuárias australianas após tratamento secundário foi $12 \mu\text{g.L}^{-1}$, e os valores orientadores recomendados em água para consumo humano seria de $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ calculado com base na ingestão diária aceitável.

O bisfenol A possui características lipofílicas e por isso pode ser cumulativo no tecido adiposo de humanos e animais durante o desenvolvimento do feto, gerando malefícios para a saúde de adultos e crianças, causando efeitos adversos no crescimento e desenvolvimento de órgãos e tecidos (WEE & ARIS, 2017). BPA também foi encontrado no colostro (início do leite materno) em dezenove de vinte e uma mulheres estudadas, e seus derivados clorados foram encontrados nos vinte e um colostros (MIGEOT *et al.*, 2013).

Testes de toxicidade relacionados à efeitos adversos na reprodução masculina foram mais sensíveis para humanos do que para ratos, ademais BPA mostrou interferir nas glândulas tireóides, mas não foram observados evidências carcinogênicas (IOMC, 2012). Wee & Aris (2017) relataram também que BPA interferiu na decidualização (que é uma reação que ocorre no endométrio durante a gravidez) da progesterona, interferindo também na insulina e prolactina, que é o hormônio associado à fabricação de leite materno.

De acordo com USEPA (2010) o BPA já fez parte da “Lista de Substâncias Tóxicas Controladas” da EPA (*Toxic Substances Control Act* - TSCA) pelo fato de ser tóxico para a reprodução e desenvolvimento de animais, além de ser levemente estrogênico. Esta substância já fez parte da lista de “Monitoramento de Contaminantes sem Regulamentação” (*Unregulated Contaminant Monitoring Regulation*) da USEPA (2012), no entanto foi excluído desta lista em 2012 com necessidade de realização de mais análises para confirmar seu potencial tóxico e estrogênico.

Migeot *et al.* (2013) relataram que o cloro presente na água para consumo humano reage com o BPA formando compostos do tipo Cl_xBPA , que possuem alta atividade estrogênica. Os autores encontraram 2,2'- Cl_2BPA , 2,6- Cl_2BPA , e Cl_3BPA no colostro materno em concentrações variando de 0,68 a $1,87 \mu\text{g.L}^{-1}$.

O hormônio estrogênico etinilestradiol (EE2) é um esteroide análogo ao hormônio natural comumente utilizado em medicamentos e contraceptivos orais combinados, que por

controlar diversas funções nos organismos (natalidade, reposição hormonal) e seu consumo ter aumentado significativamente nos últimos anos, é considerado um grupo importante de interferentes endócrinos (HERRERA-MELÍAN *et al.*, 2017; TIWARI *et al.*, 2017; WEE & ARIS, 2017).

EE2 é considerado um dos principais contaminantes das águas residuárias, porque foi encontrado em águas superficiais e em efluentes provenientes de águas de abastecimento municipais em concentrações capazes de causar alterações no sistema reprodutor de peixes e no metabolismo de organismos aquáticos, tendo em vista que concentrações na ordem de nanogramas já pode causar esse efeito (HERRERA-MELÍAN *et al.*, 2017; GRAY e SEDLAK, 2005; KUMAR *et al.*, 2011).

O valor máximo de EE2 encontrado em águas residuárias australianas após tratamento secundário foi $0,27 \mu\text{g.L}^{-1}$, e os valores orientadores recomendados em água para consumo humano seria de $0,0015 \mu\text{g.L}^{-1}$, devido à estrogenicidade do hormônio (AEPHC-NHMRC–NRMMC, 2008). Devido à seu \log_{Kow} , a seu coeficiente de absorção no solo relativamente alto, e à sua baixa volatilidade o EE2 tende a ser bioacumulativo no meio ambiente e em seres vivos, e ser resistente à biodegradação devido à suas características hidrofóbicas, tornando-se um poluente persistente (WEE & ARIS, 2017).

Segundo Reinhard *et al.* (2004) estrogênios são considerados os interferentes endócrinos mais potentes, e além de anomalias reprodutivas em peixes de água doce que viviam à jusante de uma ETE, também foram observados bioacumulação de estrogênios na bile, nos ovários e nos testículos de peixes que vivem em águas contaminadas (GIBSON *et al.*, 2005; LARSSON *et al.*, 1999; HINTEMANN *et al.*, 2006; SUMPTER *et al.*, 2005). Wee & Aris (2017) relataram que a toxicidade em peixes que entraram em contato com EE2 na faixa de ng.L^{-1} foi capaz de causar a feminilização completa em peixes machos, reduzindo assim a fertilidade e a fecundidade, formou peixes intersexuais, diminuiu a contagem de espermatozoides, óvulos e a qualidade dos gametas.

EE2 é listado como substância cancerígena e/ou teratogênica pela *University of Maryland's Partial List of Teratogens*, e como cancerígeno pelo *State of California List of Chemicals Known to Cause Cancer* (USEPA, 2012). Os valores de HRL são para efeitos não cancerígenos na água potável, baseado nos valores de ingestão diária aceitável. Os valores de solubilidade e de \log_{Kow} do EE2 indicam que é uma substância moderadamente móvel na água (USEPA, 2012).

Além dos interferentes endócrinos em si, diversos estudos buscam identificar e quantificar seus metabólitos – que podem ser mais ou menos tóxicos e estrogênicos que o IE

original. Hom-Diaz *et al.* (2015) verificaram que o composto EE2 é o mais recalcitrante, quando comparado aos demais hormônios encontrados em corpos d'água como o estradiol, a estrona e o estriol. Larcher *et al.* (2012) após ozonização de água com EE2 identificaram por LC-MS subprodutos do EE2 com massas de 302,1517 e 344,1628 u, mas não conseguiram identificá-los. Pieper e Rotard (2011) encontraram o metabólito estrona proveniente do 17- α -etinilestradiol, enquanto Ternes *et al.* (1999b) em experimentos de degradação verificou que o EE2 é um hormônio persistente e pouco decomposto em ensaios laboratoriais.

O progestógeno levonorgestrel (LNG) geralmente está associado ao hormônio etinilestradiol em pílulas anticoncepcionais (RUNNALLS *et al.*, 2015), mas apesar de haver vasta literatura sobre EE2 no meio aquático e seus efeitos adversos, pouca literatura é encontrada sobre o LNG (KING *et al.*, 2016; OVERTURF & HUGGETT, 2015; OVERTURF *et al.*, 2014).

Um dos motivos pelos quais não são encontrados dados sobre levonorgestrel é a limitação das técnicas analíticas atuais em identificar esse composto em amostras ambientais, o que resulta em pouca informação sobre a toxicidade deste hormônio em organismos aquáticos e sua ocorrência ambiental (KING *et al.*, 2016).

Alguns estudos sugerem que progestógenos como o LNG causa efeitos adversos nos estágios iniciais de vida dos organismos aquáticos, e que a redução do crescimento de peixes em fase larval causada por progestógenos é devida a interferência deste composto na tireoide (OVERTURF & HUGGETT, 2015). Enquanto o EE2 possui efeito de feminilização em peixes machos, o LNG é conhecido por possuir efeito androgênico, ou seja, de masculinização em peixes (LEET *et al.*, 2015; RUNNALLS *et al.*, 2015).

Runnalls *et al.* (2015) relataram que a exposição de peixes (*Pimephales promelas*) ao levonorgestrel na concentração de 100 ng.L⁻¹ impediu a reprodução de peixes, na concentração de 5 ng.L⁻¹ reduziu em 40% a produção de ovos e alguns peixes pararam de desovar totalmente, e na concentração de 0,5 ng.L⁻¹ a produção de ovos foi reduzida em 20%. Os autores também observaram que os efeitos adversos ocorreram mais nas fêmeas do que nos machos, tendo em vista que a concentração de 25 ng.L⁻¹ aumentou o peso, o comprimento e o perímetro abdominal das fêmeas. Além disso, Runnalls *et al.* (2015) observaram que os peixes fêmeas adquiriram características de peixes machos como manchas na barbatana, placas de gordura e tubérculos faciais.

Overturf & Huggett (2015) avaliaram o efeito do LNG nas fases iniciais de larvas do peixe *Pimephales promelas* na concentração de 125 ng.L⁻¹, com diversos tempos de exposição ao LNG durante 28 dias e independente do tempo de exposição, os autores

observaram diminuição significativa no crescimento das larvas do peixe. Overturf *et al.* (2014) pesquisaram a influência do levonorgestrel em peixes *Pimephales promelas* onde observaram que após 28 dias da eclosão dos ovos o crescimento dos peixes fora reduzido na concentração de 86.9 ng.L⁻¹, a sobrevivência das larvas na concentração de 462 ng.L⁻¹, e a produção dos hormônios ovarianos na concentração de 100 ng.L⁻¹.

Estudos toxicológicos com peixes *Gasterosteus aculeatus* mostraram que em concentrações baixas como 6,5 ng.L⁻¹ (comumente encontradas em águas superficiais) o levonorgestrel inibiu a espermatogênese e a regeneração pós-reprodutiva, reforçando a suspeita de que o LNG é um interferente endócrino com características androgênicas, ao contrário do EE2, capaz de masculinizar peixes fêmeas e interferir na reprodução de peixes machos (SVENSSON *et al.*, 2014).

Svensson *et al.* (2013) observaram que peixes fêmeas das espécie *Gasterosteus aculeatus* apresentaram características sexuais masculinas (androgênicas) e antiestrogênicas quando em contato com concentrações de LNG ≥ 40 ng.L⁻¹, detectadas em estudos morfológicos e genéticos – mais um indicativo de androgenicidade do LNG.

Peng *et al.* (2014) analisaram a biotransformação de levonorgestrel por dois tipos de alga e observaram que os principais mecanismos de transformação foram hidroxilação, oxidação e redução, resultando em dois subprodutos de degradação: 4,5-dihydronorgestrel e 6,7-dehydronorgestrel.

4.5. Remoção de interferentes endócrinos em águas superficiais e residuárias por tratamentos convencionais

He *et al.* (2018a) relataram ter encontrado concentrações variando de 0,9 à 3,7 µg.L⁻¹ de BPA em efluentes provenientes de estações de tratamento de esgoto após tratamento secundário, na Holanda; os autores relataram que algumas das estações tratavam apenas esgoto doméstico, e que outras tratavam esgoto doméstico e efluentes industriais.

Tran & Gin (2017) pesquisaram a remoção de vinte e cinco diferentes interferentes endócrinos (inclusive o BPA) em uma estação de tratamento de esgoto municipal, e relataram ter encontrado dezenove dos compostos estudados no esgoto bruto. Os autores encontraram BPA em todas as amostras brutas analisadas com concentrações variando de 5,3 à 6,9 µg.L⁻¹ no Sudeste da Ásia, no efluente do lodo ativado as concentrações variaram de 0,6 à 1,0 µg.L⁻¹, e na membrana do biorreator de membrana as concentrações ficaram entre 0,1 e 0,7 µg.L⁻¹. As remoções de BPA no sistema de lodos ativados variaram de 81,9 a 90,6%,

e no biorreator de membrana de 88,3 a 97,9%.

King *et al.* (2016) pesquisaram concentrações de etinilestradiol e levonorgestrel em amostras de água residuárias tratadas e em águas superficiais na Austrália, e obtiveram concentrações de até 2 ng.L⁻¹ EE2 no efluente tratado, e no ambiente de recepção de 0,1 a 0,2 ng.L⁻¹, maiores que o PNEC (do inglês, *predicted no-effect concentration*, ou concentração previsivelmente sem efeitos, em português) do EE2 que é 0,1 ng.L⁻¹. Devido a escassez de dados sobre levonorgestrel na literatura, King *et al.* (2016) calcularam um PNEC provisório de 0,1 ng.L⁻¹ para LNG que foi menor que as concentrações previstas de LNG no efluente (calculadas por meio do consumo de medicamentos contendo levonorgestrel) de 0,2 a 0,6 ng.L⁻¹. As concentrações das amostras reais obtidas pelos autores ficaram abaixo do limite de detecção do método para LNG.

Pessoa *et al.* (2014) verificaram que uma ETE convencional no Brasil (Ceará) foi capaz de remover uma média de 75,8% de etinilestradiol, e Atkinson *et al.* (2012) verificaram em uma ETE convencional remoções de -119 (aumento de 119% na saída do sistema em relação à entrada) a 100% para etinilestradiol. Quantificando estrogênios no afluente e no efluente de uma ETE convencional (lodo ativado, reator anaeróbio, lagoa de estabilização) em Curitiba/PR, Froehner *et al.* (2011) relatou que a remoção de etinilestradiol ficou entre 44,1 e 99,1%, e de BPA foi de 99,9 à 100%.

Grover *et al.* (2011a) observaram remoções de 43% para etinilestradiol em uma ETE projetada para remoção de interferentes endócrinos, com filtro de carvão ativado granular (GAC). Grover *et al.* (2011b) monitoraram concentrações de etinilestradiol e outros hormônios em vários pontos de um rio, antes e após a Estação de Tratamento de Água (ETA) alocada nesse rio. Os autores não foram autorizados a monitorar o afluente da ETA, mas ao comparar as concentrações presentes no rio antes e após à ETA verificaram que houve uma redução maior que 67% para etinilestradiol. As coletas foram realizadas 3,5km antes da ETA e a 10m, 1,7km e 10km após a ETA, e os autores utilizaram uma equação para descartar o efeito de diluição das concentrações de EE2 no rio.

Zhang e Zhou (2008) estudaram a remoção dos hormônios 17- β -estradiol e estrona em uma ETE no Reino Unido, verificando de 78 a 92% de remoção para E1 e de 69 a 90% para E2. As amostras foram coletadas antes e após as etapas de sedimentação e filtro biológico, e como as *wetlands* possuem esses dois tipos de processos, isso é um indicativo de uma possível eficiência de remoção de estrogênios neste tipo de sistema.

Em 2010 Gadd *et al.* pesquisaram a redução de hormônios de resíduos de atividade leiteira, e observaram uma remoção de 50 a 100% após tratamento aeróbio e

anaeróbio. Os autores relatam que pelo fato dos principais mecanismos de remoção desses compostos serem oxidação e fotodegradação, é possível que a remoção em tratamento exclusivamente anaeróbio seja limitada. Sendo assim, pelo fato de *wetlands* possuírem zonas aeróbias e zonas anaeróbias, este tipo de sistema pode ser eficiente na remoção destes estrogênios.

Diniz *et al.* (2010) observaram remoções maiores que 95% de BPA em uma estação convencional de tratamento de esgoto em Portugal, com concentrações médias de $1,55 \mu\text{g.L}^{-1}$ no esgoto bruto, $0,15 \mu\text{g.L}^{-1}$ após a caixa de areia, $0,31 \mu\text{g.L}^{-1}$ após a etapa de filtração e concentrações menores que o limite de detecção após a desinfecção ultravioleta.

Vulliet *et al.* (2008) encontraram o progestógeno levonorgestrel em concentrações variando de 5,3 a $7,0 \text{ ng.L}^{-1}$ em águas superficiais receptoras de esgoto doméstico tratado, e em águas superficiais próximas à zona rural.

A quantificação de estrogênios em água bruta e água tratada da ETA de São Carlos/SP foi realizada por Guimarães (2008), verificando que o sistema de tratamento por osmose reversa e tecnologia *Milli Q*[®] não era eficiente na remoção destes compostos, tendo em vista que os valores encontrados na água bruta foram semelhantes aos da água tratada. Uma revisão bibliográfica sobre as concentrações dos hormônios estudados encontradas nos afluentes e efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto, em águas superficiais e subterrâneas e em afluentes e efluentes de Estações de Tratamento de Água foram compilados na Tabela 3.

Tabela 3. Concentrações de interferentes endócrinos encontrados em águas residuárias, superficiais e subterrâneas ao redor do mundo.

Concentrações de interferentes endócrinos encontrados no meio ambiente (ng.L ⁻¹) ⁽²⁾				
Águas residuárias e Estações de Tratamento de Esgoto				
Autor	BPA	EE2	LNG	Matriz
He <i>et al.</i> (2018)	900 - 3700	—	—	Efluente de ETE convencional - Holanda
Tran & Gin (2017)	5300 - 6900	—	—	Esgoto bruto - Ásia
	600 - 1000	—	—	Efluente de lodo ativado - Ásia
	100 - 700	—	—	Membrana do biorreator de membrana - Ásia
King <i>et al.</i> (2016)	—	2	<1 - 1	Efluente de ETE convencional - Austrália
Y. Luo <i>et al.</i> (2014)	13 - 2140	1 - 3	—	Afluente de ETE convencional ⁽¹⁾
	30 - 1100	<1 - 2	—	Efluente de ETE convencional ⁽¹⁾
Pessoa <i>et al.</i> (2014)	—	421	—	Afluente de ETE convencional - Brasil
	—	124	—	Efluente de ETE convencional - Brasil
Atkinson <i>et al.</i> (2012)	—	nd - 6	—	Afluente de ETE convencional - Canadá
	—	nd - 10	—	Efluente de ETE convencional - Canadá
Froehner <i>et al.</i> (2011)	1290 - 84110	600 - 1260	—	Afluente de ETE convencional - Brasil
	nd - 20	nd - 470	—	Efluente de ETE convencional - Brasil
Grover <i>et al.</i> (2011) ^a	—	<1 - 2	—	Afluente de ETE para remoção de interferentes endócrinos - UK ⁽³⁾
	—	<1	—	Efluente de ETE para remoção de interferentes endócrinos - UK ⁽³⁾
Diniz <i>et al.</i> (2010)	1550	nr	—	Afluente de ETE convencional - Portugal
	nd - 310	nr	—	Efluente de ETE convencional - Portugal
Sodré <i>et al.</i> (2010)	3	1	—	Esgoto bruto - Brasil
Hintemann <i>et al.</i> (2006)	—	2	—	Efluente de ETE - Alemanha
Águas superficiais e Estações de Tratamento de Água				
Autor	BPA	EE2	LNG	Matriz
King <i>et al.</i> (2016)	—	<1	<1	Água superficial recebendo efluente de ETE convencional - Austrália
Dias (2014)	18 - 131	14 - 71	—	Água bruta de ETA - Brasil (MG, SP, RJ) ⁽⁶⁾
	18 - 370	6 - 156	—	Água tratada de ETA - Brasil (MG, SP, RJ) ⁽⁶⁾
Torres (2014)	—	194	—	Água de rio tratada da Bacia PCJ ⁽⁴⁾ - Brasil
Y. Luo <i>et al.</i> (2014)	6 - 881	nd - 2	—	Águas superficiais ⁽¹⁾
Jardim <i>et al.</i> (2012)	3 - 11	nd	—	Água superficial - Brasil
	nd - <LD	nd	—	Água para consumo humano - Brasil
USEPA (2012)	—	3 - 273	—	Águas superficiais - EUA ⁽⁵⁾
Montagner e Jardim (2011)	520 - 6375	501 - 4390	<19 - 663	Água do rio Atibaia - Brasil
Sodré <i>et al.</i> (2010)	25 - 84	nd - 25	—	Água do rio Atibaia - Brasil
Chen <i>et al.</i> (2010)	—	< LD	—	Rios contaminados com excretas de animais confinados - Tawain
Torres (2009)	—	191 - 305	—	Água de rio e água tratada na bacia PCJ ⁽⁴⁾ - Brasil
Vulliet <i>et al.</i> (2008)	—	nd	5 - 7	Água superficial que recebe esgoto tratado ou próxima à zona rural
Pojana <i>et al.</i> (2007)	<LD - 145	<LD - 34	—	Água de lagoa - Itália
Hintemann <i>et al.</i> (2006)	—	1	—	Rio Reno - Alemanha
Águas subterrâneas				
Autor	BPA	EE2	LNG	Matriz
Y. Luo <i>et al.</i> (2014)	2550	nd - 230	—	Águas subterrâneas ⁽¹⁾
Vulliet <i>et al.</i> (2008)	—	nd - 3	7 - 11	Águas subterrâneas - França

⁽¹⁾o autor apresentou em um artigo de revisão bibliográfica concentrações de interferentes endócrinos dos seguintes países: China, França, Coreia, Alemanha, Itália, Suíça e EUA; ⁽²⁾os valores relatados pelos autores foram arredondados para números inteiros (casas decimais retiradas);

⁽³⁾United Kingdom; ⁽⁴⁾Piracicaba, Capivari, Jundiá; ⁽⁵⁾Estados Unidos da América; —: os autores não relataram as concentrações daquele composto; —: significa "a"; nd: não detectado; ⁽⁶⁾Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro; LD = limite de detecção.

4.6. Remoção de interferentes endócrinos em águas residuárias por *wetlands*

Tendo em vista que os pesticidas levemente hidrofóbicos apresentam propriedades químicas semelhantes aos hormônios estrogênicos e que esses pesticidas são removidos eficientemente nas *wetlands*, isso fornece informações para os possíveis mecanismos de remoção desses hormônios nesses sistemas (GRAY e SEDLAK, 2005). Por isso, segundo os autores, os hormônios estrogênicos poderiam ser mitigados de maneira semelhante em *wetlands*.

Em 2010, Hijosa-Valsero *et al.* compararam o tratamento de águas residuárias por diversas configurações de *wetlands* e com diferentes macrófitas, simultaneamente ao tratamento da mesma água residuária em uma estação de tratamento convencional. Os autores relataram que a ETE não foi capaz de remover diclofenaco, carbamazepina, galaxolide e tonalide, enquanto que as *wetlands* removeram todas essas substâncias, em maiores ou menores quantidades. Isso evidencia que *wetlands* foram mais eficientes no tratamento de interferentes endócrinos do que o tratamento convencional em ETE.

He *et al.* (2018a) utilizaram *wetlands* de fluxo superficial e subsuperficial vertical cultivadas com *Phragmites australis* para realizar tratamento terciário de esgoto proveniente de ETE; os autores analisaram cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, eritromicina, lincomicina, sulfametoxazol, propranolol, metoprolol, ácido clofibrico, carbamazepina, cafeína, bisfenol A, estrona, 17 β -estradiol, etinilestradiol e estriol. Os autores não detectaram EE2 na entrada das *wetlands*, e as remoções de BPA variaram de -29,2 \pm 116,3% à -88,3 \pm 78,2% (acúmulo de BPA na saída do sistema).

Herrera-Melían *et al.* (2017) estudaram a presença e a remoção de quatorze tipos de hormônios em água residuária de um campus universitário por *wetlands* de fluxo horizontal e vertical, algumas cultivadas com *Cyperus* sp. e outras com *Phragmites* sp., contendo resíduo vulcânico, resíduo de palmeira ou brita como meio suporte, e capacidade variando de 200 a 265L. Dos quatorze hormônios estudados, os autores detectaram nove na água residuária: 17 β -estradiol, estriol, estrona, boldenona, testosterona, norgestrel, progesterona, noretisterona e prednisona. As taxas de remoção variaram de 30 à 100%.

Dai *et al.* (2017) utilizaram *wetlands* com 204 m² de área, de fluxo vertical acopladas a *wetlands* de fluxo horizontal, contendo cascalho como meio suporte e cultivadas com *Cannaglauca*, *Thalia dealbata*, *Canna indica*, *Typha angustifolia*, *Cyperus alternifolius*, *Arundo donax*, *Acorus tatarinowii*, e *Desmodium styracifolium*, para realizar o tratamento

terciário de esgoto proveniente de uma ETE. Os autores trabalharam com TDH variando de 6 à 24 horas, e pesquisaram a presença e remoção pelas *wetlands* dos interferentes endócrinos E1, E2, EE2, BPA, triclosan, 4-terc-octilfenol e 4-nonilfenol no esgoto. Dai *et al.* (2017) não encontraram EE2 nesta água residuária, mas obtiveram 45 ($\pm 15\%$) de remoção BPA.

Toro-Vélez *et al.* (2016) realizaram o tratamento secundário de esgoto municipal com *wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal em escala piloto, uma cultivada com *Heliconia psitacorum*, outra com *Phragmites australis* e outra sem planta. Os autores verificaram a remoção de nonilfenol e bisfenol A, que variou de 62,2 à 73,3% de remoção de BPA.

Papaevangelou *et al.* (2016) estudaram a remoção de bisfenol A, nonilfenol, monoetoxilado de nonilfenol, dietoxilado de nonilfenol, e triclosan em esgoto municipal de um campus universitário por *wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal e de fluxo vertical, cultivadas ou não com *Phragmites australis* ou *Typha latifolia*. Os autores relataram que a remoção de BPA nas *wetlands* variou de 45,6 a 99,0%.

Ávila *et al.* (2015) trataram esgoto municipal por uma *wetland* de fluxo subsuperficial vertical e uma de fluxo subsuperficial horizontal cultivadas com *Phragmites australis*, e uma *wetland* de lâmina d'água livre de 240m² com diversos tipos de plantas – todas operando em série. Os autores verificaram a remoção de ibuprofeno, diclofenaco, paracetamol, tonalide, oxibenzona, triclosan, bisfenol A e etinilestradiol, atingindo remoções maiores que 99% para BPA (se for levado em conta todo o sistema em série). As concentrações do hormônio EE2 nas amostras ficaram abaixo do limite de detecção, de acordo com Ávila *et al.* (2015).

Vymazal, Březinová & Koželuh (2015) realizaram tratamento secundário de esgoto municipal de até 200 habitantes por três *constructed wetlands* de fluxo subsuperficial cultivadas com *Phragmites australis* e/ou *Phalaris arundinacea*, utilizando brita como meio suporte. Os autores avaliaram a remoção de estrogênios (estrone, estriol, 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol), testosterona e progesterona; as remoções de EE2 variaram de acúmulo na saída de uma das *wetlands* (maior concentração na saída do que na entrada) à 81,4%.

Carranza-Diaz *et al.* (2014) avaliaram a remoção de bisfenol A, cafeína, carbamazepina, diclofenaco, galaxolide, ibuprofeno, cetoprofeno, naproxeno, 4-nonilfenol, tonalide e triclosan, tratando esgoto municipal, por duas *wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal contendo cascalho como meio suporte, uma sem planta e outra cultivada com *Phragmites australis*. As remoções médias de BPA descritas pelos autores variaram de 2 ($\pm 8\%$) até 5 ($\pm 15\%$).

Li *et al.* (2014) avaliaram a remoção de levonorgestrel em tanques contendo água ultra pura contaminada com o hormônio, um deles sem macrófita, outro com *Eichhornia crassipes* e outro contendo *Cyperus alternifolius*. A remoção obtida pelos autores variou de $78.9\% \pm 2.5\%$ a $79.8\% \pm 3.1\%$.

Ávila *et al.* (2014a) pesquisaram a retenção de EE2 adicionado à esgoto municipal por um sistema híbrido de *wetlands* contendo duas de fluxo vertical (FV), uma de fluxo horizontal (FH) e uma de fluxo superficial (FS), cultivadas com *Phragmites australis* em escala piloto. Os autores estudaram 3 diferentes taxas de carregamento hidráulico (TCH), realizando injeção contínua de EE2 e outros interferentes endócrinos. Os autores observaram que quanto maior o TCH menores foram as taxas de retenção, que ficaram entre 20 e 80%.

Chen *et al.* (2014) avaliaram a remoção de E1, E2 e E3 em uma *wetland* construída de 675 m² tratando água de rio contaminada com esgoto doméstico e rural (animais). Os autores observaram que no TDH de 27,5 horas não houve degradação dos estrogênios, com TDH de 45,9 horas as taxas de degradação foram de 0 – 46,2%, e com TDH de 137,5 horas as taxas de degradação foram de 40 – 84,3%.

Foram estudadas quatro *wetlands* de fluxo vertical com superfície de 6,2 m² cada para tratamento de EE2 e outros interferentes endócrinos por Ávila *et al.* (2014b) e Martín (2013), tratando esgoto municipal. Dois sistemas utilizavam brita como meio suporte, e outros dois utilizaram areia. A coleta foi feita por amostras compostas diárias, porém os autores não identificaram EE2 nas amostras por estar abaixo do limite de detecção operacional (LOD) de 90 ng.L⁻¹.

Tratando esgoto bruto misto (rural e residencial) pelo mesmo sistema citado anteriormente, Martín (2013) também não identificaram EE2, pois estava abaixo do LOD de 0,6 ng.L⁻¹. A autora também realizou um experimento com injeção de 1 a 5 µg.L⁻¹ de EE2 em esgoto municipal. O esgoto passava por um tanque *Imhoff*, tanque de armazenamento e seguia para três *wetlands* com 1,5 m² de superfície; as *wetlands* continham brita como meio suporte e eram cultivadas com *Phragmites australis* (MARTÍN, 2013). A autora relata que a retenção de estrogênios ficou entre 65 e 80%.

Cai *et al.* (2012) avaliou a capacidade de remoção de hormônios estrogênicos e androgênicos em águas residuais de uma fazenda com atividade leiteira por meio de *wetlands*, e suas análises mensais mostraram uma média de remoção de 95,2% estrogênios e de 92,1% de androgênios. Kumar *et al.* (2011) estudou a atenuação natural dos hormônios estriol e 17 α -etinilestradiol em três diferentes tanques, um com macrófitas flutuantes (Tanque 1), um com macrófitas emergentes e submersas integradas (Tanque 2) e um sistema com macrófitas

submersas enraizadas juntamente com microalgas (Tanque 3). Segundo o autor, o Tanque 1 se mostrou mais eficiente na remoção de estrogênios (E3 – 61,7%, EE2 – 69,1%) quando comparado ao Tanque 2 (E3 – 16,6%, EE2 – 18,5%) e ao Tanque 3, com remoções de 15,2% para E3 e 7,7% para EE2.

A eficiência de três *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis* de três profundidades diferentes, de fluxo vertical e areia como meio suporte para polimento de um efluente municipal após tratamento convencional e terciário visando remoção de estrona (E1), 17- β -estradiol e 17- α -etinilestradiol foi avaliada por Song *et al.* (2009). Melhores remoções dos hormônios citados acima foram encontradas nas *wetlands* extremamente superficiais (denominada pelos autores como ES), que possuía 7,5 cm de profundidade e TDH de 3,1 horas. Os autores relatam que a operação da *wetland* ES em condições não saturadas, alta densidade de raízes das macrófitas e manutenção das condições aeróbias na *wetland* foram as principais condições para uma boa remoção de estrogênios – tendo em vista que apenas 12% da remoção de estrogênios foi devida à adsorção dos mesmos na areia da *wetland* (Song *et al.*, 2009).

Shappell *et al.* (2007) mediram a eficácia de um sistema de tratamento através de lagoas anaeróbias juntamente com *wetlands* cultivadas com *Typha Latifolia L.*, de um efluente com baixa atividade hormonal. Os autores obtiveram uma redução da atividade estrogênica de 83 a 93%. Gray & Sedlak (2005) pesquisaram a remoção de estradiol e etinilestradiol em água de rio receptora de esgoto tratado à montante, por uma *wetland* cultivada com duas espécies de *Typha* e três de *Scirpus*. Os autores relataram remoção máxima de 41% de EE2. Na Tabela 4 é possível observar um resumo de autores que trabalharam com tratamento de interferentes endócrinos com injeção utilizando diferentes tipos de tratamento e diferentes matrizes.

Tabela 4. Principais concentrações de hormônios injetadas em experimentos.

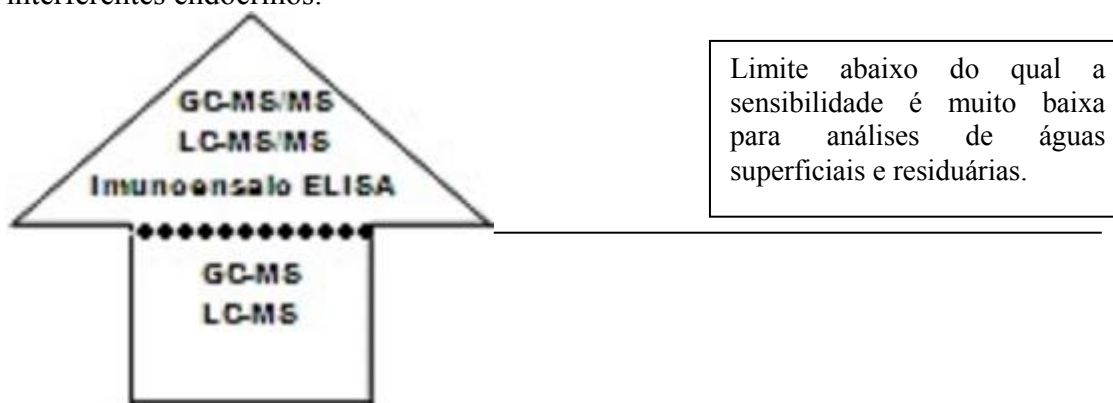
Concentrações de hormônios injetadas em experimentos piloto e de bancada			
Matriz	EE2	LNG	Autor
Esgoto municipal	1 - 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	—	Ávila <i>et al.</i> (2014) ^a
Esgoto sintético	1,5 - 3,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	—	Bernadelli (2014)
Esgoto municipal	1 - 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	—	Martín (2013)
Água deionizada/bruta	5 - 20 mg.L^{-1}	—	Peres (2012)
Água de poço	5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	—	Fernandes <i>et al.</i> (2011)
Esgoto doméstico	22 $\mu\text{g.L}^{-1}$	—	Kumar <i>et al.</i> (2011)
Água deionizada	—	180 $\mu\text{g.L}^{-1}$	Li <i>et al.</i> (2014)

4.7. Metodologias de identificação de interferentes endócrinos em águas residuárias e superficiais

Os métodos mais utilizados para identificação e quantificação de interferentes endócrinos em matrizes ambientais são cromatografia e Imunoensaio ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Dentro de cromatografia esta pode ser líquida ou gasosa, e com diversos detectores como por exemplo: UV (ultravioleta), DAD (detector de arranjo de diodos), FL (fluorescência), PID (*photoionization detector*), FID (*flame ionization detector*), MS (espectrômetro de massas, ou *mass spectrometer*), dentre outros.

O detector mais adequado para análise de interferentes endócrinos é o MS, tanto acoplado à cromatografia líquida, quanto gasosa pois possui boa detectabilidade e confirma a presença das substâncias. Além disso, a GC-MS/MS e a LC-MS/MS (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial) são técnicas com maior sensibilidade mesmo em matrizes complicadas, como lodo, solo, e plantas quando comparadas à ELISA, GC-MS (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) e LC-MS (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas), (CHAMBEL, 2011). Observa-se na Figura 4 a representação esquemática da sensibilidade e seletividade das técnicas cromatográficas.

Figura 4. Sensibilidade e seletividade das técnicas cromatográficas utilizadas para análise de interferentes endócrinos.



Fonte: Adaptado de Chambel (2011).

Grover *et al.* (2009) compararam a identificação e quantificação de estrona, estradiol e etinilestradiol em águas superficiais e residuárias pelas técnicas de GC-MS, GC-MS/MS e LC-MS/MS. Os autores relataram que a técnica GC-MS é a de mais simples manuseio, porém não é capaz de detectar estrogênios em baixas concentrações como as outras técnicas. Grover *et al.* (2009) relatam que ambas técnicas com MS/MS são extremamente

sensíveis para detecção de baixas concentrações.

Ávila *et al.* (2014a, 2014b), Martín (2013), Peres (2011), Zhao *et al.* (2010) e Grover *et al.* (2009) utilizaram GC/MS com prévia extração em fase sólida para identificar e quantificar estrogênios em águas superficiais e residuárias. Pessoa *et al.* (2014) e Atkinson *et al.* (2012) utilizaram a mesma metodologia descrita anteriormente para quantificar EE2 e outros estrogênios, e Dias (2014) utilizou a mesma metodologia para quantificar BPA, EE2 e demais hormônios. Alguns dos autores que utilizaram GC/MS realizaram derivatização da amostra antes da análise.

King *et al.* (2016) e Trinh *et al.* (2011) analisaram etinilestradiol e levonorgestrel por GC-MS/MS com prévia extração em fase sólida (concentrando 10.000 vezes a amostra). Alvarez *et al.* (2013), Andrasi *et al.* (2013), Trinh *et al.* (2011), Saravanabhavan *et al.* (2009), Grover *et al.* (2009), Gray e Sedlak (2005), Ternes *et al.* (1999a, 1999b) utilizaram a técnica GC-MS/MS para analisar hormônios com prévia extração em fase sólida. Ternes *et al.* (2002) analisaram estrogênios em lodo, por GC-MS/MS, com prévia extração líquido-líquido (ELL).

Tran & Gin (2017) analisaram 25 interferentes endócrinos, dentre eles o bisfenol A, em águas residuárias em ETE por UHPLC-MS/MS com prévia extração em fase sólida. Herrera-Melían *et al.* (2017) analisaram os compostos 17 β -estradiol, estriol, estrona, boldenona, testosterona, norgestrel (levonorgestrel), progesterona, noretisterona e prednisona em água residuária de *campus* universitário, utilizando UHPLC-MS/MS com prévia extração em fase sólida.

Jardim *et al.* (2012), Sodr e *et al.* (2010) e Diniz *et al.* (2010) analisaram BPA, EE2 e outros estrogênios em águas residuária brutas e tratadas por LC-MS/MS após extração em fase sólida. Chen *et al.* (2010), Grover *et al.* (2011a) e Grover *et al.* (2011b) utilizaram a mesma técnica para análise de EE2 e outros estrogênios, enquanto Vulliet *et al.* (2008) analisaram EE2 e LNG em águas superficiais e subterrâneas utilizando a mesma metodologia. Chen *et al.* (2014), Grover *et al.* (2009) e Shappell *et al.* (2007) utilizaram para análises de hormônios estrogênicos a mesma técnica descrita anteriormente.

Torres (2014) utilizou LC-ESI-MS/MS (cromatógrafo líquido acoplado à espectrometria de massas sequencial com fonte de ionização *electrospray*) para análise de EE2 e outros interferentes endócrinos; Pojana *et al.* (2007) utilizou HPLC-ESI-MS (cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com fonte de ionização *electrospray*) para análise de BPA e EE2.

Dai *et al.* (2017) utilizaram extração em fase sólida e HPLC-MS/MS para identificar e quantificar estrona, estradiol, etinilestradiol, bisfenol A, triclosan, 4-terc-

octilfenol e 4-nonilfenol em água residuária após tratamento secundário em ETE. Song *et al.* (2009) utilizou HPLC-MS (cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas) para o mesmo tipo de análise, também com extração SPE.

Um detector de menor custo que o MS e encontrado com mais frequência nos laboratórios de análises químicas, ambientais e de alimentos é o HPLC acoplado a detector UV, FL ou DAD, também capaz de realizar a identificação e quantificação de BPA, EE2 e LNG em amostras ambientais, porém atingindo maiores limites de detecção e quantificação.

Peng *et al.* (2014) utilizaram HPLC-DAD para analisar levonorgestrel em meios de culturas aquosos centrifugados e extraídos. Campos (2014) utilizou HPLC-DAD para quantificação de EE2 em amostras de águas residuárias com prévia extração em fase sólida; Montagner e Jardim (2011) utilizaram para análise de BPA, EE2 e LNG (dentre outros interferentes endócrinos) em águas superficiais brasileiras os equipamentos HPLC-DAD e HPLC-FL (HPLC acoplado ao detector de fluorescência), com prévia extração em fase sólida.

Froehner *et al.* (2011) utilizaram para análise de EE2 e BPA o HPLC-UV, também com prévia extração em fase sólida, enquanto Araújo (2006) utilizaram HPLC-UV e HPLC-FL para análise de EE2, LNG e outros hormônios em águas superficiais, com prévia SPE. Torres (2009) utilizaram para análise de EE2 e outros estrogênios o HPLC-DAD com a mesma metodologia de extração, já Bernadelli (2014) e Fernandes *et al.* (2011) utilizaram trabalharam com a mesma metodologia para análise de estrogênios em geral.

4.8. Toxicidade de interferentes endócrinos em águas residuárias e superficiais

Para conhecer os efeitos adversos que os interferentes endócrinos podem causar na saúde humana e dos animais não basta ter a concentração que estes compostos são encontrados no meio ambiente, também é necessário saber seus efeitos toxicológicos. Para isto é necessário saber o risco potencial por meio de bioensaios e testes ecotoxicológicos, para que assim seja realizada uma avaliação global daquela água residuária (SPINA *et al.*, 2015; MENDONÇA, *et al.* 2009).

“Toxicologia pode ser definida como o ramo da ciência que lida com substâncias tóxicas, e uma substância tóxica pode ser definida como qualquer substância que cause um efeito prejudicial quando administrada, por acaso ou intencionalmente, a um organismo vivo” (HODGSON, 2004, p. 3).

Os efeitos tóxicos das substâncias podem ser classificados como toxicidade aguda ou toxicidade crônica. A toxicidade aguda geralmente resulta em mortalidade ou morbidade, e é resultado da exposição do ser vivo à altas concentrações da substância tóxica em um curto espaço de tempo (Hodgson, 2004). Segundo o autor, a toxicidade crônica é resultado da exposição do indivíduo a baixas concentrações por um longo período, e pode resultar em problemas de saúde ao longo dos anos. O maior risco da toxicidade crônica é se a substância tóxica é lipofílica, pois irá se acumular nos tecidos adiposos dos seres vivos, podendo em algum momento resultar em toxicidade aguda (Hodgson, 2004).

De acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) algumas bactérias são capazes de emitir luminescência durante seus processos metabólicos, e a bactéria marinha *Vibrio fischeri* é uma delas. O teste de toxicidade aguda com este tipo de bactéria é um teste rápido e de fácil execução, pois em fotômetro com temperatura controlada é realizada uma medição da intensidade de luz emitida por determinado volume de bactérias liofilizadas ressuspendidas em solução salina, e a intensidade de luz da mesma quantidade de bactéria exposta a diversas concentrações de uma amostra diluída (APHA, 2005).

Spina *et al.* (2015) estudaram a redução da toxicidade de 18 interferentes endócrinos, entre eles o bisfenol A e o 17- α -etinilestradiol, em águas residuárias utilizando reações enzimáticas. As metodologias para avaliação da toxicidade utilizada pelos autores foram fitotoxicidade com *L. sativum* (agrião), inibição do crescimento da alga *P. subcapitata*, e decaimento da produção de energia luminosa pelas bactérias *Vibrio fischeri*, utilizando sistema Microtox[®]. Nenhum dos três testes de toxicidade resultou em toxicidade positiva (SPINA *et al.*, 2015).

Em 2010, Lundström *et al.* testaram a toxicidade de efluentes contaminados com hormônios e outros disruptores endócrinos provenientes de diversos tipos de tratamento em ETE, utilizando Microtox[®] com a bactéria *V. fischeri*, inibição do crescimento da micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, inibição do crescimento da macro alga *Ceramium tenuicorne*, taxa de desenvolvimento larval do crustáceo *Nitocra spinipes* e embriotoxicidade com o peixe *Danio rerio*. Somente os testes com a macro alga, o peixe e o crustáceo em fase larval resultaram em toxicidade positiva.

Mendonça *et al.* (2013) e Mendonça *et al.* (2011) avaliaram a toxicidade de águas residuárias de diversas configurações de ETE utilizando a bactéria *Vibrio fischeri*, a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, os crustáceos *Thamnocephalus platyurus* e *Daphnia magna*, e a macrófita *Lemna minor*. Mendonça *et al.* (2009) além de utilizar os bioindicadores

relatados anteriormente, também utilizou o teste Polytox[®]. Os autores relataram que a bactéria *Vibrio fischeri*, do Microtox[®] foi o organismo mais sensível nos testes de toxicidade (MENDONÇA *et al.*, 2013; MENDONÇA *et al.*, 2011; MENDONÇA *et al.*, 2009).

Ra *et al.* (2008) verificou a toxicidade de diversos produtos farmacêuticos utilizando Microtox[®] com a bactéria *V. fischeri* e o micro crustáceo *Daphnia magna*, onde *V. fischeri* se mostrou mais sensível à toxicidade dos compostos farmacêuticos do que o micro crustáceo.

Tang *et al.* (2013) utilizou bioensaios com *Vibrio fischeri* e algas para avaliar a toxicidade de água de chuva, e encontrou resultados positivos com os dois testes. Larcher *et al.* (2012) testou a toxicidade de E2 e EE2 em ratos. Por essas razões, neste trabalho foi utilizada a tecnologia Microtox[®] para análise de toxicidade.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Descrição do sistema de *wetlands*

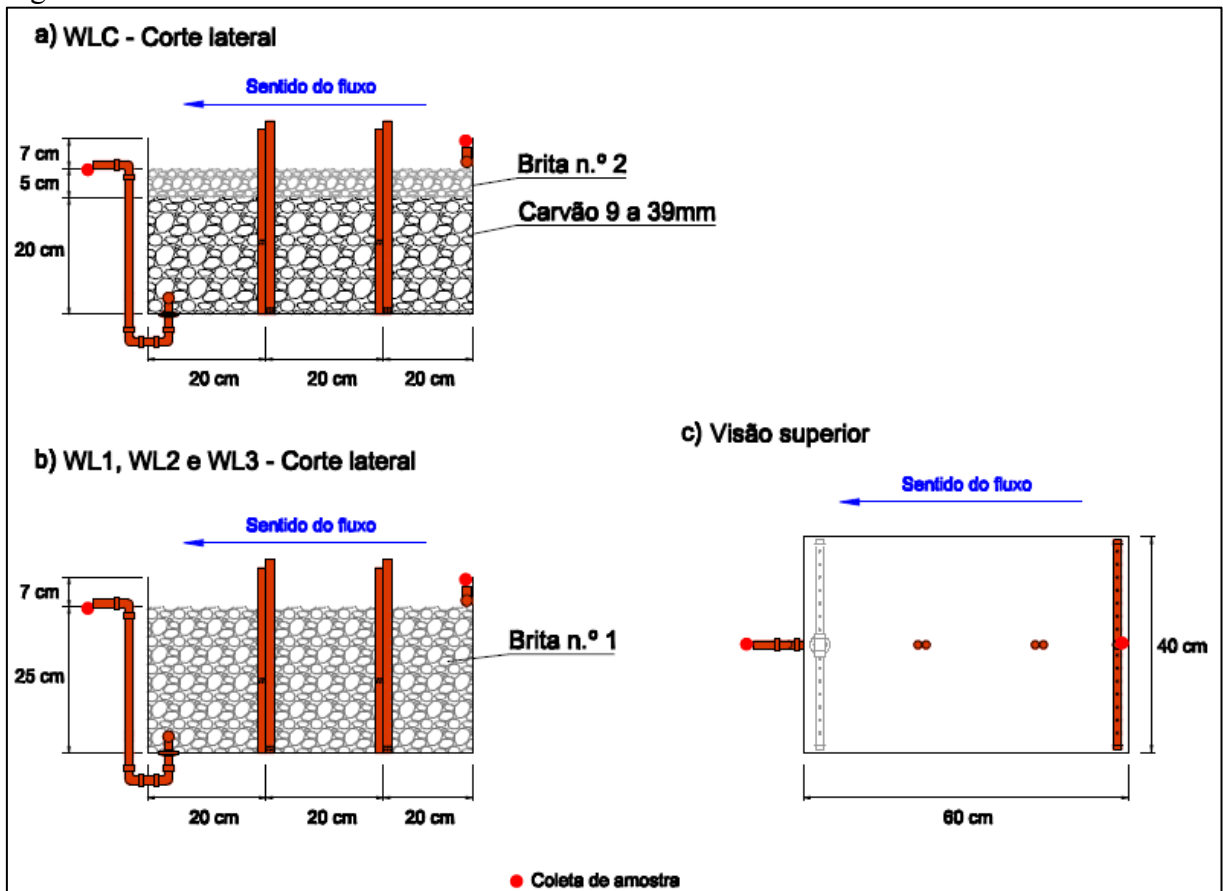
O sistema de tratamento foi instalado no Laboratório de Hidráulica e Irrigação da Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, FEAGRI/UNICAMP. Caixas de polipropileno (PP) com dimensões de 60 x 40 x 32 cm (0,06 m³ e 0,24 m² - relação 1,0:1,5) e volume de 54L foram utilizadas para confecção das *wetlands*. As instalações das *wetlands* são de fluxo subsuperficial horizontal.

Inicialmente a tubulação interna das *wetlands* foi colocada com o intuito de realizar coletas de esgoto sintético ao longo do comprimento da *wetland*, mas com o desenrolar do experimento as tubulações foram utilizadas apenas para medição de temperatura no interior das mesmas.

De acordo com Lin *et al.* (2017) o carvão de bambu, mesmo sem ativação, possui características como grande resistência mecânica, à ácidos, álcalis e calor, possui grupos químicos funcionais em sua superfície e estrutura de poros, estabilidade química, e por isso pode fornecer características de adsorção.

A *wetland* “carvão” (WLC) foi preenchida com 20 cm de carvão de bambu (*Dendrocalamus asper*) sem ativação com granulometria de 9,0 a 39,0 mm, e para que o carvão não flutuasse no esgoto sintético, a superfície foi coberta com 5 cm de brita n.º 2 (19,0 a 25,0 mm). O bambu foi coletado e transformado em carvão na FEAGRI/UNICAMP.

A *wetland* 1 (WL1), *wetland* 2 (WL2) e *wetland* 3 (WL3) utilizaram brita n.º 1 como meio suporte (9,5 a 19,0 mm). Em todas *wetlands* foram deixados na superfície 7 cm sem meio suporte. Vale ressaltar que tanto o carvão de bambu, quanto os diferentes tipos de brita que foram utilizadas como meio suporte, permaneceram os mesmos desde a instalação do experimento, não havendo troca nem lavagem do carvão e das britas. Observa-se na Figura 5 o corte de WLC (a) e de WL1/WL2/WL3 (b). Na Figura 5(c) observa-se a vista superior das *wetlands*.

Figura 5. Corte das *wetlands*.

Fonte: Figura desenhada por Julyenne M. Campos (2018).

Seis mudas (uma muda a cada $0,04 \text{ m}^2$) da macrófita *Cyperus isocladius* (Figura 6a), mais conhecido como mini-papiro, foram cultivadas no WL1 e WLC, a WL2 permaneceu apenas com meio suporte e a WL3 foi cultivada com seis mudas de *Eichhornia crassipes* (Figura 6b), mais conhecida como aguapé.

Figura 6. Macrófitas: (a) *Cyperus isocladius* (mini-papiro), e (b) *Eichhornia crassipes* (aguapé).



Fonte: Arquivo pessoal (2013).

O primeiro plantio das macrófitas foi realizado em 06 de maio de 2015, as mudas foram retiradas de *wetlands* existentes no Campo Experimental da FEAGRI/UNICAMP. O segundo plantio foi realizado em 01 de junho de 2016 utilizando aguapé proveniente das *wetlands* da FEAGRI, e as mudas de mini-papiro foram obtidas do CEASA (Centrais de Abastecimento de Campinas S.A.). Foi necessário um terceiro plantio de aguapé em 09 de fevereiro de 2017, com mudas coletadas na Lagoa dos Namorados (Americana/SP). O motivo dos replantios das macrófitas será apresentado no capítulo de “Resultados e Discussão”.

Como as *wetlands* foram instaladas em um local fechado, com pouca iluminação natural, foi necessária a instalação de lâmpadas para auxiliar na iluminação das macrófitas e do sistema. Realizou-se uma pesquisa para verificar qual o melhor tipo de lâmpada para *wetlands* em escala de bancada, e foi verificado que a lâmpada de vapor de sódio *Master SON-PIA* 400 W, *Phillips* foi a mais utilizada (SCHULTZE-NOBRE *et al.*, 2015; CHANG *et al.*, 2014; JU *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2014; RAHMAN *et al.*, 2014; WIESSNER *et al.*, 2013; LV *et al.*, 2013; RAHMAN *et al.*, 2011 e WIESSNER *et al.*, 2007). Apesar da *Master SON-PIA* ter sido a mais encontrada nos trabalhos, não foi possível utilizá-la porque sua instalação seria inviável no espaço disponível.

Lâmpadas fluorescentes de 15W foram utilizadas por Bustamante *et al.* (2011), também em *wetlands* laboratoriais, enquanto que Caselles-Osorio e García (2006) e Matamoros *et al.* (2008) utilizaram lâmpadas *Grolux*, que são lâmpadas fabricadas para horticultura mas também são utilizadas em aquários. Procurou-se lâmpadas *Grolux* mas não eram mais fabricadas, então foi utilizado uma lâmpada semelhante que será descrita abaixo.

Cada *wetland* conta com uma lâmpada LED de 18 W da marca *Philips* modelo *GreenPower* TLED DR/W MB 220-240V 50/60Hz, com fluxo de fóton de $24 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$, para favorecer o crescimento e desenvolvimento das macrófitas tendo em vista que o sistema foi instalado em um ambiente fechado, com pouca luz.

Este tipo de luz é utilizado em horticultura, e de acordo com o fabricante ela proporciona maior fator de multiplicação, melhor desenvolvimento de raízes, melhoria da taxa de sobrevivência em ambientes controlados e encurtamento do ciclo de crescimento (PHILIPS, 2015). As lâmpadas foram mantidas ligadas das 06h às 18h, diariamente, por meio de temporizador. Na Figura 7 pode-se observar uma lâmpada *GreenPower* TLED, similar à utilizada no experimento.

Figura 7. Lâmpada *GreenPower* TLED.



Fonte: PHILIPS (2015).

5.1.1. Abastecimento do sistema

Decidiu-se por utilizar esgoto sintético de baixa carga orgânica ao invés de utilizar esgoto *in natura* para que fosse possível ter uma composição conhecida de matéria orgânica e nutrientes durante todo o experimento, e também para eliminar possíveis interferentes e altas concentrações de sólidos suspensos visando facilitar, assim, a identificação dos interferentes endócrinos nas amostras.

Um reservatório de 150 L foi utilizado para armazenar o esgoto sintético. Quatro bombas dosadoras com filtro para retenção de sólidos na extremidade bombearam o esgoto sintético para as quatro *wetlands*. Todas as bombas eram da marca *Injetronic* e com vazão máxima de $1,5 \text{ L.h}^{-1}$, porém duas delas tinham pressão de 13 bar e outras duas de 4 bar, o que não interferia no processo de bombeamento.

O esgoto sintético entrava por meio de uma tubulação de $\frac{1}{2}$ polegada perfurada com o intuito de distribuir o afluente. A saída da água residuária das *wetlands* também era realizada em tubulação perfurada. Na Figura 8 observa-se a tubulação perfurada afluente e efluente da *wetland*, e a WLC após a colocação da primeira camada de carvão.

Figura 8. Tubulações perfuradas nas *wetlands*.



Fonte: Arquivo pessoal (2015).

Antes do plantio das macrófitas, iniciou-se o abastecimento com esgoto sintético descrito por Matamoros *et al.* (2008). Após algum tempo de abastecimento pensou-se que talvez fossem necessários micronutrientes para o desenvolvimento adequado das macrófitas, então optou-se pelo esgoto sintético utilizado por Prochaska e Zouboulis (2006) que, segundo os autores, correspondia a um esgoto municipal de carga média com relação C:N:P de 200:50:8. A composição deste esgoto sintético está descrita na Tabela 5.

Tabela 5. Esgoto sintético utilizado no experimento.

Componente	Concentração (mg.L ⁻¹)
Peptona	160
Extrato de carne	110
Glicose	200
Cloreto de sódio	7
Cloreto de amônio	57
Cloreto de cálcio	4
Sulfato de magnésio	2
Fosfato de hidrogênio dipotássico	38

Fonte: Adaptado de Prochaska e Zouboulis (2006).

Para realização do abastecimento, os reagentes eram diluídos em béquer de 4L com água destilada e permaneciam por aproximadamente 1 hora sob agitação em agitador magnético, para homogeneização. Passado esse momento os 4L de esgoto sintético eram diluídos em água de torneira no reservatório, até completar o volume de 120L.

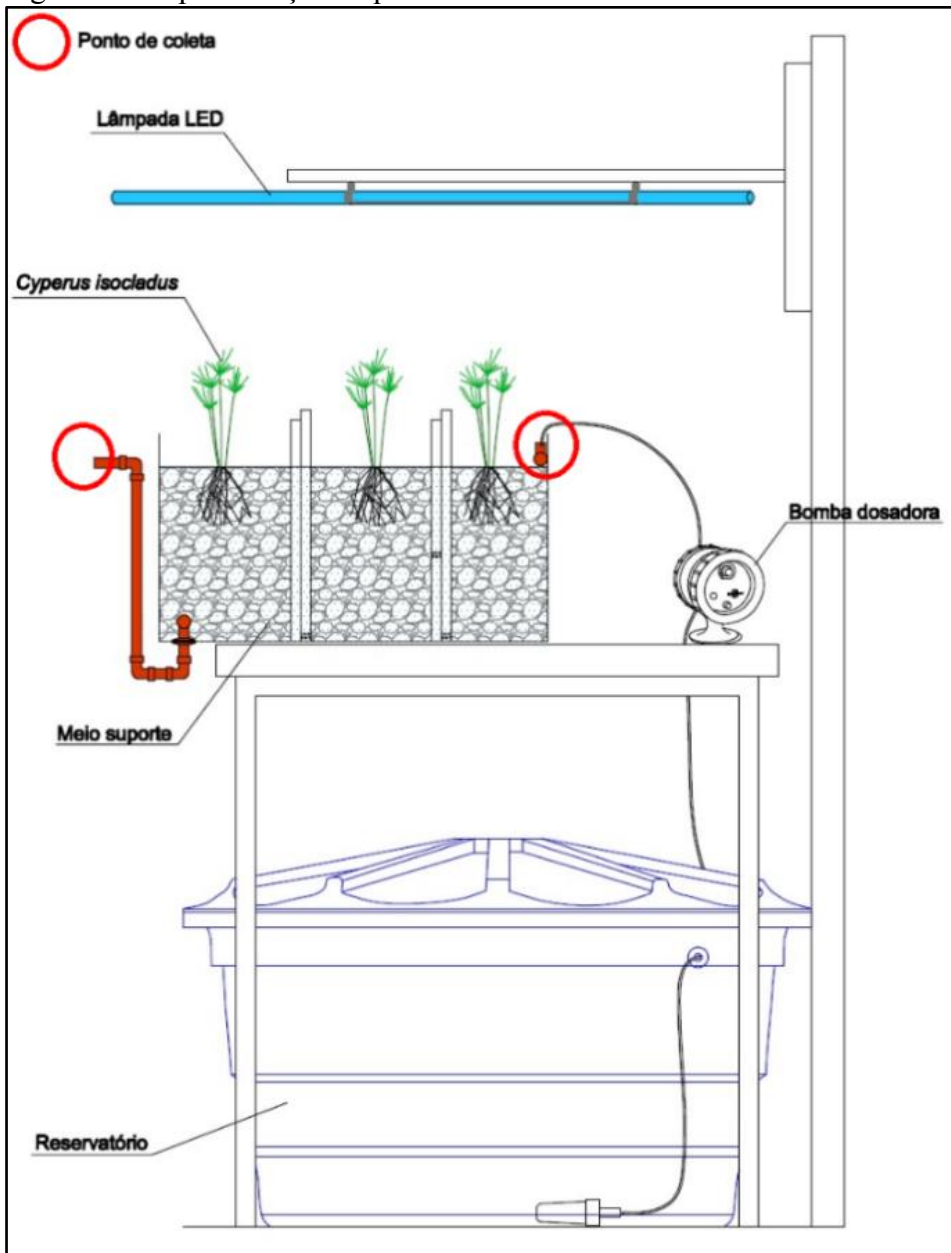
Foram colocadas telas mosquiteiras nas tubulações intermediárias com o intuito de evitar proliferação de mosquitos. Na Figura 9 é possível observar as *wetlands* com mini-papiro (a) e aguapé (b), e na Figura 10 pode-se observar uma representação esquemática de uma unidade do sistema de tratamento com seus respectivos pontos de coleta de amostras. Na Figura 11 observam-se as tubulações perfuradas (citadas anteriormente) na foto que foi tirada no dia do plantio do aguapé (a), e em (b) é possível observar o sistema de tratamento instalado.

Figura 9. WLC e WL1 cultivadas com mini-papiro (a) e WL3 cultivada com aguapé (b).



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Figura 10. Representação esquemática de uma unidade do sistema de tratamento.



Fonte: Figura desenhada por Julyenne M. Campos (2015).

Figura 11. Detalhe das tubulações que foram colocadas a cada terço da caixa (a) e sistema de tratamento completo (b).



Fonte: Arquivo pessoal (2015).

5.2. Interferentes endócrinos utilizados

Os interferentes endócrinos escolhidos foram bisfenol A, etinilestradiol e levonorgestrel, pelos motivos citados na revisão bibliográfica. Para adição de EE2 e LNG foram utilizadas pílulas anticoncepcionais maceradas, da marca *Ciclo 21*, e o BPA adicionado possuía pureza de 97% e era da marca *Sigma-Aldrich*. Os compostos foram adicionados ao esgoto sintético em duas faixas de concentração diferentes, alta e baixa, para verificar se ocorreriam diferenças entre as taxas de retenção entre as duas faixas de concentração. A faixa de concentração baixa foi de 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para EE2 e BPA, e 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para LNG. A concentração alta consistiu de concentrações cinco vezes maior, 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para EE2 e BPA e 500 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para LNG.

As faixas de concentração escolhidas foram maiores do que as concentrações encontradas nos corpos d'água para que pudessem ser calculadas as taxas de retenção dos compostos, uma vez que ao trabalhar com concentrações na faixa de ng.L^{-1} , na saída do sistema estas poderiam estar abaixo do limite de detecção do método cromatográfico, não sendo possível calcular exatamente quando a *wetland* reteve dos IE.

5.3. Parâmetros monitorados nas *wetlands*

Com o intuito de elucidar os mecanismos de retenção de interferentes endócrinos nas *wetlands*, os parâmetros avaliados foram separados nas diferentes zonas das *wetlands*:

- **Esgoto sintético:** amostragem do esgoto, análises cromatográficas de interferentes endócrinos, toxicidade aguda, análise de parâmetros físico-químicos e quantidade de esgoto sintético;
- **Macrófitas:** teor de umidade, absorção de nutrientes, análise cromatográfica de interferentes endócrinos no tecido vegetal, e análises microbiológicas e isolamento de micro-organismos (m.o.) das raízes das macrófitas;
- **Meio suporte:** análises microbiológicas e isolamento de micro-organismos da brita e do carvão de bambu, análises físico-químicas do carvão de bambu, e ensaios de adsorção dos interferentes endócrinos de interesse no carvão de bambu.

Os parâmetros físico-químicos no esgoto sintético, e o teor de umidade e absorção de nutrientes nas macrófitas foram análises realizadas apenas para controle do sistema, e por isso as metodologias de realização dos ensaios e os resultados obtidos estão apresentados nos Apêndices 3 e 4 (parâmetros físico-químicos) e Apêndices 5 e 6 (teor de umidade e absorção

de nutrientes).

5.3.1. Esgoto sintético

5.3.1.1. Amostragem do esgoto sintético

A primeira fase de amostragem ocorreu de agosto à setembro de 2016, e a segunda fase no período de fevereiro à março de 2017, ambas realizadas de acordo com o planejamento experimental (item 4.6). Desde antes do início da coleta das amostras e até a retirada das macrófitas e finalização do experimento as *wetlands* foram continuamente abastecidas com esgoto sintético, sem interrupção.

Os interferentes endócrinos foram adicionados ao esgoto sintético somente no período de amostragem, fora desse período o sistema foi alimentado com esgoto sintético sem interferentes endócrinos. Primeiramente adicionou-se a concentração baixa de IE na vazão do TDH de 2 dias, e após 2 dias a coleta de amostras era iniciada; em seguida a vazão foi alterada para o valor do TDH de 4 dias e após 4 dias a coleta de amostras foi iniciada. Após a fase de concentração baixa com ambos TDH adicionou-se a concentração alta na vazão do TDH de 2 dias, e então procedeu-se a coleta de amostras e mudança de TDH da mesma maneira que na fase de baixa concentração. Vale ressaltar que no período de setembro/2016 (término da primeira campanha de coleta) a fevereiro/2017 (início da segunda campanha de coleta) o sistema foi abastecido com esgoto sintético livre de IE.

Foram anotadas as vazões afluente e efluente a cada hora nos dias de coleta, e coletada uma amostra do afluente, e uma amostra do efluente de cada *wetland*, que foram acondicionadas em frascos âmbar. Apesar do esgoto sintético ser o mesmo e estar na mesma caixa d'água, devido às diferentes bombas e mangueiras de cada *wetland*, a amostra de entrada foi composta por um quarto do volume total da amostra final, das amostras de esgoto coletadas de cada uma das quatro *wetlands*.

Para análises físico-químicas foi coletado 500mL de amostra, para análises cromatográficas foi coletado 1L de amostra, e para análises toxicológicas foi coletado 15mL e foram armazenados em tubos de polipropileno estéril, tipo *Falcon*. As análises foram realizadas no mesmo dia, ou eventualmente armazenadas em temperatura de 4°C até o prazo máximo de 24 horas, de acordo com APHA (2005).

5.3.1.2. Interferentes endócrinos no esgoto sintético

As análises foram realizadas no Laboratório de Resíduos e Contaminantes (LRC) da Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna/SP). Os padrões cromatográficos de d(-)-norgestrel ($\geq 99\%$), etinilestradiol ($\geq 99,7\%$) e bisfenol A ($\geq 97\%$) foram adquiridos da empresa *Sigma-Aldrich*. As amostras foram transportadas da UNICAMP até a Embrapa sob refrigeração.

As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) *Shimadzu Class VP* constituído de sistema de injeção automática, bomba de alta pressão, forno para coluna e detector de ultravioleta (UV) modelo SPD-10AV (Figura 12a), no ano de 2016. Em 2017 foi utilizado o cromatógrafo líquido UFLC (*ultra fast liquid chromatography*) *Shimadzu*, com sistema de injeção automática, bomba de alta pressão, forno para coluna e detector de arranjo de diodos (DAD) modelo SPD-M20A (Figura 12b). A separação cromatográfica foi realizada utilizando a mesma coluna em ambos cromatógrafos, a qual foi do tipo C18 da marca *Phenomenex Gemini*, $5\mu\text{m}$, C18, 110 A, 250 x 4,6 mm.

Figura 12. Cromatógrafos utilizados para quantificação de interferentes endócrinos: *Shimadzu Class VP* (a) e UFLC *Shimadzu* (b).



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

O método analítico utilizado foi o descrito por Campos *et al.*, (2017), no qual utilizou-se como fase móvel acetonitrila (grau HPLC) e água ultrapura, obtida de um sistema *Milli-Q* (modelo Advantage A10, *Millipore*), na proporção de 50:50, v/v, no modo isocrático. Na mesma corrida foi possível quantificar os três compostos, com fluxo de $0,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de fase móvel, volume de injeção de $50 \mu\text{L}$ de amostra, detecção nos comprimentos de onda de

280nm para BPA, 280nm para EE2 (*Shimadzu Class VP*), 210 nm para EE2 (*UFLC Shimadzu*), e 254nm para LNG.

A etapa de extração em fase sólida (EFS) foi realizada de acordo com Campos *et al.* (2017). Assim, um volume de 500mL de amostra (de entrada ou saída do sistema), previamente filtrada em papel qualitativo (diâmetro de poro de 8 μ m) e em filtro de fibra de vidro com diâmetro de poro de 1,2 μ m, foram percoladas em um cartucho de EFS HypersepTM Retain PEP da marca *Thermo Scientific* (6 mL e 250 mg) em *Manifold*, utilizando bomba à vácuo *Dial Pump* e *Tecnal*. Os cartuchos foram ativados com 5 mL de metanol e 7 mL de acetonitrila, e condicionados com 5 mL de água ultrapura. Observa-se na Figura 13 a etapa de extração em fase sólida.

Figura 13. Extração em fase sólida das amostras de esgoto sintético.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

A vazão da amostra no cartucho foi de 1 a 2 mL.min⁻¹. Após todo o volume passar pelo cartucho, foi realizado um processo de *clean-up* com 10 mL de metanol em água 15% (v/v). Os cartuchos foram secos à vácuo por 15 minutos, e os compostos foram eluídos com 5 mL de metanol (grau HPLC) e 5 mL de acetonitrila (grau HPLC), proporcionando uma concentração de 50 vezes da concentração de interferentes endócrinos na amostra (500 mL de amostra se transformou em 10 mL no final). O volume final foi ajustado para 10 mL em balão volumétrico, filtrado em filtro de PTFE com 0,22 μ m de diâmetro de poro em vials de 2 mL de vidro âmbar, e então injetados no mesmo dia no HPLC. Todas as injeções foram realizadas em triplicata.

5.3.1.2.1. Validação do método cromatográfico

Por ainda não existir uma metodologia oficial para análise de interferentes endócrinos em águas residuárias por HPLC com detector ultravioleta, se fez necessário a realização de alguns ensaios para testar o método analítico proposto e o equipamento que utilizado, antes que fossem realizadas as análises das amostras e reportados seus resultados.

Para isso, foi utilizado para validação do método cromatográfico o DOQ-CGCRE-008 “Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos”, revisado em junho de 2007, do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). A concentração de interferentes endócrinos em águas residuárias e superficiais são na faixa de $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e ng.mL^{-1} , consideradas como concentrações “traço”, e os parâmetros de validação que devem ser avaliados para análise de traços são especificidade e seletividade, linearidade e faixa linear de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária) e robustez (INMETRO, 2007).

A especificidade foi avaliada de maneira visual ao comparar um cromatograma da matriz (esgoto sintético) sem os analitos (amostra branco), com um cromatograma da matriz com os analitos (amostra fortificada), com o objetivo de verificar a existência de alguma substância interferente que saísse no mesmo tempo de retenção que os analitos. A avaliação do efeito matriz fora realizada pela injeção de duas curvas analíticas com diferentes concentrações dos compostos, uma diluída na fase móvel e outra no extrato da matriz de esgoto sintético previamente extraído. As duas curvas foram comparadas, e então foram aplicados os testes *F* de homogeneidade de variância e *t* de *Student* (comparação de médias) utilizando o *Microsoft Excel*, com nível de confiança de 95% e 20 graus de liberdade.

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) operacional (do HPLC) foram obtidos a partir da injeção de soluções de BPA, EE2 e LNG diluídas sucessivamente em fase móvel, observando qual a menor concentração dos analitos que seria identificada pelo equipamento, com precisão e exatidão aceitáveis. A concentração que correspondeu a um coeficiente de variação (CV) menor que 20% foi considerada o limite de quantificação, e o menor ponto identificado com CV maior que 20% e com relação de área de sinal/ruído igual a 3 foi considerado o limite de detecção. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método foram obtidos da mesma maneira, porém levando-se em consideração o fator de concentração de 50 vezes.

A linearidade e a faixa linear de trabalho foram avaliadas pela equação da regressão linear dos compostos, observando-se também a distribuição dos resíduos por meio

de estatística utilizando Análise de Variância (ANOVA), de acordo com INMETRO (2007). Para o levonorgestrel a curva possuía nove pontos, variando de 0,025 a 30,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Para BPA e EE2 as curvas eram compostas de 8 pontos, variando de 0,025 a 15,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Cada ponto das curvas analíticas foi injetado três vezes.

O ensaio de exatidão do método foi avaliado por meio de ensaios de recuperação. Adicionou-se concentrações conhecidas dos analitos em amostras de esgoto sintético sem os mesmos nos níveis de concentração baixa, média e alta. A precisão foi obtida através da determinação do coeficiente de variação das replicatas no mesmo dia (repetitividade) e em dias diferentes (precisão intermediária). O nível baixo foi 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, o médio 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e o alto 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para BPA e EE2, enquanto que para LNG o nível baixo foi também 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, o médio 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, e o alto 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, devido ao fato deste composto estar em maior quantidade na pílula anticoncepcional utilizada no experimento. Após a adição dos analitos, as amostras foram processadas de acordo com a metodologia de análise (filtração prévia, extração em fase sólida, etc.) e injetadas no cromatógrafo no mesmo dia, em triplicata.

Pelo fato das amostras do ensaio de recuperação terem sido processadas e injetadas no mesmo dia, esses valores puderam ser considerados como repetitividade (SANCO, 2009). A precisão intermediária foi obtida ao longo do tempo, junto com as análises das amostras do experimento e os valores de recuperação. A robustez foi avaliada por meio de pequenas variações de fase móvel, e temperatura da sala de preparo de amostras.

5.3.1.3. Toxicidade do esgoto sintético

A análise de toxicidade aguda (EC 50 = 5 e 15 minutos) do esgoto sintético contendo hormônios e BPA foi realizada seguindo a norma NBR 15411:2012-3 (ABNT, 2012), no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Agrícola (FEAGRI) da UNICAMP, em equipamento Microtox® (*Model 500 Analyser*), utilizando bactérias liofilizadas. Os resultados e a curva dose resposta foram calculados com auxílio do *Software Microtox Omni*®.

O presente ensaio utilizou uma cultura liofilizada da bactéria *Vibrio fischeri* NRRLB-11177 com 108 células de bactérias em cada ampola. A reativação de bactérias é realizada com tampão de reativação (solução com salinidade e minerais necessários para bactéria) inicialmente a uma concentração de 10⁶ células de bactérias em 1,5mL, e mantida em cubeta previamente ambientada à 4°C (BROTA, 2012; SILVA, 2014).

Da suspensão concentrada de bactérias uma alíquota de 100 μL é adicionada à 10

cubetas previamente ambientadas a 15°C, onde posteriormente as bactérias foram expostas à amostra bruta (diluição de 81,9%), às 8 diluições da amostra, e à solução controle (“branco”) de cloreto de sódio 2%. A luminescência é medida na cubeta só com bactéria, após 5 e 10 minutos de exposição da bactéria às amostras diluídas e ao controle. O grau de perda de luz entre a amostra controle (solução salina) e as amostras ambientais diluídas indicará o grau de toxicidade da amostra, e então será realizada uma curva de dose-resposta com definição do EC50, que é a concentração de inibição de 50% dos organismos expostos às amostras (APHA, 2005). Observa-se na Figura 14 o equipamento Microtox® (*Model 500 Analyser*).

Figura 14. Microtox® (*Model 500 Analyser*).



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

A coleta e preservação das amostras seguiu a norma NBR 15469:2007 (ABNT, 2007). A coleta foi realizada em frascos de polipropileno (tubos tipo Falcon) e congeladas imediatamente após a coleta. Os ensaios toxicológicos foram realizados em um prazo inferior a 30 dias.

5.3.1.4. Quantidade de esgoto sintético

O monitoramento da quantidade de esgoto foi realizado no Laboratório de Hidráulica e Irrigação (FEAGRI/UNICAMP) onde estava instalado o experimento. A seguir estão descritas as metodologias que foram utilizadas para as análises:

- Vazão do esgoto sintético (Q): a vazão de esgoto foi medida na entrada (afluente) e na saída (efluente) das *wetlands*. Foi utilizado o “método direto”, utilizando uma proveta graduada para medir o volume de esgoto em um minuto (por meio de cronômetro digital *Unilab*), obtendo assim a vazão de esgoto em mL.min⁻¹. Durante a fase experimental a vazão foi monitorada três vezes ao dia, e durante a coleta das amostras a vazão foi medida a cada 30 minutos;

- Tempo de detenção hidráulico (TDH): o tempo de detenção hidráulico é dado pelo volume total diário de esgoto que entra na *wetland*, dividido pela vazão máxima diária. Para saber o volume máximo armazenado na *wetland* é necessário conhecer a porosidade da mesma, e então foi realizado o ensaio de índice de vazios. No ensaio utilizou-se uma proveta graduada de 1000 mL que primeiramente foi preenchida com brita n.º 1 (9,5 a 19,0 mm), e depois completada com água até a marca de 1000 mL. Essa água foi colocada em outra proveta de 1000 mL, e então foi possível calcular o volume que a brita n.º 1 ocupou na primeira proveta. Esse procedimento repetiu-se colocando carvão de bambu (9,0 a 39,0 mm) com brita n.º 2 na proveta. O procedimento foi repetido três vezes para cada *wetland*, sempre mexendo o meio suporte para que mudasse de posição e foi tirada a média; assim, com o volume de brita calculada para 1000 mL foi calculado o volume que a brita n.º 1 ocupava em cada *wetland*, sabendo assim qual o volume útil da mesma. Os TDH escolhidos para serem avaliados nesta pesquisa foram 2 e 4 dias (o dobro do primeiro), com o objetivo de verificar se o aumento do TDH aumentaria a retenção dos interferentes endócrinos., tendo em vista que quanto menor o TDH trabalhado são requeridas menores áreas de implantação, o que reduz o custo de implantação das *wetlands*.

5.3.2. Macrófitas

As análises das macrófitas foram realizadas ao final do experimento, após ter sido encerrada a coleta de amostras de esgoto sintético. As macrófitas foram retiradas das *wetlands* apenas uma vez, quando o experimento foi finalizado.

5.3.2.1. Interferentes endócrinos no tecido vegetal

A análise de interferentes endócrinos no tecido vegetal foi realizada no LRC da Embrapa Meio Ambiente. Para a realização deste ensaio as amostras foram previamente secas em estufa (marca FANEM, modelo 320-SE) à 65°C até peso constante, de acordo com metodologia descrita por BOARETTO *et al.* (2009), e foram trituradas em moinho de facas no Laboratório de Resíduos e Contaminantes (Embrapa Meio Ambiente).

Pesou-se 2 gramas de amostra (1,5 gramas da parte aérea e 0,5 grama da raiz) em frasco erlenmeyer de vidro de 125mL com tampa. Foram colocados na amostra 15mL de metanol (grau HPLC/UV) e 15 mL de acetonitrila (grau HPLC/UV), então os frascos foram colocados em agitador orbital com temperatura controlada de 25°C e vidro com proteção

ultravioleta. As amostras permaneceram sob agitação em incubadora refrigerada da marca *Tecnal* (TE-424) com agitação à 200 rpm por 2 horas.

Após período de agitação, as amostras foram filtradas em sistema à vácuo com membrana de fibra de vidro com diâmetro de poro de 1,2 μ m. As paredes do sistema de filtração e a macrófita sobre o filtro foram lavadas com acetonitrila, recolhendo-se 50mL de solvente filtrado. Avolumou-se os 50mL de solvente para 500mL com água *Milli-Q*, e a extração em fase sólida ocorreu de acordo com o descrito por Campos *et al.* (2017), exceto pelo fato do *clean-up* ser realizado com 15mL de água *Milli-Q* ao invés de 15mL de metanol 15% em água. O volume de eluição foi menor do que na metodologia do esgoto sintético, sendo 1,5mL de metanol (grau HPLC/UV) e 1,5 mL de acetonitrila (grau HPLC/UV). As amostras foram filtradas e injetadas em triplicata no mesmo dia.

A análise cromatográfica foi adaptada de Campos *et al.*, (2017), no qual utilizou-se como fase móvel acetonitrila (grau HPLC) e água ultrapura, obtida de um sistema *Milli-Q*[®] (modelo Advantage A10, *Millipore*). No início a corrida cromatográfica ocorria na proporção de 50:50, v/v, no modo isocrático, por 21 minutos, mas após a passagem de algumas amostras verificou-se que apesar de todo o preparo e limpeza da amostra ela estava sujando a coluna, e aumentando consideravelmente a linha base. Então optou-se por fazer uma corrida de 40 minutos nos quais até 20 minutos a proporção se mantinha de 50:50 (v/v), ia para 95% de acetonitrila em 22 minutos e permanecia até 30 minutos, caindo para 70% em 31 minutos e 50% em 33 minutos, de modo que após a passagem da amostra ocorresse uma limpeza da coluna e dos detectores.

As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) *Shimadzu Class VP* constituído de sistema de injeção automática, bomba de alta pressão, forno para coluna e detector de fluorescência modelo RF-10AXL. A separação cromatográfica foi realizada utilizando a mesma coluna utilizada nas análises de esgoto (tipo C18 da marca *Phenomenex Gemini*, 5 μ m, C18, 110 A, 250 x 4,6 mm). Na mesma corrida foi possível quantificar EE2 e BPA, com fluxo de 0,8 mL.min⁻¹ de fase móvel e volume de injeção de 50 μ L de amostra.

A validação do método cromatográfico foi realizada para as duas plantas (aguapé e mini-papiro) separadamente, utilizando-se plantas isentas dos IE's de interesse. Os parâmetros de validação foram especificidade e seletividade, linearidade e faixa linear de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária) e robustez (INMETRO, 2007). Observa-se na Figura

15 a etapa de extração em fase sólida das amostras de tecido vegetal, e de uma amostra “branco” – sem fortificação.

Figura 15. Extração em fase sólida das amostras diluídas de tecido vegetal.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

5.3.2.2. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas das raízes das macrófitas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Ambiental (LMA) da Embrapa Meio Ambiente, pela metodologia de contagem total de colônias bactérias e fungos (Unidades Formadoras de Colônia - UFC), tendo como base o artigo de He *et al.* (2014). O objetivo da realização destas análises foi verificar se a quantidade e diversidade de colônias de micro-organismos cultiváveis aderidos às raízes das macrófitas das *wetlands* eram diferentes.

Foram coletadas macrófitas da parte central das *wetlands* e pesadas 1 grama em balança analítica, com chama ao lado para evitar contaminação externa. Em fluxo laminar estas raízes foram colocadas em frascos reagente de 25mL, previamente autoclavados com 9mL de solução salina (cloreto de sódio, NaCl, 9% em água). As amostras permaneceram sob agitação em mesa agitadora orbital (*Marconi*, MA120) por 4 horas, e então foram mantidas em geladeira até a realização das análises.

Os meios de cultura utilizados foram o “meio de Martin”, para contagem de colônias de fungos, e o “meio extrato de carne e peptona” foi utilizado para contagem de colônias de bactérias. A composição dos meios continha componentes semelhantes ao do esgoto sintético utilizado, e estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Composição dos meios de cultura utilizados.

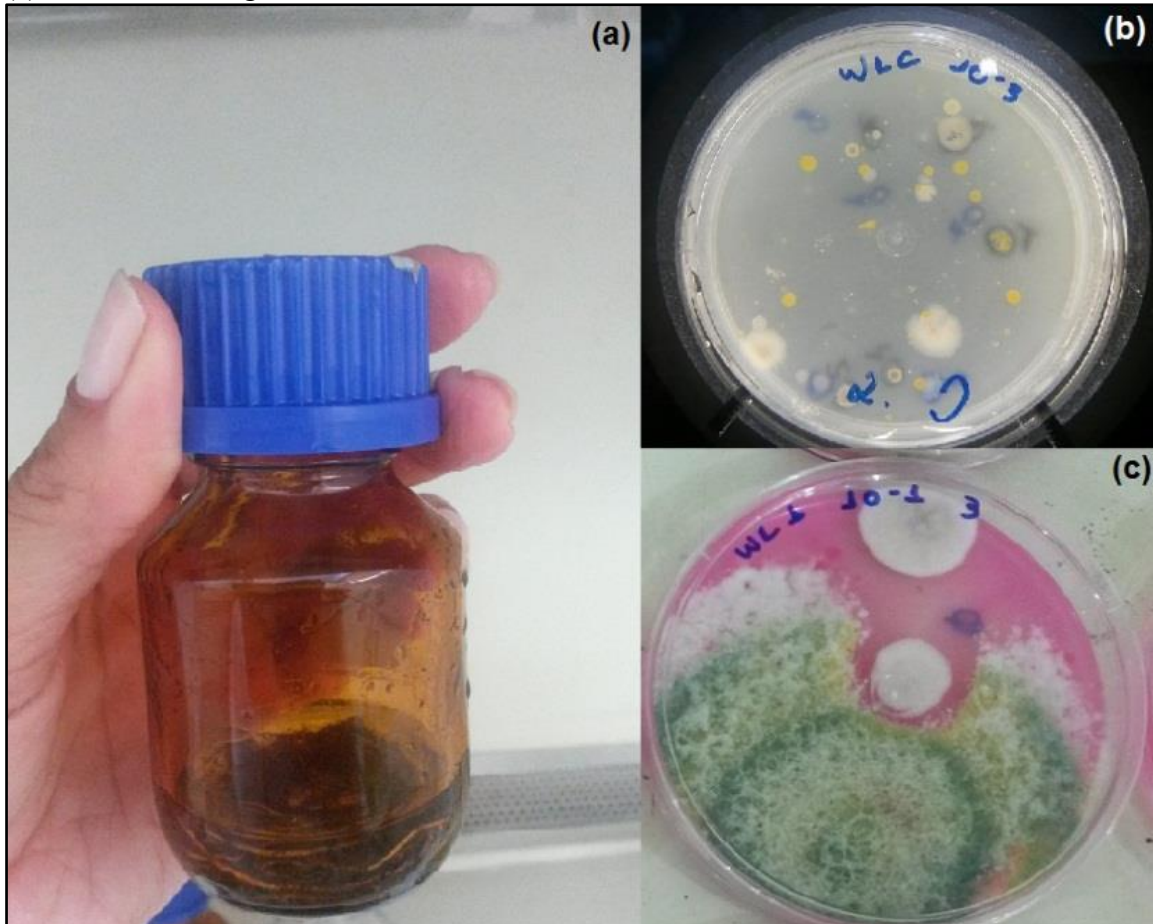
Meio de extrato de carne e peptona - Bactérias	
%	Componente
0,05	Extrato de carne
0,05	Peptona bacteriológica
0,03	Cloreto de sódio
0,05	Nistatina
2,00	Ágar bacteriológico
Meio de Martin - Fungos	
%	Componente
1,000	Glicose
0,500	Peptona bacteriológica
0,100	Fosfato dipotássico
0,050	Sulfato de magnésio heptahidratado
0,003	Rosa bengala
0,030	Streptomicina
2,000	Ágar bacteriológico

Os meios de cultura foram preparados com água destilada e autoclavados à 121,1°C por 20 minutos, e colocados em placas de Petri plásticas em fluxo laminar previamente esterilizado. Também foram autoclavados tubos de ensaio com tampa, contendo 9mL de solução salina. Diluições seriadas foram realizadas transferindo-se 1mL da amostra com a raiz (10^{-1}) para os tubos de ensaio, até a diluição 10^{-6} . As diluições foram plaqueadas em triplicata, transferindo-se 100µL de cada diluição para as placas contendo o ágar, e espalhando a amostra com a alça de *Drigalski*.

O mesmo procedimento foi realizado para bactérias e fungos, e as placas foram incubadas em estufa à 30°C, no escuro. A contagem foi realizada em contador de colônias, após 2 dias para bactérias e 3 dias para fungos. Observa-se na Figura 16 a coleta de amostra

de raiz em solução salina (a), uma placa com colônias de bactérias no contador de colônias da amostra WLC (b), e uma placa com colônias de fungos da amostra WL1 (c).

Figura 16. Análises microbiológicas: (a) coleta de amostra de raiz, (b) colônias de bactérias e (c) colônias de fungos.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

5.3.2.2.1. Isolamento de micro-organismos cultiváveis

Para quantificar o número de bactérias e fungos em cada amostra das *wetlands*, foi realizado o isolamento de cada tipo distinto encontrado nos tratamentos. Esses micro-organismos foram assinalados e inicialmente repicados em seu meio de cultura original (meio de Martin ou extrato de carne/peptona), mas ao final do experimento foi utilizado um meio de cultura mais genérico, o ágar batata-dextrose – também conhecido como PDA (*potato dextrose agar*). Todos os materiais utilizados foram autoclavados ou esterilizados, e todos os procedimentos de isolamento foram realizados em fluxo laminar previamente esterilizado.

5.3.2.2.1.1. Isolamento e preservação de bactérias

Para realizar o isolamento pegou-se a bactéria que estava assinalada na placa de determinada *wetland* com auxílio de uma alça de transferência previamente flambada, e foram realizadas estrias na placa de Petri contendo ágar com o intuito que no fim das mesmas fosse possível obter colônias de bactérias isoladas. Após estriamento as placas eram incubadas no escuro à 30°C, e o crescimento das colônias era acompanhado diariamente. Esse procedimento foi repetido sucessivamente para cada colônia de bactéria, até que fossem obtidas colônias isoladas das mesmas.

A preservação dos micro-organismos foi realizada em frascos criogênicos contendo solução de glicerol 20% em água, de acordo com o POP (Procedimento Operacional Padrão) “CMAA-02: Preservação de micro-organismos”, da Embrapa Meio Ambiente. Os tubos foram autoclavados de 2 a 3 vezes, e foram colocadas 3 alçadas de colônias de bactérias (após esterilização e resfriamento da alça) em cada tubo criogênico (flambando-se a boca do tubo na abertura e no fechamento do mesmo). A preservação foi realizada em triplicata, e armazenada em freezer à -20°C.

5.3.2.2.1.2. Isolamento e preservação de fungos

Primeiramente foi observado em microscópio, e assinalado nas respectivas placas de Petri as colônias de fungos que eram diferentes em cada tratamento. Todos os materiais utilizados para repicagem foram previamente autoclavados ao menos 2 vezes, e o meio de cultura utilizado foi o PDA.

Com um palito de madeira esterilizado pegou-se um pequeno fragmento das colônias de fungo que haviam sido assinaladas, e colocou-se o fragmento no centro da placa de Petri com PDA. Esse procedimento foi realizado para todos os fungos até que as culturas ficassem puras, ou seja, sem contaminação de bactérias ou outro tipo de fungo. As placas de Petri foram deixadas à temperatura de 25°C no escuro, e o crescimento e pureza dos fungos foram observados ao longo do tempo.

A preservação dos fungos teve como base os descritos por Castellani (1964). Quando o fungo estava com tamanho suficiente para preservá-lo, com auxílio de um canudo plástico foram cortados 12 discos da extremidade do fungo, contendo ágar embaixo do mesmo. Com auxílio de palitos de madeira colocou-se 6 discos de “fungo + ágar” em cada frasco estéril de penicilina contendo água destilada (também estéril) com auxílio de um palito

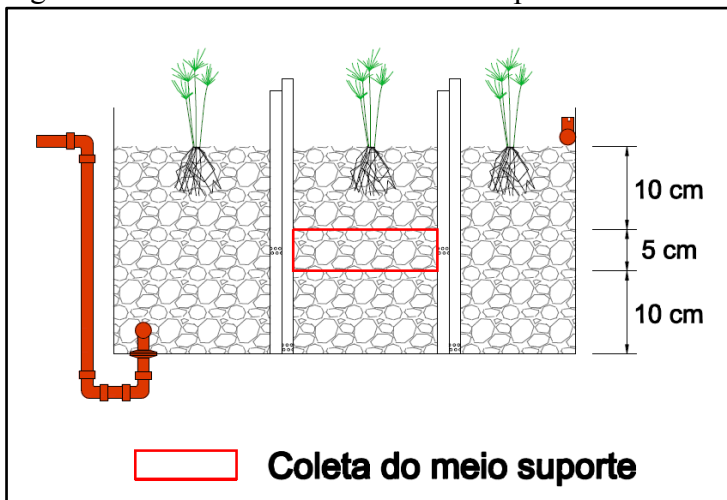
de madeira. Os frascos foram fechados com tampa de borracha (tampa de butila) e selados com lacre metálico. Os frascos foram armazenados à temperatura ambiente, no escuro. A cultura tem viabilidade mínima de 1 ano após a preservação (Castellani, 1964).

5.3.3. Meio suporte

5.3.3.1. Análises microbiológicas

O objetivo da realização destas análises foi verificar se a quantidade e diversidade de colônias de micro-organismos cultiváveis aderidos ao meio suporte das *wetlands* eram diferentes. As análises microbiológicas dos meios suportes das *wetlands* também foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Ambiental da Embrapa Meio Ambiente, pela metodologia de contagem total de bactérias e fungos (Unidades Formadoras de Colônia - UFC), tendo como base o artigo de He *et al.* (2014). Para realizar a amostragem mediu-se a altura e o comprimento do meio suporte nas caixas, e as amostras foram coletadas na região central do meio suporte, com intuito de que aquela mostra representasse o todo, conforme Figura 17.

Figura 17. Ponto de coleta dos meios suporte nas *wetlands* laboratoriais.



Fonte: Figura desenhada pela autora (2017).

Pesou-se 10 gramas de cada meio suporte em balança analítica, com chama ao lado para evitar contaminação externa, e as britas/carvões foram colocados em frascos reagente de 250mL, previamente autoclavados com 90mL de solução salina (em fluxo laminar

estéril). As amostras permaneceram sob agitação em mesa agitadora orbital (*Marconi*, MA120) por 4 horas, e então foram mantidas em geladeira até a realização das análises.

A metodologia de diluição seriada e plaqueamento, os meios de cultura, a incubação e contagem de micro-organismos foram realizados da mesma maneira que foi feito para as amostras de raízes (item 4.3.2.2.). O isolamento, repicagem e preservação das culturas de bactérias e de fungos também foram realizados da mesma maneira descrita no item “4.3.2.2.1.”.

5.3.3.2. Ensaio com carvão de bambu

Esta fase do experimento foi realizada no “*Laboratorio de Química Inorgánica 2*” junto ao grupo de pesquisa “*RNM 366 - Materiales de Carbón y Medio Ambiente*”, sob supervisão da Prof.^a Dr.^a María Victoria López Ramón, na *Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química Inorgánica y Orgánica*, da *Universidad de Jaén* (Jaén, Espanha). O estágio foi realizado no período de outubro a dezembro de 2016, e financiado pelo “Programa Fórmula de Bolsa de Mobilidade Internacional” do Santander Universidades (Edital VRERI 105/2015).

Como o carvão vegetal de bambu que foi utilizado como meio de suporte na WLC não é um carvão comercial, nunca foi caracterizado e não foi produzido sob condições controladas (temperatura e ausência de oxigênio no forno), para conhecer a capacidade de adsorção de contaminantes deste carvão foi necessário realizar uma série de testes físico-químicos. As amostras utilizadas nos ensaios foram dos mesmos carvões utilizados na *wetland* WLC, porém moídos.

Como a caracterização de um carvão é de enorme importância tanto para o produtor como para o usuário, ele deve conter propriedades adsorventes, físicas e químicas. As seguintes técnicas foram utilizadas para caracterizar o material adsorvente: determinação do tamanho de partícula, adsorção física de gases, microscopia eletrônica de varredura (do inglês, *scanning electron microscopy* - SEM), análise elementar e determinação do pH no ponto zero de carga (pH_{PZC}).

5.3.3.2.1. Caracterização físico-química do carvão de bambu

Para se determinar o tamanho de partícula foi realizado o peneiramento dos carvões após moagem do mesmo em triturador de alimentos, e maceração do pó em almofariz

de ágata. Utilizaram-se várias peneiras acopladas, cada uma com diferente tamanho de poro, tendo como base a norma NBR 7217 (1987). O diâmetro dos poros das duas peneiras onde permaneceu a maior quantidade de carvão foi o intervalo adotado para tamanho de partícula. Este ensaio foi realizado no *Laboratório de Química Inorgânica 2*, na *Universidad de Jaén*.

O teste de adsorção do gás nitrogênio a -196°C foi utilizado para determinar a área superficial específica do carvão de bambu (S_{BET}), o volume total de microporos (W_0), a energia característica de adsorção (E_0) e a largura média dos poros (L_0). A adsorção de N_2 a -196°C foi realizada pelos pesquisadores do Departamento de Química Inorgânica da *Facultad de Ciencias* da *Universidad de Granada* (Granada - Espanha). Este ensaio seguiu a metodologia descrita por Fontecha-Cámara (2006) e foi realizado em um equipamento *Autosorb 1 (Quantachrome)*.

No Centro de Instrumentação Técnico-Científica da Universidade de Jaén foi realizada a Microscopia Eletrônica de Varredura, do inglês *Scanning Electron Microscopy* (SEM), que foi utilizada para análise morfológica dos carvões a uma energia de excitação de 5kV. O equipamento utilizado foi um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução (*FESEM*), *MERLIN* de *Carl Zeiss*, apresentado na Figura 18.

Figura 18. Microscópio eletrônico de varredura.



Fonte: Universidad de Jaén.

O teor de nitrogênio (N), carbono (C), hidrogênio (H) e enxofre (S) foram quantificados em um Analisador Elementar *Flash Thermo Finnigan EA1112*, localizado no Centro de Instrumentação Técnico-Científica da *Universidad de Jaén*, e foi realizada pelos

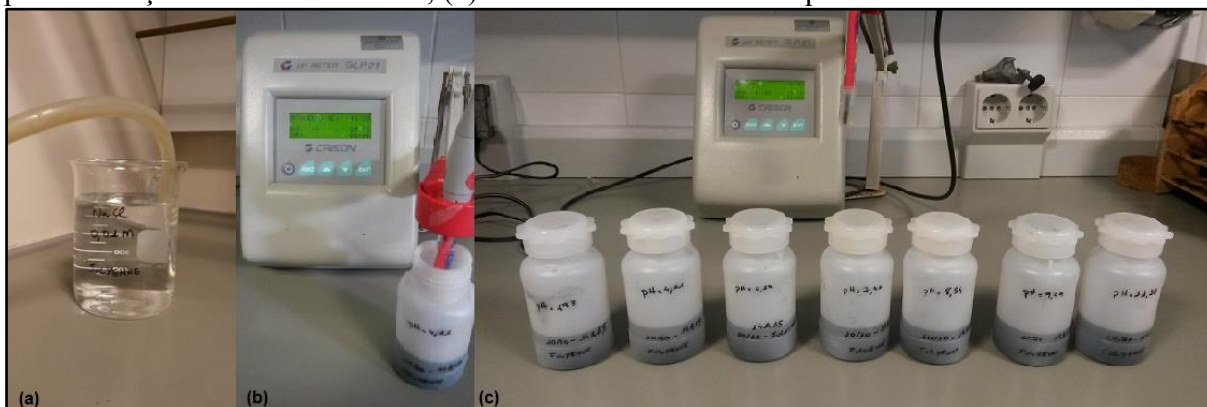
técnicos responsáveis por este equipamento. As amostras foram pirolisadas a uma temperatura de 1060 °C e o produto resultante desta pirólise foi analisado por um detector de condutividade térmica.

O teor de cinzas foi determinado pela queima de uma porção de carvão vegetal a 1083 K (809,9 °C) e pesando a massa restante, de acordo com o padrão ASTM D 3174-73 no *Laboratório de Química Inorgânica 2*, na *Universidad de Jaén*. O conteúdo total de oxigênio das amostras foi diretamente determinado pela diferença ($\% O = 100 - (\% C + \% N + \% H + \% S + \% \text{ de cinzas})$).

O pH de carga zero, ou pH do ponto zero de carga (pH_{pzc}) é o pH no qual as cargas superficiais da solução (ou do sólido) não estão carregadas positiva ou negativamente, isto é, o pH no qual a superfície do carbono não tem carga na ausência de adsorção específica (Alvarez-Merino et al., 2008). Nos processos de adsorção, o conhecimento do pH de carga zero do material adsorvente (carga superficial) e da carga adsorvida (interferentes endócrinos) é importante para prever se haverá adsorção química, ou seja, se haverá interações de atração eletrostática do contaminante com o carvão, porque se as interações são de repulsão não há adsorção química (PERILLI et al., 2014).

Este experimento foi realizado no *Laboratório de Química Inorgânica 2*, na *Universidad de Jaén* utilizando duas metodologias, sendo a primeira descrita por López-Ramón et al. (1999) e o segunda utilizado por Moreno-Castilla, López-Ramón e Carrasco-Marín (2000). Os testes consistiram basicamente em colocar o carvão de bambu em contato com solução salina ou água destilada, e medições periódicas do pH das amostras após a agitação em estufa de incubadora (*Memmert* IPP 200-500). Algumas das etapas da determinação do pH_{PZC} são mostradas na Figura 19.

Figura 19. (a) borbulhamento de N₂ em solução salina para retirada de CO₂; (b) medição de pH de solução salina com carvão; (c) amostras com diferentes pHs.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

5.3.3.2.2. Ensaios de adsorção com carvão de bambu

5.3.3.2.2.1. Caracterização e determinação dos adsorbatos

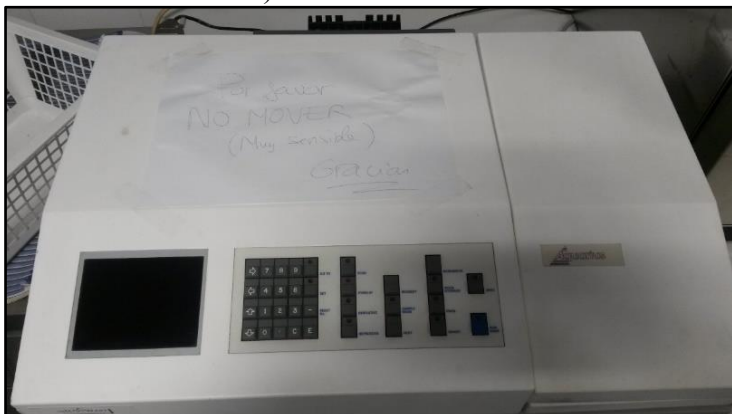
Não somente os materiais adsorventes devem ser caracterizados, mas também os adsorbatos – neste caso etinilestradiol e bisfenol A (os dois interferentes endócrinos utilizados para os ensaios de adsorção), por meio de estudos dos diagramas de distribuição de espécies, tamanho do composto e área molecular. As informações foram obtidas na literatura e também na base de dados *ChemSpider*.

Antes de os testes serem iniciados uma "solução estoque", ou seja, soluções concentradas dos padrões foram realizadas nas concentrações de 10 mg.L⁻¹ para EE2 e 100 mg.L⁻¹ para BPA. O padrão de EE2 com pureza de 98% fora adquirido da *Cayman Chemical Company*, e o padrão BPA $\geq 99\%$ de pureza foi adquirido da *Sigma-Aldrich*.

A quantificação de etinilestradiol e bisfenol A foi realizada em um espectrofotômetro de feixe duplo com detector UV-VIS (série *CECIL CE7200/7000*) no *Laboratorio de Química Inorgánica 1*, na *Universidad de Jaén*. As medidas (concentrações inicial e de equilíbrio) foram realizadas em cubetas de quartzo no comprimento de onda (λ) da maior absorbância de ambos os compostos - para EE2 $\lambda_{\text{máx}} = 200$ nanômetros (nm) e para BPA $\lambda_{\text{máx}} = 277$ nm.

Uma curva de calibração com diferentes concentrações de soluções padrão foi realizada de acordo com a lei de *Lambert-Beer*, para que os valores de absorbância gerados pelo espectrofotômetro fossem transformados em concentração. Na Figura 20 observa-se o espectrofotômetro utilizado para as medições de EE2 e BPA.

Figura 20. Espectrofotômetro de duplo feixe de luz com detector UV-VIS (*CECIL CE7200/7000 series*).



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

5.3.3.2.2. Isotermas de adsorção

Tendo sido identificadas todas as características, tanto do adsorvente (carvão) quanto dos adsorbatos (interferentes endócrinos) ensaios preliminares de adsorção foram desenvolvidos. Após isso, e de acordo com os resultados obtidos com estes ensaios, foram realizados os estudos de isotermas de adsorção, e a partir destas, a capacidade de adsorção do carvão, conforme descrito por Fontecha-Cámara (2006).

Antes da obtenção das isotermas de adsorção, realizou-se o estudo cinético para determinar a taxa de adsorção de ambos os compostos nos adsorventes utilizados neste estudo. A adsorção de BPA e EE2 em amostras de carvão foram estudadas por experimentos em batelada que foram realizados em duplicata. As isotermas de adsorção foram obtidas a 298 K (25 °C) e no pH da solução. Para este fim, 100 mL de soluções de BPA ou EE2 em concentrações variando de 2 mg.L⁻¹ a 50 mg.L⁻¹ para BPA e de 0,5 mg.L⁻¹ a 10,0 mg.L⁻¹ para EE2, e 0,25 g de BK-0 ou BK-1 foram introduzidos em frascos diferentes.

Os frascos foram fechados e selados com *Parafilm M*[®] foram mantidos em banho termostático (*Memmert* IPP 200-500) a 298 K (25 °C) com agitação contínua (100 rpm) até atingir o equilíbrio, período de 4 dias (96 horas) suficiente em todos os casos, de acordo com experimentos cinéticos preliminares (Figura 21). As concentrações de equilíbrio foram determinadas espectrofotometricamente. A adsorção de BPA ou EE2 no equilíbrio q_e (mg.g⁻¹) foi determinada usando a Equação 1, de balanço de massa:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{m} \quad (\text{Equação 1})$$

onde q é a quantidade adsorvida em uma dada concentração de equilíbrio, C_0 e C_e são concentrações inicial e de equilíbrio da solução de adsorbato, respectivamente (mg.L⁻¹), V é o volume da solução aquosa contendo BPA ou EE2 (L) e m é o peso do adsorvente seco utilizado (g).

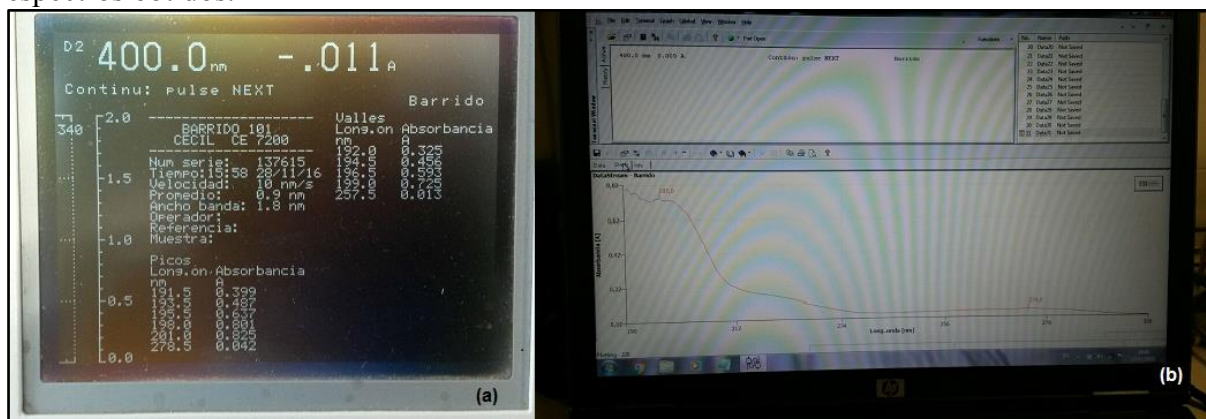
Figura 21. Amostras de EE2 e BPA em agitador na estufa.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Após esse período as amostras foram filtradas à vácuo em membrana de acetato de celulose com 0,45 μm de diâmetro de poro, e a quantificação dos compostos foi realizada em espectrofotômetro com detector UV-VIS (*CECIL CE7200/7000 series*), conforme Figura 22. O pH das soluções foi medido antes da adição do carvão e após a determinação dos compostos em espectrofotômetro.

Figura 22. (a) tela do espectrofotômetro mostrando as absorvâncias e comprimentos de onda dos picos obtidos; (b) tela do computador acoplado ao espectrofotômetro mostrando os espectros obtidos.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

As isotermas de adsorção foram ajustadas ao modelo de Langmuir, que é representado matematicamente pela Equação 2:

$$\frac{C}{X} = \frac{1}{BX_m} + \frac{C}{X_m} \quad (\text{Equação 2})$$

onde:

X = quantidade de adsorbato adsorvido a uma determinada concentração de equilíbrio C;

X_m = capacidade de adsorção;

B = constante de Langmuir (uma constante relacionada à energia de adsorção);

BX_m = está relacionado à interação adsorbato-adsorvente.

5.3.3.2.3. Produção de carvão ativado de bambu

Decidiu-se ativar o carvão de bambu “original” (sem ativação) para verificar se este processo melhoraria as condições de adsorção do mesmo, tendo em vista que o bambu é uma cultura de fácil manejo, e também com o intuito de se aprender as técnicas analíticas de produção de carvão ativado. A ativação do carvão pode ser realizada por processos químicos ou físicos, e neste caso utilizou-se ativação química, com metodologia adaptada de Moreno-Castilla *et. al.* (2001). Foram separadas duas amostras do carvão em pó, uma para passar somente pelo processo de pirólise sem ativação química (BK-0) e a outra passando por ativação química e pirólise (BK-1). A produção de carvão ativado de bambu foi realizada no *Laboratório de Química Inorgânica 2 da Universidad de Jaén*.

A ativação química foi realizada por impregnação do carvão de bambu com hidróxido de potássio concentrado (KOH) na razão 1/1 - massa/massa (m/m). Estas suspensões foram misturadas em cristalizador até que fosse obtida uma massa homogênea, que então foram deixadas sob luz infravermelha a 60 °C, até toda a água ser evaporada. Após esta etapa o cristalizador foi colocado no forno a 110 °C por 24 horas, retirado e colocado em dessecador. A secagem prévia a 110 °C provou favorecer o processo de ativação, pois permite o melhor desenvolvimento da porosidade, desidrata a amostra e permite que as reações subseqüentes sejam realizadas de maneira uniforme. Após o resfriamento, a massa de carvão mais o KOH, foram moídos até se tornarem um pó fino. O processo de ativação química do carvão pode ser observado na Figura 23.

Figura 23. (a) mistura de carvão com KOH; (b) secagem em infravermelho; (c) carvão seco em estufa; (d) maceração do carvão.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Após a maceração, a amostra de BK-1 prosseguiu para o próximo passo e a amostra de BK-0 passou apenas pelo passo que será descrito abaixo. O carvão pré-seco foi pesado e colocado homogeneamente em um recipiente de metal, que foi introduzido em um forno de quartzo da marca *Carbolite*. O forno possuía um fluxo de N_2 (gás inerte) que foi mantido constante ($100 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$) durante todo o processo de pirólise, para evitar que a amostra entrasse em contato com o oxigênio e fosse calcinada. Uma rampa de aquecimento foi executada a $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até que a temperatura final de $800 \text{ }^\circ\text{C}$ fosse atingida, permanecendo assim por 2 horas. Após este período, o forno foi esfriado gradualmente, e a amostra só foi removida do forno após a temperatura ambiente. A amostra BK-0 estava pronta.

A amostra BK-1 foi submetida a lavagens completas com água destilada aquecida e depois permaneceu em solução de HCl a 0,1 M durante 24 horas. Após a remoção da solução de HCl, a lavagem com água destilada foi continuada durante os testes, recolhendo-se uma pequena amostra do sobrenadante e adicionando-se nitrato de prata que, na presença de cloro, precipita e torna-se uma solução turva ($AgCl$). Quando não houve mais turbidez nas amostras coletadas, toda a água foi removida das amostras de carvão e colocada em um cristalizador, permanecendo em estufa a 110°C por 24 horas.

As amostras de BK-0 e BK-1 foram caracterizadas da mesma forma que o bambu

(amostra “bambu”), e foram realizadas isotermas de adsorção com água destilada e água da torneira para os dois carvões para verificar se os íons e minerais presentes na água da torneira iriam competir com os compostos, reduzindo assim a capacidade de adsorção.

5.4. Planejamento experimental

O objetivo da realização do planejamento experimental foi poder escolher quantas repetições (réplicas) do experimento seriam possíveis realizar com o tempo, material e recursos financeiros disponíveis. Ele foi realizado para verificar qual tipo de análise laboratorial e de fatores é mais interessante obter na análise estatística do estudo, quando todos os resultados estiverem coletados. As réplicas são o número de vezes que o experimento precisa ser repetido por completo, do início ao fim, com todas as combinações dos fatores envolvidos.

O experimento ocorreu em duas fases considerando as diferentes concentrações de hormônios que foram trabalhadas, alta (FA) e baixa (FB), com o propósito de avaliar se a retenção de interferentes endócrinos pelas *wetlands* é limitada a baixas concentrações. No entanto as diferentes fases de concentração só foram levadas em consideração no planejamento experimental para as análises de toxicologia.

Abaixo estão descritos todos os fatores que foram levados em consideração para o planejamento. As análises laboratoriais contempladas foram: bisfenol A, etinilestradiol, levonorgestrel, carbono orgânico dissolvido, pH, turbidez, oxigênio dissolvido, cor aparente, demanda química de oxigênio, nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal, nitrogênio total Kjeldahl, fósforo total, série de sólidos e toxicologia. Os quatro diferentes tipos de *wetlands* foram levados em consideração para o planejamento, conforme descrito a seguir:

- **Wetland Carvão (WLC):** planta A (*Cyperus isocladius*) e carvão de bambu + brita n.º 2;
- **Wetland 1 (WL1):** planta A (*Cyperus isocladius*) com brita n.º 1;
- **Wetland 2 (WL2):** brita n.º 1, sem planta (controle);
- **Wetland 3 (WL3):** planta B (*Eichhornia crassipes*) com brita n.º 1.

Com o intuito de verificar se diferentes tempos de detenção hidráulico (TDH) iriam afetar a eficiência de retenção dos hormônios e dos poluentes, esse experimento testou TDH de 2 dias e TDH de 4 dias. Em cada TDH o objetivo foi verificar qual *wetland* foi mais

eficiente para cada análise laboratorial, e após isso verificar qual das fases foi mais eficiente em cada análise. Combinando todas as variáveis obteve-se a Tabela 7 (abaixo).

Tabela 7. Fatores e níveis envolvidos no planejamento experimental.

Fator	Níveis	Descrição
TDH	2	2 e 4 dias
<i>Wetlands</i>	4	WLC, WL1, WL2 e WL3
Concentração de interferentes endócrinos	2	baixa e alta

Tendo os fatores definidos, para calcular o tamanho de amostra necessário é preciso efetuar cálculos com os graus de liberdade envolvidos na Análise de Variância (ANOVA). O grau de liberdade de cada fator é a quantidade de níveis do fator menos 1, por exemplo, TDH tem 2 níveis então tem 1 grau de liberdade.

As interações são a multiplicação dos graus de liberdade, e para cada tipo de análise (interferentes endócrinos, parâmetros físico-químicos e toxicidade) foi considerado um tipo de interação. As quantidades de replicações estão contidas na conta do total de graus de liberdade. A Tabela 8 mostra como os cálculos foram realizados.

Tabela 8. Fórmulas para cálculo do número de amostras.

Fator	Níveis
TDH	a
<i>Wetlands</i>	b
Interferentes endócrinos (IE's)	c
Replicação	n

Fator	Graus de liberdade
TDH	(a - 1)
<i>Wetlands</i>	(b - 1)
Interferentes endócrinos (IE's)	(c - 1)
<i>Wetlands</i> *IE's	(b - 1)*(c - 1)
TDH* <i>Wetlands</i>	(a - 1)*(b - 1)
TDH* <i>Wetlands</i> *IE's	(a - 1)*(b - 1)*(c - 1)
Erro	(a*b*c)*(n - 1) + (a - 1)*(c - 1)
Total	(a*b*c*n) - 1

Os números de amostras e os cálculos das interações para análises físico-químicas e de interferentes endócrinos estão apresentados na Tabela 9, e para análises toxicológicas na Tabela 10.

Tabela 9. Interações e número de amostras para análises físico-químicas e cromatográfica de hormônios.

Graus de liberdade: Delineamento Fatorial 2 x 4					
Fator	Replicações				
	2	3	4	5	6
TDH	1	1	1	1	1
<i>Wetlands</i>	3	3	3	3	3
TDH* <i>Wetlands</i>	3	3	3	3	3
Erro	8	16	24	32	40
Total	15	23	31	39	47
Tamanho de amostra mínima	16	24	32	40	48

Tabela 10. Interações e número de amostras para análise toxicológica de hormônios.

Graus de liberdade: Delineamento Fatorial 2 x 4				
Fator	Replicações			
	2	3	4	5
TDH	1	1	1	1
<i>Wetlands</i>	3	3	3	3
Interferentes endócrinos	1	1	1	1
<i>Wetlands</i> *Interferentes endócrinos	3	3	3	3
TDH* <i>Wetlands</i>	3	3	3	3
TDH* <i>Wetlands</i> *Interferentes endócrinos	3	3	3	3
Erro	17	33	49	65
Total	31	47	63	79
Tamanho de amostra mínima	32	48	64	80

5.5. Método de análise dos dados obtidos

Para valores de retenção de interferentes endócrinos, fósforo total, COD, DQO, da série de nitrogênio e da série de sólidos, as concentrações dos analitos serão utilizadas para o cálculo da carga dos mesmos, com o objetivo de promover um balanço de massa mais confiável. O cálculo da carga dos poluentes será realizado pelo produto da vazão de entrada/saída com a concentração de entrada/saída, conforme consta na Equação 3:

$$K_{\text{analito (entrada/saída)}} = C_{\text{analito (entrada/saída)}} \times Q_{\text{entrada/saída}} \quad (\text{Equação 3})$$

onde:

$K_{\text{analito (entrada/saída)}}$ = Carga do analito de entrada e saída do leito [$\mu\text{g} \cdot \text{dia}^{-1}$ ou $\text{mg} \cdot \text{dia}^{-1}$]

$C_{\text{analito (entrada/saída)}}$ = Concentração do analito na entrada e na saída do leito [$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ou $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]

$Q_{\text{entrada/saída}}$ = Vazão de entrada/saída do leito [$\text{L} \cdot \text{dia}^{-1}$]

Os dados coletados foram armazenados em planilhas para posterior análise dos mesmos. Além de serem analisados mediante comparação gráfica, os dados obtidos nos ensaios foram analisados utilizando testes estatísticos. As análises foram realizadas para avaliar quais fatores e níveis forneceriam a mais alta retenção dos parâmetros em porcentagem de retenção de concentração, e porcentagem de retenção de carga.

Para estimar se os dados poderiam ser analisados por intermédio do Delineamento Fatorial Geral 2x4 (o TDH tem dois níveis e a *wetland* tem quatro), foi necessário que os dados atendessem os seguintes pressupostos: normalidade de resíduos (teste *Ryan-Joiner*), independência dos resíduos (gráfico de dispersão entre ordem de coleta dos dados *versus* resíduos), e igualdade de variâncias (teste de *Levene*). Todos os testes foram realizados no nível de 5% de significância, e transformações nos dados (teste de *Box-Cox*) foram realizados quando necessário.

Nas análises de interferentes endócrinos foram coletadas 6 replicações do delineamento planejado. Na concentração baixa, foi perdida uma replicação inteira para o TDH de 2 dias, e na alta foi perdido apenas um dado da WL2 no TDH de 4 dias. Logo, para os IE's na concentração baixa foram obtidos 44 dados, e na alta 47 dados. Isso atendeu ao mínimo esperado para 5 replicações. Foram coletadas no mínimo 4 replicações e no máximo 6 replicações do delineamento planejado para as análises físico-químicas. Isso atendeu ao mínimo esperado a partir de 4 replicações, que são no mínimo 32 dados. Logo, as amostras de todas as variáveis foram consideradas de tamanho adequado.

Para cada dado foi gerada uma ANOVA (Análise de Variância) com Delineamento Fatorial de dois fatores, TDH com dois níveis de 2 e 4 dias, e *wetlands* com quatro níveis nomeados de WL1, WL2, WL3 e WLC. Quando os p-valores dos fatores foram significativos no nível 5% ($p\text{-valor} \leq 0,05$) o fator influenciou na retenção dos interferentes endócrinos, e por isso serão apresentados os gráficos com efeitos principais nos resultados. Se dois fatores tiverem p-valor inferior a 0,05 na ANOVA, o gráfico de interações também estará apresentado nos resultados. Os gráficos cujos fatores ou interações não tiveram influência no modelo da ANOVA (p-valor maior do que 0,05) não serão apresentados.

Para a análise de NTK a aplicação de *Box-Cox* não foi eficiente, por isso não foi possível aplicar o Delineamento Fatorial. Como alternativa, foram empregados o teste de *Mann-Whitney* para confrontar os resultados do TDH de 2 e 4 dias, e o teste de *Kruskal-Wallis* para comparar as quatro *wetlands* em pares. Dessa maneira, as interações não foram testadas. Os testes foram aplicados a nível 5% de significância.

Junto aos gráficos de efeitos principais (com níveis do TDH e *wetlands* separados) e de interações (TDH e *wetlands* juntos) está apresentada nos resultados uma tabela com comparações múltiplas de Tukey, comparando os níveis de TDH e *wetlands* em pares de médias. Se os TDH's foram diferentes entre si (p-valor menor ou igual a 5%) e alguma das *wetlands* também apresentou desempenho diferente de pelo menos uma das demais *wetlands*, isso significa que houve uma interação que fornece eficiência máxima. O R^2 nos resultados representou o quanto os fatores explicam o comportamento dos dados, ou seja, o quanto ele explicou o modelo dado com os fatores e interações.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Desempenho das *wetlands* laboratoriais

Inicialmente foi utilizado esgoto descrito por Matamoros *et al.* (2008) em seu experimento com *wetlands* de bancada para tratamento de interferentes endócrinos. Esse esgoto possuía relação C:N:P de 100:16:1, e era composto por glicose (ou amido), cloreto de amônio e fosfato de potássio. O esgoto era de fácil preparo e baixo custo, no entanto quando se utilizou amido o mesmo sedimentava ao fundo da caixa d'água, e quando se utilizava glicose o pH de entrada nas *wetlands* ficava entre 4,0 e 5,0.

Por isso o abastecimento começou ser realizado com esgoto sintético utilizado por Prochaska e Zouboulis (2006) que, segundo os autores, correspondia a um esgoto municipal de carga média com relação C:N:P de 200:50:8. Após algum tempo de abastecimento, devido à fermentação da glicose o pH se tornou ácido tanto na entrada das *wetlands*, quanto na saída. Então se iniciou a adição de bicarbonato de sódio na concentração de 252 mg.L⁻¹ na preparação do esgoto sintético para que este pudesse causar um efeito “tampão”, mantendo o pH do esgoto na faixa da neutralidade. O procedimento de adição de bicarbonato foi descrito por Schultze-Nobre *et al.* (2015) para mitigar o mesmo problema.

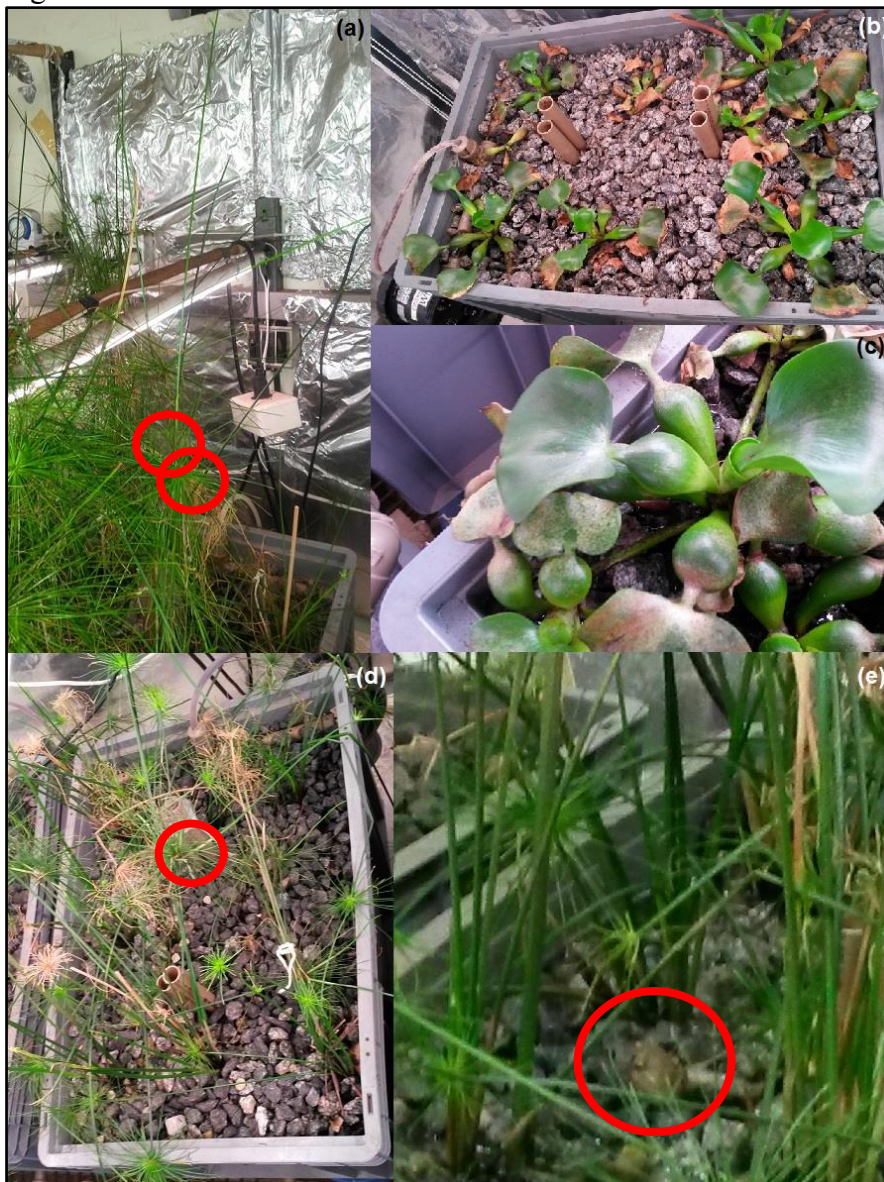
Apesar da luz utilizada para iluminação da *wetland* em ambiente fechado ser própria para cultivo de plantas, e de diversos autores terem trabalhado com *wetlands* laboratoriais (SCHULTZE-NOBRE *et al.*, 2015; CHANG *et al.*, 2014; JU *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2014; RAHMAN *et al.*, 2014; WIESSNER *et al.*, 2013; LV *et al.*, 2013; RAHMAN *et al.*, 2011 e WIESSNER *et al.*, 2007) o sistema de tratamento não funcionou da maneira esperada. Aconteceram vários problemas durante o experimento.

O primeiro plantio das macrófitas foi realizado em 06 de maio de 2015, mas foram necessários mais plantios posteriores à esse pois durante o inverno as macrófitas sofreram com baixas temperaturas (em torno de 10°C), ressecaram (Figuras 24b e 24d) e algumas morreram. Por isso foi colocado papel alumínio ao redor da *wetland*, com o intuito de proteger o sistema do frio. Além disso, tanto o aguapé quanto o mini-papiro adoeceram com “pulgão”, e após certo tempo com fungos (Figura 24c). Além desses problemas houve o aparecimento de diversos pequenos sapos/rãs que ficavam em cima das *wetlands* (Figura 24e), ou dentro da caixa d'água, reforçando uma das vantagens das *wetlands* que é fornecer um *habitat* natural para espécies animais.

Nos períodos mais quentes também apareceram grandes quantidades das moscas

do tipo *Psychoda* e suas larvas, que geralmente estão presentes quando há matéria orgânica em decomposição. Outro fato interessante foi o brotamento do mini-papiro, que ao invés de brotar da raiz (Figura 24a) como acontece com as *wetlands* cultivadas com mini-papiro expostas à luz solar, o broto saiu da flor da planta. Vale ressaltar que este brotamento aconteceu antes da adição de hormônios na água residuária. É possível que uma das causas tenha sido o tipo de lâmpada utilizada para iluminação na *wetland*. Na Figura 24 observa-se as *wetlands* com os problemas mencionados anteriormente; o sapo e os brotos que saíram da flor do mini-papiro estão circulados em vermelho. Exceto os acontecimentos descritos anteriormente as *wetlands* operaram de modo satisfatório em um período de dois anos de abastecimento.

Figura 24. Problemas observados nas *wetlands* laboratoriais.



Fonte: Arquivo pessoal (2015, 2016 e 2017).

6.2. Esgoto sintético

A seguir serão apresentados e discutidos os resultados referentes aos parâmetros monitorados no esgoto sintético do experimento: análises cromatográficas de interferentes endócrinos e análises de toxicidade. As análises cromatográficas serão analisadas em termos de concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$) e em termos de carga ($\mu\text{g.dia}^{-1}$), e os dados de vazão utilizados para cálculo das cargas estão apresentados no Apêndice 1.

6.2.1. Interferentes endócrinos no esgoto sintético

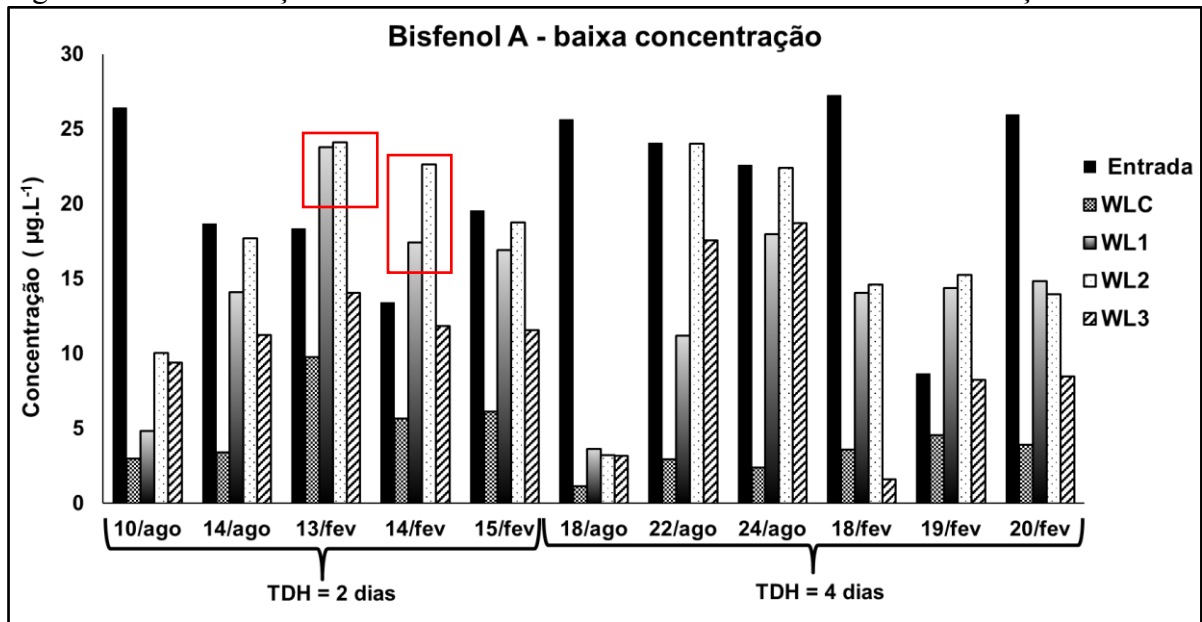
6.2.1.1. Bisfenol A (BPA)

— Análise das concentrações ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

Apesar de ser adicionada ao esgoto uma quantidade fixa dos interferentes endócrinos, é possível observar que devido ao bombeamento e vazão de entrada no momento da coleta da amostra, esta concentração fixa foi levemente alterada. Na fase de concentração baixa (FB) os valores de entrada de BPA variaram de 8,7 à 27,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$. As concentrações de saída variaram entre 1,2 e 9,8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para WLC, de 3,6 à 23,8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ em WL1, de 3,2 à 24,1 para WL2 e na faixa de 1,6 à 18,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para WL3. Observa-se que as menores concentrações de saída ocorreram para WLC. Estão apresentados na Figura 25 as concentrações de entrada e saída (WLC, WL1, WL2 e WL3) de BPA na FB com TDH de 2 e 4 dias.

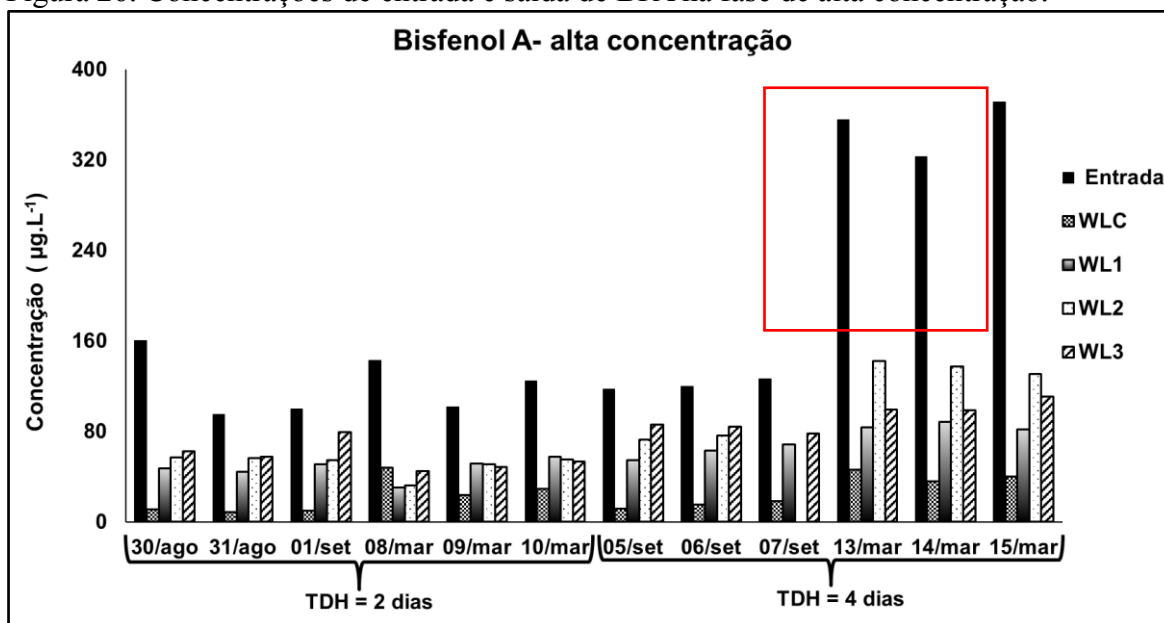
Conforme assinalado no gráfico da Figura 25, nos dias 13 e 14 de fevereiro de 2017 (TDH de 2 dias) as concentrações de saída de WL1 e WL2 foram maiores que as de entrada, o que pode ter ocorrido devido à defasagem do TDH porque tendo em vista que o sistema opera de modo contínuo, a amostra de saída coletada foi a que havia entrado no sistema 2 ou 4 dias antes, e não a amostra de entrada que foi coletada naquela determinada data. Nas outras datas e para as demais *wetlands* os valores de saída permaneceram iguais ou menores que a entrada, indicando eficiência do sistema na retenção de BPA na fase de baixa concentração, com TDH de 2 ou 4 dias.

Figura 25. Concentrações de entrada e saída de BPA na fase de baixa concentração.



Na fase de alta concentração (FA) os valores de entrada de BPA no sistema variaram de $94,9 \mu\text{g.L}^{-1}$, à $371,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ no último dia de coleta (15/03/17). Em 13/03/17 e 14/03/17 as concentrações de entrada de BPA foram $355,6$ e $323,1 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente, em média três vezes mais altas do que deveria ter sido ($100 \mu\text{g.L}^{-1}$), o que pode ter sido causado por um possível erro experimental no momento da adição do BPA no esgoto sintético, mas mesmo assim as concentrações de saída foram menores que as de entrada nesta data. No entanto, a elevada concentração de entrada nestes três dias de coleta não alterou as taxas de retenção do interferente endócrino. É possível observar na Figura 26 os valores discrepantes citados anteriormente, e também que todas as concentrações de saída (WLC, WL1, WL2 e WL3) de BPA na FA com TDH de 2 e 4 dias, foram menores que as de entrada.

Figura 26. Concentrações de entrada e saída de BPA na fase de alta concentração.



As concentrações de saída de WLC variaram de 8,8 à 48,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ na fase de alta concentração (FA), assim como ficaram de 30,5 à 88,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$ em WL1, de 32,4 à 142,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para WL2 e de 45,3 à 111,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ em WL3. Como na fase de baixa concentração, na fase alta as menores concentrações de saída também ocorreram para WLC (*wetland* que continha brita e carvão como meio suporte, cultivada com mini-papiro).

Na Tabela 11 observa-se as retenções máximas e mínimas para BPA nas fases de baixa e alta concentrações, com TDH de 2 e 4 dias. Ao compararmos as *wetlands* é possível visualizar que as máximas retenções obtidas ocorreram para WLC, independente das variações aplicadas (TDH e faixa de concentração), o que pode ter sido ocasionado pelo carvão de bambu utilizado no meio suporte.

Tabela 11. Retenções mínimas e máximas para BPA com ambas concentrações e TDH estudados.

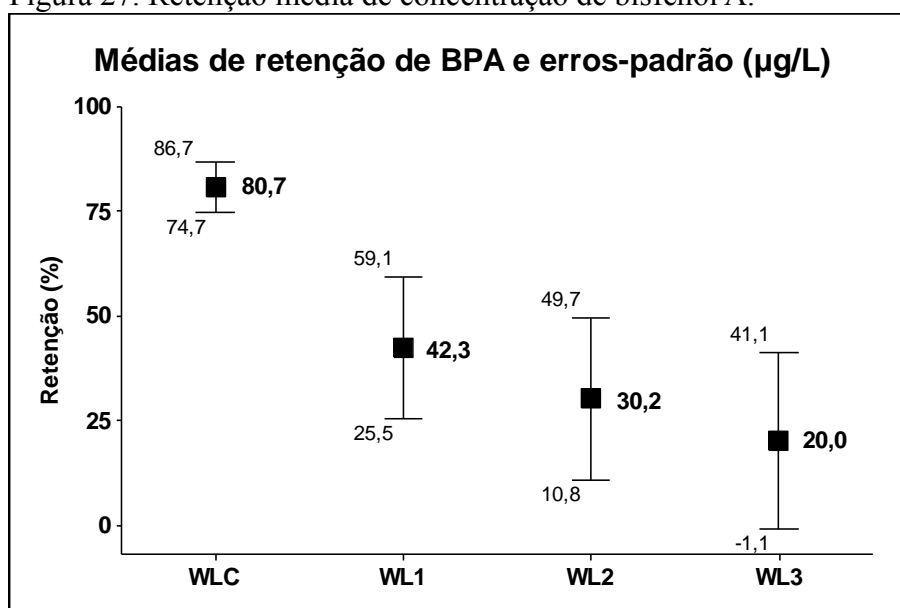
Wetlands	Baixa concentração - Retenção (%)				Alta concentração - Retenção (%)			
	TDH = 2 dias		TDH = 4 dias		TDH = 2 dias		TDH = 4 dias	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
WLC	88,6	46,7	95,5	47,6	93,1	66,5	90,2	85,5
WL1	81,8	-29,8	85,9	-65,4	78,7	49,0	77,9	45,7
WL2	62,1	-68,6	87,4	-75,9	77,4	40,5	64,8	36,0
WL3	64,4	11,7	94,1	5,0	68,4	20,5	72,1	26,9

Quanto às retenções mínimas é possível observar na tabela acima que na fase de baixa concentração, independente do TDH, as retenções mínimas foram na *wetland* sem

macrófita (WL2), um sinal de que a macrófita pode ter influenciado na retenção de BPA. Já na fase de alta concentração as retenções mínimas ocorreram para a *wetland* com aguapé, e então pela WL2; neste caso a inexistência de planta no sistema não explicou as mínimas retenções.

Observa-se na Figura 27 as médias de retenção de BPA independente de TDH e faixa de concentração, com seus respectivos erro-padrão. Para WLC a média foi 80,7 ($\pm 6\%$), para WL1 foi 42,3 ($\pm 16,8\%$), enquanto que para WL2 foi 30,2 ($\pm 19,5\%$) e para WL3 20,0 ($\pm 21,1\%$). Observa-se que a maior média e menor erro-padrão ocorreu para a *wetland* contendo carvão como meio suporte e cultivada com mini-papiro, enquanto que a segunda *wetland* com melhor retenção foi WL1 (também cultivada com mini-papiro). Esses dados reforçam a eficiência de WLC. Todos os resultados de concentração de entrada e saída de bisfenol A, com suas respectivas retenções encontram-se no Apêndice 2.

Figura 27. Retenção média de concentração de bisfenol A.



He *et al.* (2018) obtiveram remoções de BPA médias variando de $-29,2 \pm 116,3\%$ à $-88,3 \pm 78,2\%$, na verdade ocorreu acúmulo de BPA na saída do sistema. Os resultados relatados pelos autores são referentes ao tratamento terciário de esgoto de ETE por diversas configurações de *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis*.

Dai *et al.* (2017) pesquisaram a remoção de BPA por *wetlands* de fluxo vertical associadas a *wetlands* de fluxo horizontal cultivadas com *Cannaglauca*, *Thalia dealbata*, *Canna indica*, e *Typha angustifolia* (*wetlands* verticais), e *Cyperus alternifolius*, *Arundo donax*, *Acorus tatarinowii*, e *Desmodium styracifolium* nas unidades horizontais. As *wetlands* ocupavam 204m² de área, continham cascalho como meio suporte e realizavam o tratamento

terciário de esgoto proveniente de uma ETE. Os autores trabalharam com TDH variando de 6 à 24 horas. A concentração média de BPA na entrada do sistema de *wetlands* foi 563 (± 160 ng.L⁻¹) e na saída 295 (± 103 ng.L⁻¹), menores que neste estudo, com remoção média de 45 ($\pm 15\%$) de BPA, remoção próxima às médias baixas de retenção deste estudo.

Toro-Vélez *et al.* (2016) utilizaram *wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal em escala piloto, como a deste estudo, e observaram para BPA remoção de 73.3 ($\pm 19\%$) na *wetland* cultivada com *Heliconia psitacorum*, 70.2 ($\pm 27\%$) na *wetland* cultivada com *Phragmites australis*, e 62.2 ($\pm 33\%$) na *wetland* sem planta. Os valores encontrados na pesquisa deste autor foram menores que as médias encontradas em WLC, porém maiores que as médias das demais *wetlands*.

Papaevangelou *et al.* (2016) também estudaram remoção de BPA em *wetlands* de fluxo subsuperficial horizontal em escala piloto, e obtiveram remoções médias de 49.6% nas cultivadas com *Phragmites australis*, 50.0% nas *wetlands* cultivadas com *Typha latifolia*, e 55.4% em *wetlands* sem planta, taxas menores que as encontradas em WLC e um pouco maiores que as médias obtidas pelas demais *wetlands*. Ávila *et al.* (2014a) pesquisaram a retenção de EE2 adicionado à esgoto municipal por um sistema híbrido de *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis* em escala piloto, e obtiveram taxas de retenção que ficaram 11 e 90% para BPA, variações próximas ao do presente estudo, em que as médias de retenção variaram de 20,0 à 80,7%.

Ávila *et al.* (2015) estudaram uma *wetland* de fluxo subsuperficial vertical de 317m², uma de fluxo subsuperficial horizontal de 229m² (cultivadas com *Phragmites australis* em cascalho silicioso), e uma de lâmina d'água livre de 240m² (com diversos tipos de plantas) operando em série, tratando esgoto municipal. Os autores trabalharam com TDH total de pelo menos 7,4 dias. A concentração média afluente foi 4,06 ($\pm 1,19$ µg.L⁻¹), 2,12 ($\pm 1,33$ µg.L⁻¹) no efluente da *wetland* vertical, 1,35 ($\pm 0,52$ µg.L⁻¹) no efluente da *wetland* horizontal, e na *wetland* de superfície livre os valores encontrados ficaram abaixo do limite de detecção, gerando uma remoção maior que 99% (se for levado em conta todo o sistema de *wetlands* em série). Se compararmos as retenções obtidas no presente estudo, com *wetlands* não sequenciais e maiores concentrações de BPA, com as remoções obtidas por Ávila *et al.* (2015) é possível observar que as médias deste estudo foram mais elevadas que dos autores.

Carranza-Diaz *et al.* (2014) pesquisaram a remoção de BPA por duas *wetlands* contendo cascalho como meio suporte, uma sem planta e outra cultivada com *Phragmites australis*. As *wetlands* eram de fluxo subsuperficial horizontal, tratavam esgoto municipal, possuíam 5,64m² de área, e operaram com TDH nominal de 5,5 dias. A concentração média de

entrada de BPA nos sistemas foi $2,11 \mu\text{g.L}^{-1}$, variando de 0,5 à $19,99 \mu\text{g.L}^{-1}$. Na saída da *wetland* plantada a concentração média foi $3,47 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($0,78 - 28,51 \mu\text{g.L}^{-1}$), e da *wetland* sem planta foi $3,89 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($0,77 - 62,09 \mu\text{g.L}^{-1}$). Observa-se que as concentrações de saída da *wetland* plantada foram menores que de entrada, e da *wetland* sem planta foram maiores que da *wetland* plantada; as remoções médias descritas pelos autores foram $5 (\pm 15\%)$ para a *wetland* plantada, e $2 (\pm 8\%)$ para a *wetland* sem planta, taxas de retenção inferiores às obtidas neste estudo. Carranza-Diaz *et al.* (2014) relataram não saberem o motivo do aumento de BPA no efluente das *wetlands*, e que consideram improvável ter sido proveniente de tubulações e outros componentes plásticos das mesmas.

Herrera-Melián *et al.* (2017) atribuíram maiores retenções de hormônios nas *wetlands* contendo resíduo de palmeira como meio suporte, do que nas que continham brita, devido à química da superfície e das características estruturais do meio suporte orgânico. Bruch *et al.* (2011) relatam ter obtido maiores remoção de poluentes em *wetlands* contendo zeolita (de areia de lava) como meio suporte pelo fato da superfície rugosa do material, propícia para absorção de água, ser um bom meio para adesão de bactérias e formação de biofilme, o que promoverá a degradação dos poluentes. Os autores relatam que a adsorção de poluentes pela zeolita não é tão eficiente quanto a degradação dos mesmos pelo biofilme desenvolvido no meio suporte. Seguindo a linha de pensamento de Herrera-Melián *et al.* (2017) e Bruch *et al.* (2011), a melhor formação de biofilme no carvão de bambu presente como meio suporte da WLC pode ter sido o motivo desta *wetland* ser mais eficiente na retenção de bisfenol A do que as demais *wetlands*.

Tran & Gin (2017) relataram que o maior meio de remoção de BPA em um sistema de lodo ativados é biodegradação e interação hidrofóbica entre o BPA e a biomassa e/ou sólidos suspensos deste tipo de tratamento, devido ao alto coeficiente de distribuição octanol-água (\log_{Dow} médio de 4,05) no pH de 6,0 a 8,0 (faixa ambiental). É possível que no presente experimento também tenha ocorrido este tipo de remoção, devido ao pH que estava nesta faixa e à matéria orgânica ou biofilme presentes nas *wetlands*.

Analisando estatisticamente na concentração baixa a eficiência de retenção de BPA obteve $R^2 = 35,93\%$, ou seja, 35,93% dos resultados obtidos foram explicados pelo TDH e pelas *wetlands*. Em experimentos nos quais estão envolvidos processos biológicos (como neste caso as macrófitas, temperatura não controlada e os micro-organismos do biofilme aderido ao meio suporte) dificilmente serão obtidos valores altos de R^2 pois estão envolvidos fatores que não podem ser controlados, o que aumentará o erro estatístico dos resultados.

No entanto, apesar dos valores de R^2 não serem altos, conforme consta na

ANOVA apresentada na Tabela 12 o delineamento fatorial apresentou modelo significativo (p-valor = 0,017) ao nível 5% de significância, ou seja, se reproduzíssemos o experimento nas mesmas condições este seria eficiente para retenção de BPA.

Tabela 12. Análise de variância de BPA na fase de baixa concentração.

Bisfenol A - concentração baixa ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma	Média	Estatística F	p-valor
		Quadrática	Quadrática		
Modelo	7	32,926	4,704	2,880	0,017 *
TDH	1	3,272	3,272	2,010	0,165
Wetlands	3	29,609	9,870	6,050	0,002 *
TDH* <i>wetlands</i>	3	183	61	0,040	0,990
Erro	36	58,702	1,631		
Total	43	91,627			

*g.l. = graus de liberdade

De acordo com a Tabela 12 as *wetlands* também foram significantes (p-valor = 0,002) a nível 5% de significância, ou seja, as *wetlands* apresentaram desempenho diferente entre si apesar dos diferentes TDH terem sido semelhantes em eficiência de retenção de BPA (p-valor = 0,165). Logo, o TDH e a interação entre TDH e *wetlands* não foram fortes o suficiente no modelo.

Avaliando isoladamente as *wetlands*, conforme apresentado nos testes de Tukey (Tabela 13), a WLC obteve melhor eficiência do que WL1 (p-valor = 0,013) e WL2 (p-valor = 0,001), porém não foi mais eficiente que WL3 (p-valor = 0,220).

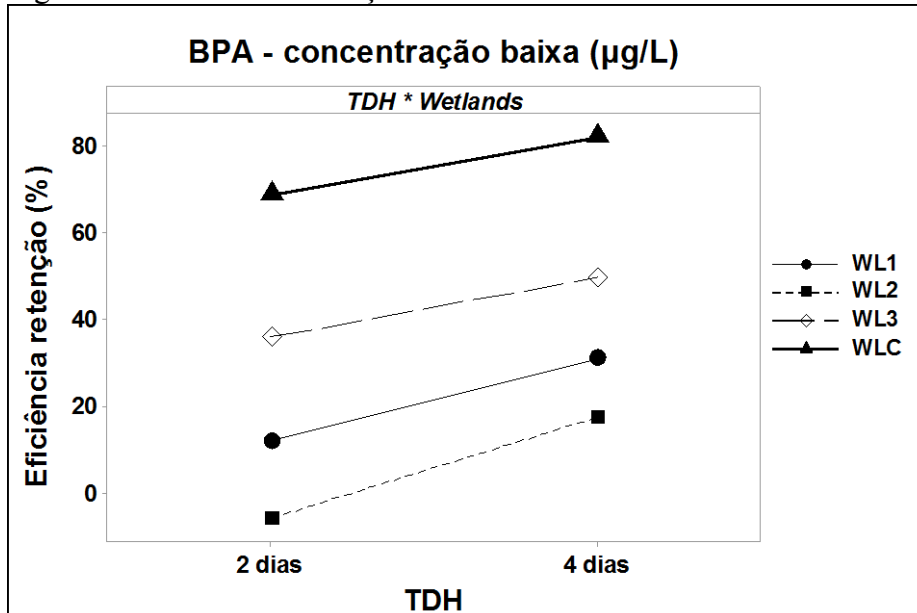
Tabela 13. Teste de Tukey para BPA na fase de baixa concentração.

Bisfenol A - concentração baixa ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística T	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	45,0	27,7	1,5	0,149
Wetlands				
WL2 - WL1	5,8	21,5	-0,9	0,789
WL3 - WL1	42,8	21,5	1,3	0,584
WLC - WL1	75,3	21,5	3,2	0,013 *
WL3 - WL2	42,8	5,8	2,2	0,139
WLC - WL2	75,3	5,8	4,2	0,001 *
WLC - WL3	75,3	42,8	2,0	0,220

Pelo fato do TDH não ter apresentado diferença entre 2 e 4 dias não foi possível

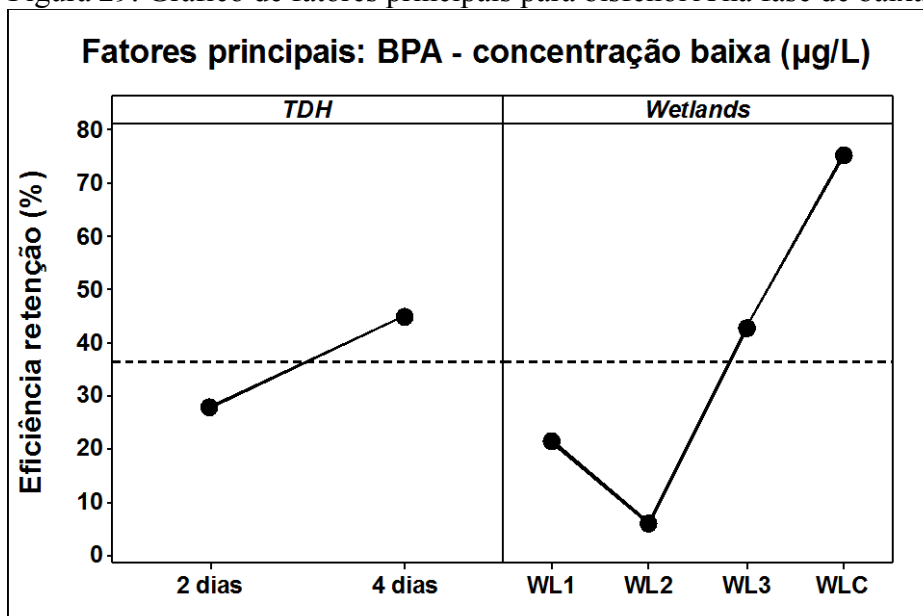
observar interação dos fatores estudados na Figura 28. No entanto, é possível observar neste gráfico que a eficiência de todas *wetlands* aumenta quando o TDH vai de 2 para 4 dias, e que a eficiência de WLC é maior do que nas demais *wetlands*.

Figura 28. Gráfico de interações de bisfenol A na fase de baixa concentração.



No gráfico de fatores principais (Figura 29) é possível observar que a eficiência tende a aumentar quando o TDH é de 4 dias, assim como WLC possui maior média de retenção de BPA apesar dos p-valores não terem sido significativos ($p\text{-valor} > 0,05$).

Figura 29. Gráfico de fatores principais para bisfenol A na fase de baixa concentração.



Na fase de concentração alta o BPA obteve 53,03% dos seus resultados explicados pelos dois fatores, R^2 mais alto do que na concentração baixa, demonstrando maior confiabilidade nos resultados obtidos. Novamente o modelo do delineamento fatorial e as *wetlands* foram significantes a nível 5%, indicando a diferença de desempenho apenas pelas *wetlands*, conforme Tabela 14.

Tabela 14. Análise de variância de BPA na fase de alta concentração.

Bisfenol A - concentração alta ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
		Soma	Média		
Fonte de variação	g.l.	Quadrática	Quadrática	Estatística F	p-valor
Modelo	7	8,958	1,280	6,290	< 0,001 *
TDH	1	28	28	0,140	0,713
Wetlands	3	8,804	2,935	14,430	< 0,001 *
TDH* <i>wetlands</i>	3	151	50	0,250	0,863
Erro	39	7,934	203		
Total	46	16,892			

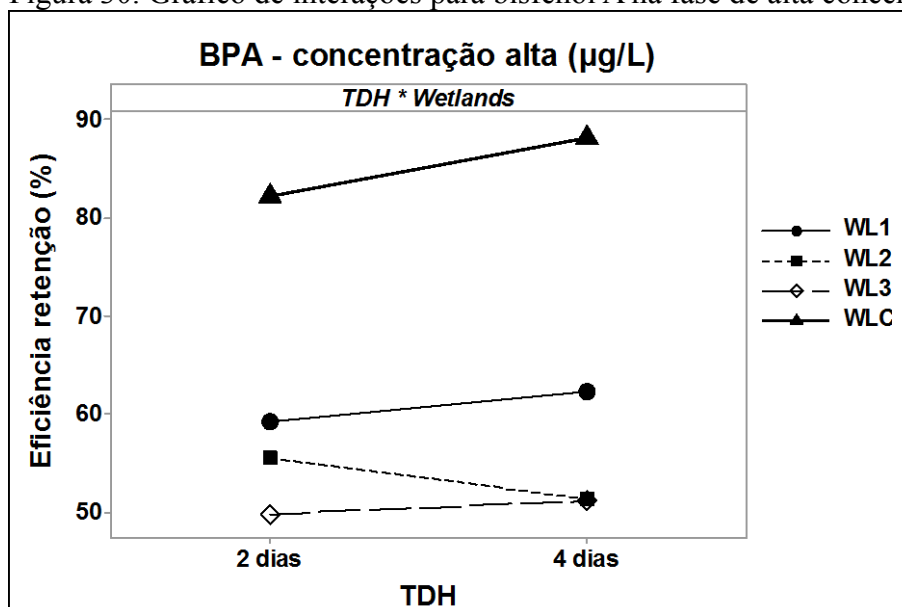
De acordo com o Teste de Tukey (Tabela 15) a WLC (cultivada com mini-papiro contendo brita e carvão como meio suporte) foi a *wetland* mais eficiente para retenção de BPA perante WL1 (p-valor = 0,001), WL2 (p-valor < 0,001) e WL3 (p-valor < 0,001). O p-valor da diferença de eficiência de retenção tendo o TDH como fator não foi significativo (> 0,05), mostrando assim que o TDH não influenciou na retenção de BPA pelas *wetlands*.

Tabela 15. Teste de Tukey para BPA na fase de alta concentração.

Bisfenol A - concentração alta ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística T	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	63,2	61,6	0,4	0,681
Wetlands				
WL2 - WL1	53,4	60,7	-1,2	0,622
WL3 - WL1	50,4	60,7	-1,8	0,282
WLC - WL1	85,1	60,7	4,3	0,001 *
WL3 - WL2	50,4	53,4	-0,6	0,944
WLC - WL2	85,1	53,4	5,4	< 0,001 *
WLC - WL3	85,1	50,4	6,1	< 0,001 *

No gráfico de interações da Figura 30 observa-se que o aumento da eficiência de retenção com TDH = 4 dias é baixo. Também fica claro nesse gráfico que WLC possui maior média de retenção de BPA do que os outros tratamentos.

Figura 30. Gráfico de interações para bisfenol A na fase de alta concentração.



Apesar das interações não terem sido significativas, foi apresentado este gráfico porque nele é possível visualizar os efeitos principais de maneira mais clara que no gráfico de efeitos. É possível observar que diminui a retenção de WL2 quando este vai do TDH de 2 para 4 dias, enquanto nas demais *wetlands* aumenta a retenção. A retenção de WL2 se aproxima à retenção de WL3 (que obteve as menores taxas de retenção) no TDH de 4 dias. Também fica claro neste gráfico a maior eficiência de retenção pela WLC.

— Análise de cargas ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)

Além dos dados dos interferentes endócrinos terem sido analisados em concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), eles também foram analisados em termos de carga ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$), produto da multiplicação dos dados de concentração em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pela vazão média diária em $\text{L}\cdot\text{dia}^{-1}$.

Na fase de concentração baixa as cargas de entrada de BPA na WLC variaram entre 38,0 e 283,3 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, enquanto que as cargas de saída foram de 5,3 à 81,6 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. Para WL1 o mínimo na entrada do sistema foi 33,1 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ e o máximo 192,1 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, já na saída as cargas variaram de 12,9 à 174,6 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. As cargas na entrada de WL2 variaram de 36,9 à 243,4 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, enquanto que na saída foram de 15,2 à 198,0 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. Já em WL3 as cargas de entrada variaram de 38,0 a 249,1 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, e de saída foram de 5,1 à 202,2 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. Na Figura 31 está apresentado o gráfico de entrada e saída de cargas nas *wetlands* na concentração baixa e TDH de 2 dias, e na Figura 32 estão apresentados dados do mesmo tipo para TDH de 4 dias.

Figura 31. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de baixa concentração e TDH = 2 dias.

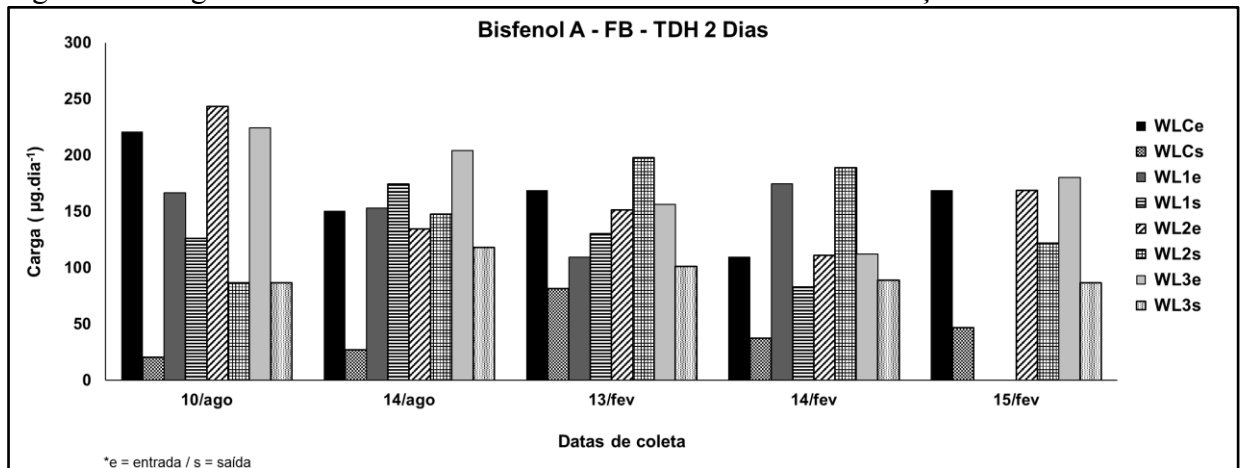
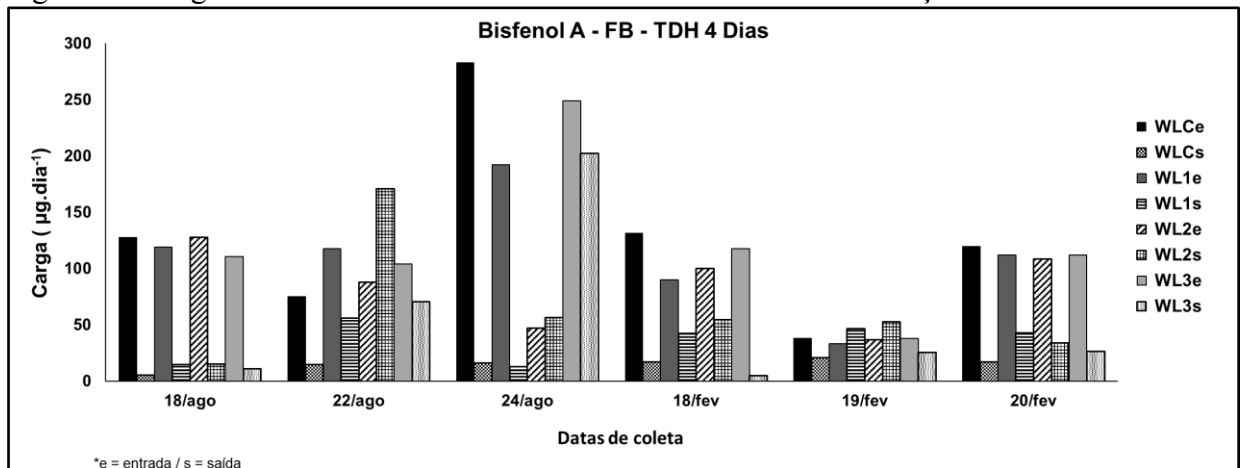


Figura 32. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de baixa concentração e TDH = 4 dias.



Na fase de alta concentração de BPA as cargas de entrada para WLC variaram de 473 à 1638 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, e de 20 à 387 $\mu\text{g.dia}^{-1}$ na saída. Em WL1 a carga mínima de saída foi 46 $\mu\text{g.dia}^{-1}$ e a máxima 1603 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, enquanto que a saída variou de 45 à 432 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Para WL2 as cargas de entrada variaram de 390 à 1237 $\mu\text{g.dia}^{-1}$ e na saída de 149 à 1277 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Já para WL3 a carga mínima de entrada foi 441 $\mu\text{g.dia}^{-1}$ e de saída 97 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, enquanto a máxima de saída foi 624 $\mu\text{g.dia}^{-1}$ e de entrada 1924 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Observa-se na Figura 33 o gráfico de entrada e saída de cargas nas *wetlands* na concentração alta e TDH de 2 dias, e na Figura 34 estão apresentados dados do mesmo tipo para TDH de 4 dias.

Figura 33. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de alta concentração e TDH = 2 dias.

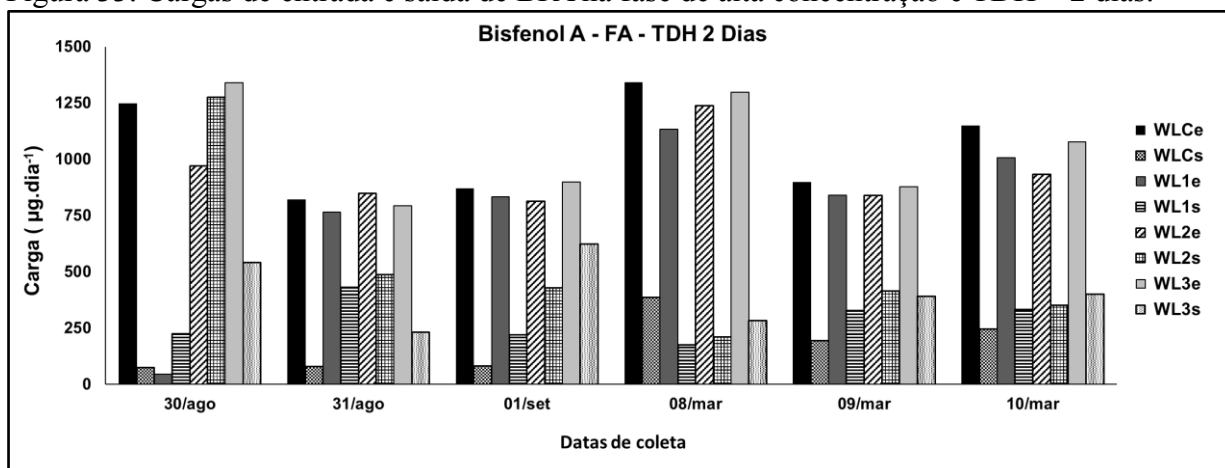
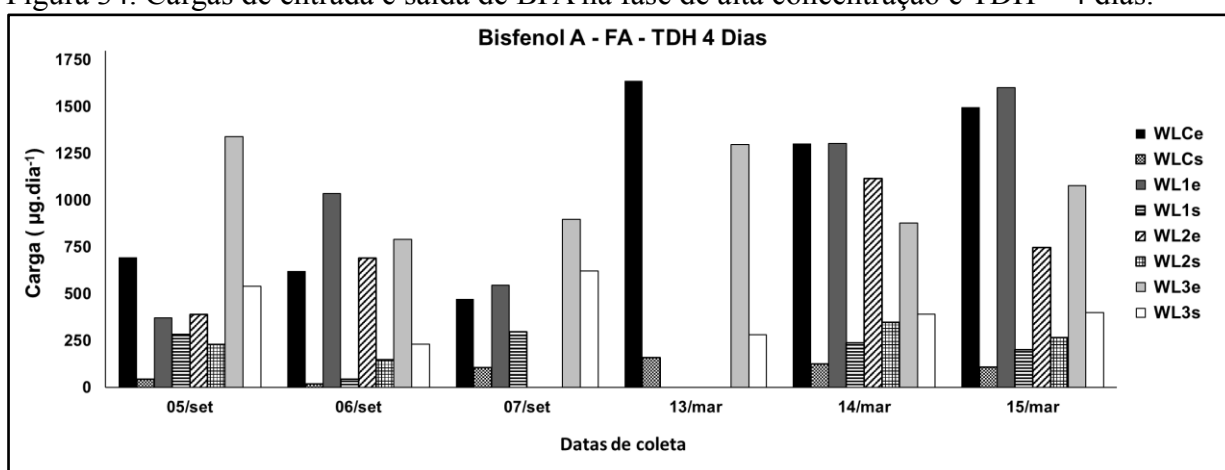


Figura 34. Cargas de entrada e saída de BPA na fase de alta concentração e TDH = 4 dias.



Ao compararmos as retenções máximas e mínimas das *wetlands* observamos que, como no caso da análise de concentrações, todas as retenções máximas ocorreram em WLC. Quanto às remoções mínimas, na fase de baixa concentração foram em WL2, e na fase de alta concentração ambas foram em WL1. Na Tabela 16 estão apresentadas as retenções máximas e mínimas de carga de BPA, em ambos TDH e faixas de concentração.

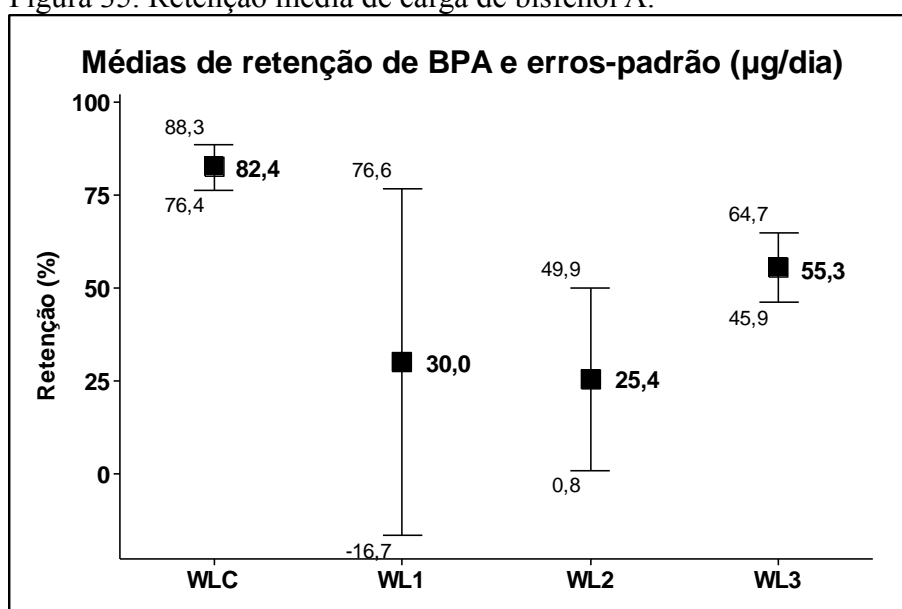
Tabela 16. Retenções mínimas e máximas de carga de BPA com ambas concentrações e TDH estudados.

Wetlands	Baixa concentração - Retenção (%)				Alta concentração - Retenção (%)			
	TDH = 2 dias		TDH = 4 dias		TDH = 2 dias		TDH = 4 dias	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
WLC	90,6	51,7	95,8	44,8	94,0	71,1	96,8	77,7
WL1	52,5	-19,1	93,3	-40,5	84,5	-385,9	95,6	24,2
WL2	64,4	-70,6	88,1	-94,5	83,0	-31,5	78,4	41,1
WL3	61,3	20,8	95,7	18,8	78,3	30,7	84,0	26,9

Na Figura 35 estão apresentadas as médias de retenção de carga de BPA, independente do TDH e da faixa de concentração estudada, com seus respectivos erros-padrão. Como no caso das médias de retenção de concentração, a maior retenção e menor erro-padrão ocorreu para WLC com 82,4 ($\pm 5,9\%$), indicando que os resultados gerados por esta *wetland* foram mais coesos e confiáveis do que nas demais.

A segunda mais eficiente foi WL3 com 55,3 ($\pm 9,4\%$), um erro-padrão pequeno comparado ao da retenção de WL1 ($30,0 \pm 46,6$) maior que a própria média, e de WL2 que obteve 25,4 ($\pm 24,5\%$) de retenção de carga de BPA. Não foram encontrados na literatura taxas de retenção de carga de BPA para comparação.

Figura 35. Retenção média de carga de bisfenol A.



Da mesma maneira que foi realizada a análise estatística dos compostos em concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), também foi realizada com as cargas dos compostos ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$). Para BPA na fase de baixa concentração a retenção foi explicada 38,18% (R^2) pelo modelo com os fatores TDH e *wetlands*. Observa-se na ANOVA (Tabela 17) que a estrutura do modelo com os fatores foi significativa a nível 5% confiança, especialmente pela diferença de desempenho entre as *wetlands* (p-valor menor do que 0,05), uma vez que o TDH não mostrou diferença estatística entre a eficiência entre 2 ou 4 dias.

Tabela 17. Análise de variância das cargas de BPA na fase de baixa concentração.

Bisfenol A - concentração baixa ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma quadrática	Média quadrática	Estatística F	p-valor
Modelo	7	37,393	5,342	3,090	0,012 *
TDH	1	3,794	3,794	2,190	0,148
Wetlands	3	32,577	10,859	6,280	0,002 *
TDH*wetlands	3	1,566	522	0,300	0,824
Erro	35	60,544	1,730		
Total	42	97,937			

Conforme o Teste de Tukey (Tabela 18) a WL2 apresentou menor eficiência média em relação à WLC e WL3, que se mostraram iguais entre si com p-valores maiores do que 0,05. A WL1 obteve desempenho semelhante com todas as três outras *wetlands*. Por causa do fator TDH não ter apresentado p-valor significativo, nenhuma interação foi significativa.

Tabela 18. Teste de Tukey para cargas de BPA na fase de baixa concentração.

Bisfenol A - concentração baixa ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)				
Termo	Média 1	Média 2	Estatística T	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	49,4	31,5	1,5	0,149
Wetlands				
WL2 - WL1	2,4	35,1	-1,8	0,291
WL3 - WL1	50,7	35,1	0,9	0,786
WLC - WL1	77,3	35,1	2,4	0,086
WL3 - WL2	50,7	2,4	2,8	0,038 *
WLC - WL2	77,3	2,4	4,4	0,001 *
WLC - WL3	77,3	50,7	1,5	0,422

Na fase de alta concentração o bisfenol A obteve as retenções de cargas explicadas 36,24% (R^2) pelos fatores TDH e *wetlands*. A ANOVA referente ao delineamento fatorial está apresentada na Tabela 19, onde pode-se observar que o modelo foi significativo ao nível 5% devido às *wetlands*, que influíram nos resultados de retenção.

Tabela 19. Análise de variância das cargas de BPA na fase de alta concentração.

Bisfenol A - concentração alta ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma Quadrática	Média Quadrática	Estatística <i>F</i>	p-valor
Modelo	7	199,091	28,442	2,840	0,019 *
TDH	1	8,739	8,739	0,870	0,357
Wetlands	3	186,728	62,243	6,220	0,002 *
TDH* <i>wetlands</i>	3	990	330	0,030	0,992
Erro	35	350,310	10,009		
Total	42	549,401			

Como é possível observar no Teste de Tukey (Tabela 20) a WLC foi a melhor em eficiência média de retenção de cargas do que todas as outras três *wetlands* para retenção de BPA, na fase de alta concentração. O TDH não foi significativo estatisticamente a nível 5%, logo, a interação não tem forte correlação (como foi verificado na ANOVA). Todos os resultados de carga de entrada e saída de bisfenol A, com suas respectivas retenções, encontram-se no Apêndice 2.

Tabela 20. Teste de Tukey para cargas de BPA na fase de alta concentração.

Bisfenol A - concentração alta ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)				
Termo	Média 1	Média 2	Estatística <i>T</i>	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	71,9	44,1	1,0	0,329
Wetlands				
WL2 - WL1	50,7	25,3	-0,9	0,798
WL3 - WL1	61,5	25,3	-0,7	0,884
WLC - WL1	87,0	25,3	2,9	0,028 *
WL3 - WL2	61,5	50,7	0,2	0,995
WLC - WL2	87,0	50,7	3,8	0,003 *
WLC - WL3	87,0	61,5	3,8	0,003 *

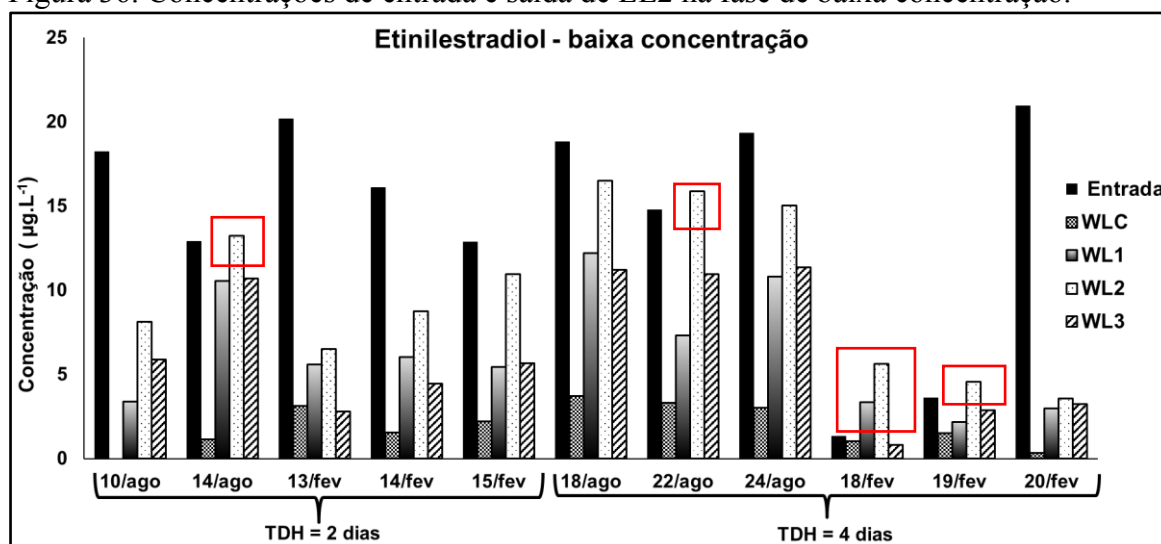
6.2.1.2. Etinilestradiol (EE2)

— Análise das concentrações ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Na fase de concentração baixa (FB) a concentração máxima de entrada de EE2 foi $21,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e a mínima foi $1,3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. As concentrações de saída de EE2 variaram de 0,0 à $3,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para WLC, de 2,2 à $12,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para WL1, de 3,6 à $16,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para WL2 e de 0,8 à $11,4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para WL3. Na saída de WLC as concentrações de EE2 foram menores no que nas

demais *wetlands*. Observa-se na Figura 36 as concentrações de entrada e saída (WLC, WL1, WL2 e WL3) de EE2 na FB com TDH de 2 e 4 dias.

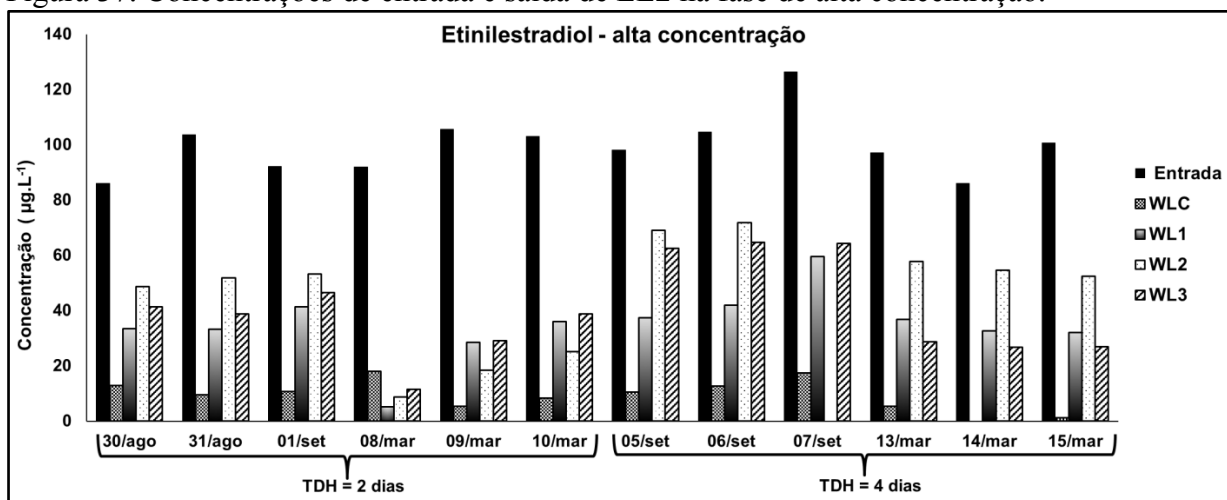
Figura 36. Concentrações de entrada e saída de EE2 na fase de baixa concentração.



Observa-se no gráfico da Figura 36 que no dia 14/08/16 (TDH = 2 dias) a concentração de WL2 (*wetland* controle – sem planta) foi maior na saída do sistema do que na entrada, o mesmo aconteceu para os dias 22/08/16 e 19/02/17 (TDH = 4 dias). No dia 18/02/17, também com TDH de 4 dias, ocorreu aumento de EE2 na saída do sistema para WL1 (brita e mini-papiro) e WL2. Estes fatos podem ter sido ocasionados por acúmulo e posterior liberação do hormônio pela *wetland*; é interessante observar que o aumento na saída ocorreu três vezes para a *wetland* sem planta, e apenas uma vez para a *wetland* plantada, evidenciando a influência positiva da macrófita neste caso específico.

Na FA as concentrações de entrada do sistema variaram de 86,0 à 126,3 µg.L⁻¹. A saída de WLC variou de 0,0 à 18,1 µg.L⁻¹, de 5,1 à 59,6 µg.L⁻¹ em WL1, de 8,6 à 71,8 µg.L⁻¹ em WL2 e de 11,5 à 64,6 µg.L⁻¹ para WL3. Mais uma vez as concentrações de saída de WLC foram menores que das demais *wetlands*, o que pode ter sido pela influência do carvão de bambu como meio suporte. No gráfico da Figura 37 observa-se que todas as concentrações de saída foram menores que as de entrada, para ambos TDH, mostrando ser um sistema eficiente na retenção de EE2 na faixa de alta concentração. Na Figura 37 estão apresentadas as concentrações de entrada e saída (WLC, WL1, WL2 e WL3) de EE2 na FA com TDH de 2 e 4 dias.

Figura 37. Concentrações de entrada e saída de EE2 na fase de alta concentração.



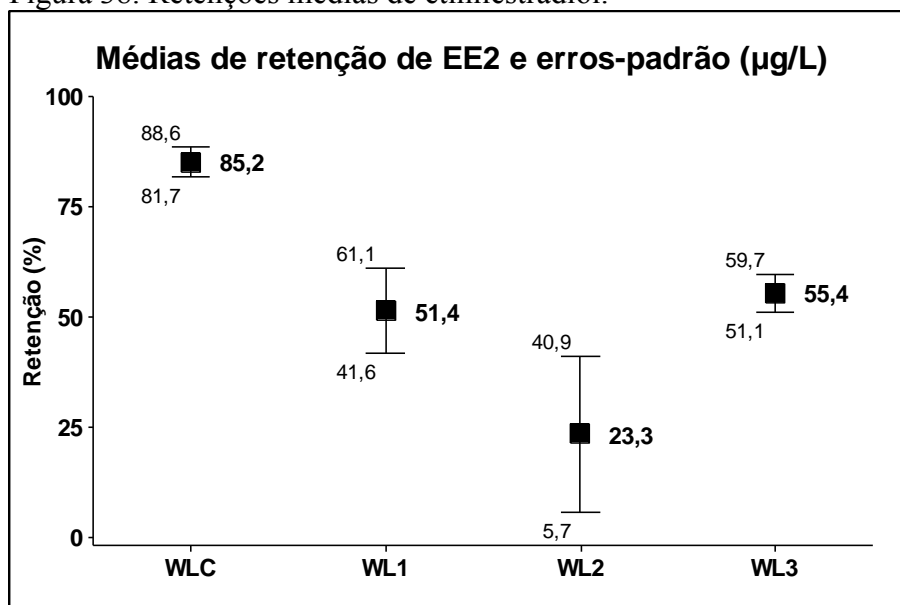
Na Tabela 21 estão apresentadas as retenções máximas e mínimas de EE2 pelas *wetlands*, em ambos TDH e fase de concentração. Como no caso do BPA, as máximas retenções ocorreram para a *wetland* com carvão, e as mínimas foram na *wetland* não plantada – o que evidencia a eficiência do carvão como meio suporte, e a influência da planta na retenção dos compostos.

Tabela 21. Retenções mínimas e máximas de EE2 com ambas concentrações e TDH estudados.

Wetlands	Baixa concentração - Retenção (%)				Alta concentração - Retenção (%)			
	TDH = 2 dias		TDH = 4 dias		TDH = 2 dias		TDH = 4 dias	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
WLC	100,0	82,8	98,4	23,0	95,0	80,3	100,0	86,2
WL1	81,4	18,2	85,7	-149,4	94,4	55,1	68,1	52,8
WL2	67,7	-2,4	82,9	-321,7	90,6	42,4	47,9	29,7
WL3	86,1	17,1	84,5	20,1	87,5	49,7	84,5	36,2

Conforme é possível verificar na Figura 38, a retenção média de EE2 em WLC foi 85,2 ($\pm 3,4\%$) – o menor erro-padrão obtido até o momento. Mais uma vez WLC obteve a maior eficiência de retenção entre as *wetlands* (com ambos TDH e fase de concentração) tendo em vista que WL3 obteve 55,4 ($\pm 4,3\%$), a retenção média de WL1 foi 51,4 ($\pm 9,7\%$), e de WL2 obteve mais uma vez a menor eficiência com maior erro-padrão dentre as *wetlands*, com 23,3 ($\pm 17,6\%$). Todos os resultados de concentração de entrada e saída de etinilestradiol, com suas respectivas retenções, encontram-se no Apêndice 2.

Figura 38. Retenções médias de etinilestradiol.



Vymazal, Březinová & Koželuh (2015) estudaram a retenção de EE2 e outros hormônios tratando esgoto municipal proveniente de pequenos bairros por três *constructed wetlands* de fluxo subsuperficial (após pré-tratamento) em média com 10 anos de operação. O TDH variou de 7,1 à 8,7 dias, a *wetland* A era cultivada com *Phragmites australis* e *Phalaris arundinacea*, e as *wetlands* B e C eram cultivadas apenas com *Phragmites australis* - todas utilizaram brita como meio suporte. Os autores observaram concentrações de entrada de 6,0 ng.L⁻¹ (A), 2,8 ng.L⁻¹ (B) e concentrações menores que o limite de quantificação (2 ng.L⁻¹) na *wetland* C, e na saída dos sistemas 2,6 ng.L⁻¹, 0,52 ng.L⁻¹ e 2,21 ng.L⁻¹, respectivamente, concentrações menores que neste estudo. Calculando as taxas de retenção observa-se 56,7% para *wetland* A, 81,4% para B e na *wetland* C a média de saída foi maior que a de entrada. As taxas de retenção dos autores citados anteriormente foram próximas às faixas de retenção obtidas no presente estudo, no entanto com TDH muito maiores, havendo também acúmulo na saída do sistema de uma das *wetlands*, como ocorreu neste estudo com WL2.

Ávila *et al.* (2014a) pesquisaram a retenção de EE2 adicionado à esgoto municipal por um sistema híbrido de *wetlands* contendo duas de fluxo vertical, uma de fluxo horizontal e uma de fluxo superficial, cultivadas com *Phragmites australis* em escala piloto. Os autores estudaram 3 diferentes taxas de carregamento hidráulico (TCH), realizando injeção contínua de EE2 e outros interferentes endócrinos. Os autores observaram que quanto maior o TCH menores foram as taxas de retenção, que ficaram entre 20 e 80% para EE2, variações próximas às médias obtidas no presente estudo.

Kumar *et al.* (2011) estudou a atenuação natural do hormônio etinilestradiol em

três diferentes tanques, um com macrófitas flutuantes (Tanque 1), um com macrófitas emergentes e submersas integradas (Tanque 2) e um sistema com macrófitas submersas enraizadas juntamente com microalgas (Tanque 3). Segundo o autor, o Tanque 1 se mostrou mais eficiente na remoção de EE2 (EE2 – 69.1%), valor menor que a média obtida em WLC, porém maior que nas demais *wetlands*. Já o Tanque 2 obteve 18.5% de remoção, e o Tanque 3, 7.7% para EE2, menores retenções que as obtidas neste estudo.

Song *et al.* (2009) avaliaram a eficiência de três *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis* (com três profundidades diferentes) de fluxo vertical e areia como meio suporte, para polimento de um esgoto municipal após tratamento convencional e terciário visando remoção de EE2 e outros hormônios. Os autores atingiram remoções máximas de 75,3 (\pm 17,6%) de etinilestradiol na *wetland* extremamente superficial que possuía 7,5 cm de profundidade e TDH de 3,1 horas.

Song *et al.* (2009) relataram que a operação da *wetland* extremamente superficial em condições não saturadas, alta densidade de raízes das macrófitas e manutenção das condições aeróbias na *wetland* foram as principais condições para uma boa remoção de estrogênios – tendo em vista que apenas 12% da remoção de estrogênios foi devida à adsorção dos mesmos na areia. Maiores condições aeróbias podem ter sido um dos motivos pelo qual as taxas de retenção de EE2 foram mais altas na WLC, que devido à granulometria do carvão de bambu e da brita utilizada, possuía maior índice de vazios que nas demais *wetlands*. (Herrera-Melián *et al.*, 2017) também atribuíram altas eficiências de remoção de hormônios a um meio suporte bastante aerado. Além disso, a utilização de um meio suporte orgânico, neste caso o carvão de bambu, pode aumentar a eficiência de retenção de poluentes quando comparado à brita.

Gray & Sedlak (2005) utilizaram uma *wetland* de 368m³ para tratar água de rio onde é lançado esgoto (após tratamento terciário) à montante, cultivada com duas espécies de *Typha* e três de *Scirpus*. Os autores pesquisaram a retenção de EE2 adicionado ao afluente desta *wetland* com TDH de 84 horas (3,5 dias), e observaram remoção máxima de 41% - próxima às retenções médias obtidas neste estudo.

Na fase de baixa concentração o etinilestradiol não possuiu um modelo significativo (p-valor = 0,066) e apresentou R² = 29,20%, o menor até o momento. O único fator que apresentou diferença de eficiência a 5% de significância foram as *wetlands*. Na Tabela 22 está apresentada a ANOVA e na Tabela 23 as comparações realizadas com o Teste de Tukey.

Tabela 22. Análise de variância de EE2 na fase de baixa concentração.

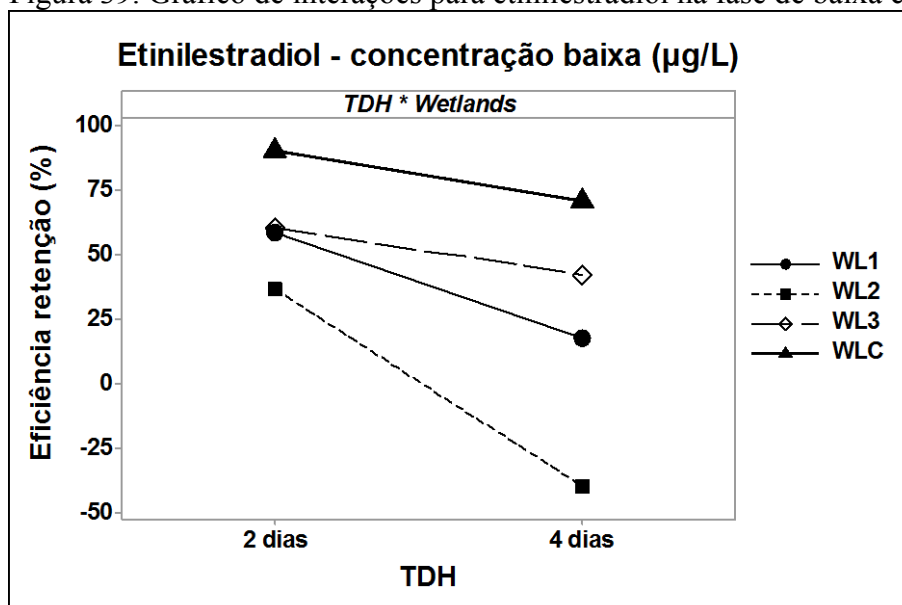
Ethinilestradiol - concentração baixa ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma	Média	Estatística <i>F</i>	p-valor
		Quadrática	Quadrática		
Modelo	7	62,765	8,966	2,120	0,066
TDH	1	16,190	16,190	3,830	0,058
Wetlands	3	37,668	12,556	2,970	0,045 *
TDH* <i>wetlands</i>	3	5,990	1,997	0,470	0,703
Erro	36	152,171	4,227		
Total	43	214,936			

Tabela 23. Teste de Tukey para EE2 na fase de baixa concentração.

Ethinilestradiol - concentração baixa ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística <i>T</i>	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	22,6	61,1	-2,0	0,053
Wetlands				
WL2 - WL1	-1,7	38,1	-1,5	0,433
WL3 - WL1	50,9	38,1	0,5	0,955
WLC - WL1	80,0	38,1	1,6	0,401
WL3 - WL2	50,9	-1,7	2,0	0,192
WLC - WL2	80,0	-1,7	3,1	0,018 *
WLC - WL3	80,0	50,9	1,1	0,711

De acordo com o Teste de Tukey a WLC foi mais eficiente na média de retenção de EE2 do que a *wetland* de controle, mas semelhante aos tratamentos WL1 e WL3. Observa-se no gráfico de interações (Figura 39) que a eficiência de retenção aumenta no TDH de 2 dias para todas as *wetlands*, apesar deste fator não ter sido significativo no Teste de Tukey, e que a média de retenção de WLC é maior em relação aos demais tratamentos mesmo tendo sido significativa apenas para “WLC *versus* WL2”.

Figura 39. Gráfico de interações para etinilestradiol na fase de baixa concentração.



Na fase de alta concentração a eficiência de retenção do hormônio foi explicada 66,21% pelos fatores estudados, o melhor R^2 obtido até o momento, e isso refletiu em p-valores menores que 0,05 para o modelo foi significativo por inteiro, inclusive com a interação entre TDH e *wetlands*, conforme apresentado na Tabela 24. Isso significa que o modelo com os fatores envolvidos foram significativos, e que se fosse repetido nas mesmas condições seriam obtidos resultados ótimos de retenção de EE2.

Tabela 24. Análise de variância de EE2 na fase de alta concentração.

Etinilestradiol - concentração alta ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
	Soma	Média			
Fonte de variação	g.l.	Quadrática	Quadrática	Estatística F	p-valor
Modelo	7	12,280	1,754	10,920	< 0,001 *
TDH	1	1,143	1,143	7,120	0,011 *
Wetlands	3	10,234	3,411	21,230	< 0,001 *
TDH*wetlands	3	1,395	465	2,890	0,047 *
Erro	39	6,266	161		
Total	46	18,546			

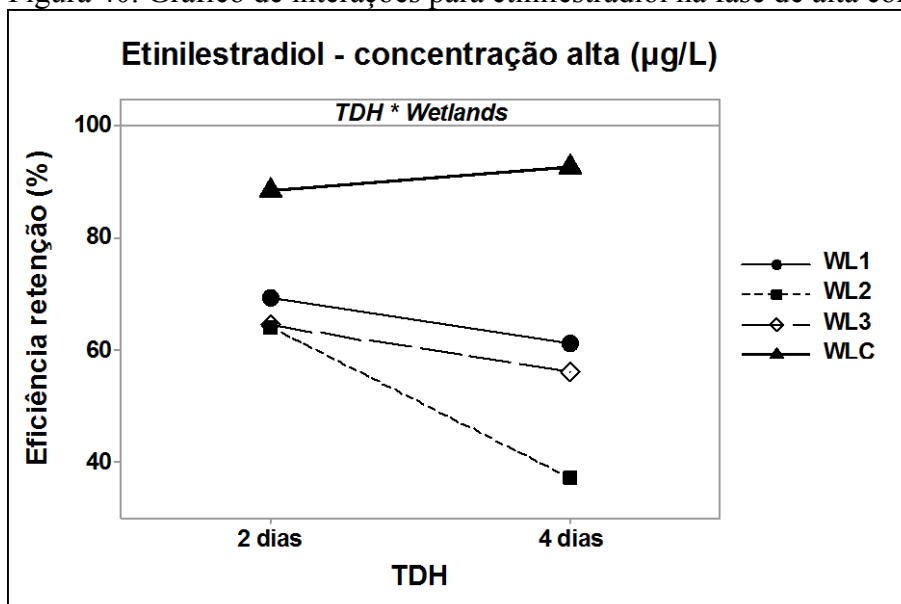
Nos testes de Tukey (Tabela 25) foi possível estimar qual foi a melhor combinação entre os fatores para otimizar a eficiência de retenção do etinilestradiol. O TDH de 2 dias foi mais eficiente do que o de 4 dias, em média. Quanto as *wetlands*, WLC possuiu melhor desempenho médio de retenção do que as demais.

Tabela 25. Teste de Tukey para EE2 na fase de alta concentração.

Ethinilestradiol - concentração alta ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística T	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	61,8	71,7	-2,4	0,021 *
<i>Wetlands</i>				
WL2 - WL1	50,7	65,3	-2,5	0,082
WL3 - WL1	60,3	65,3	-0,9	0,798
WLC - WL1	90,7	65,3	4,6	< 0,001 *
WL3 - WL2	60,3	50,7	1,6	0,412
WLC - WL2	90,7	50,7	7,0	< 0,001 *
WLC - WL3	90,7	60,3	5,5	< 0,001 *

Diante da análise anterior, a melhor combinação de fatores foi TDH de 2 dias com WLC para atingir a melhor eficiência de retenção do etinilestradiol na faixa alta de concentração. A eficiência de WLC foi bem mais alta que das demais *wetlands*, e a variação de eficiência aumentou conforme o TDH foi de 2 para 4 dias. As demais *wetlands* tiveram diminuição da eficiência conforme aumentaram os dias de TDH. Estas observações podem ser visualizadas na Figura 40.

Figura 40. Gráfico de interações para etinilestradiol na fase de alta concentração.



— Análise de cargas ($\mu\text{g.dia}^{-1}$)

Os dados de etinilestradiol, como os de BPA, também foram analisados em valores de carga. A carga de EE2 na entrada de WLC na fase de baixa concentração variou de

6,4 à 242,1 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, e na saída de 0,0 à 26,1 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. Para WL1 as cargas de entrada variaram de 4,4 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ para 168,4 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, e as de saída de 7,0 à 94,3 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. Em WL2 as cargas de entrada variaram de 4,9 a 167,9 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, e de saída de 8,7 à 112,7 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. Quanto a WL3 as cargas de entrada variaram de 5,8 à 212,9 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, e de saída de 2,5 à 122,6 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. É possível observar na Figura 41 o gráfico de entrada e saída de cargas nas *wetlands* na concentração baixa e TDH de 2 dias, e na Figura 42 estão apresentados dados do mesmo tipo para TDH de 4 dias.

Figura 41. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de baixa concentração e TDH = 2 dias.

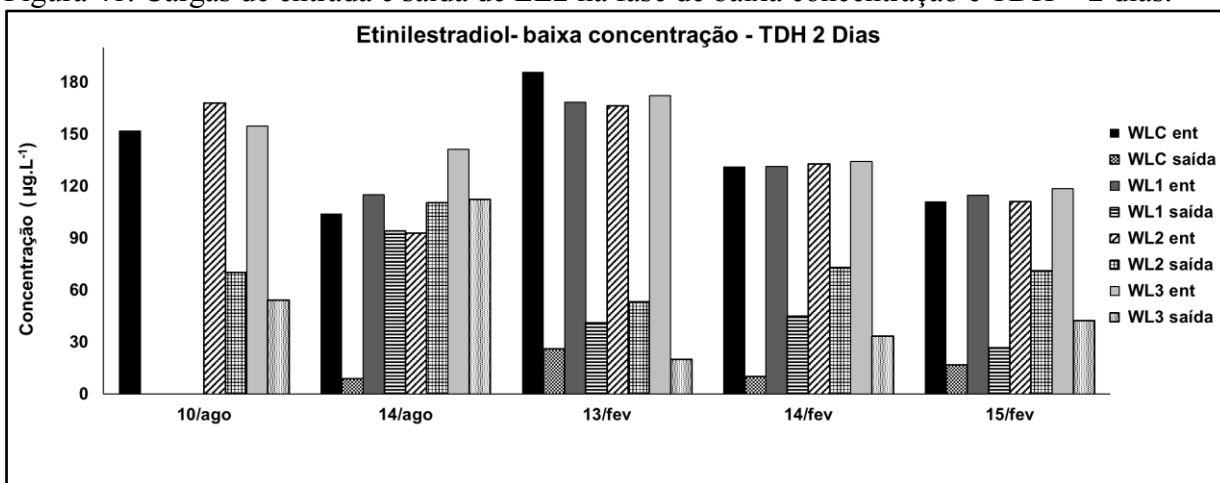
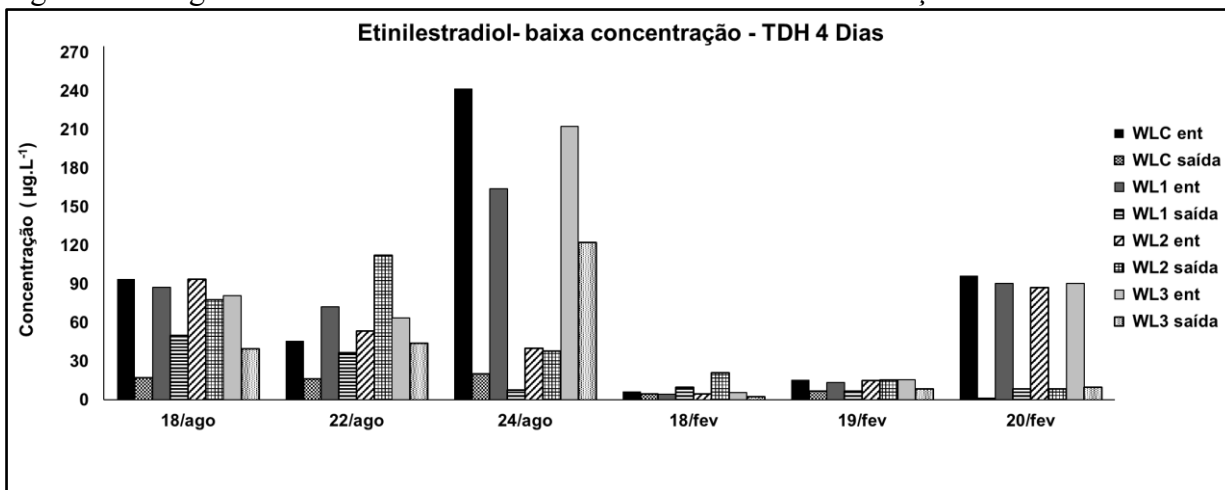


Figura 42. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de baixa concentração e TDH = 4 dias.



Na fase alta de concentração a carga de entrada de EE2 na WLC variou de 347 à 950 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, já a saída foi de 0 à 146 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$. Para WL1 a carga de entrada variou de 25 à 904 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ e de 29 à 326 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ na saída do sistema. Em WL2 a entrada variou de 203 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ (valor mínimo bem mais alto que nas demais *wetlands*) até 925 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, enquanto a

saída variou de 56 à 1.092 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, cargas maiores que nas demais *wetlands*. Na entrada de WL3 a carga de EE2 variou de 367 à 913 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$, e de 71 à 364 $\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$ na saída do sistema. Observa-se que o valor máximo de entrada nas *wetlands* foram semelhantes, devido à concentração ser a mesma e as vazões serem próximas. Está apresentado na Figura 43 o gráfico de entrada e saída de cargas nas *wetlands* na concentração alta e TDH de 2 dias, e na Figura 44 estão apresentados dados do mesmo tipo para TDH de 4 dias.

Figura 43. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de alta concentração e TDH = 2 dias.

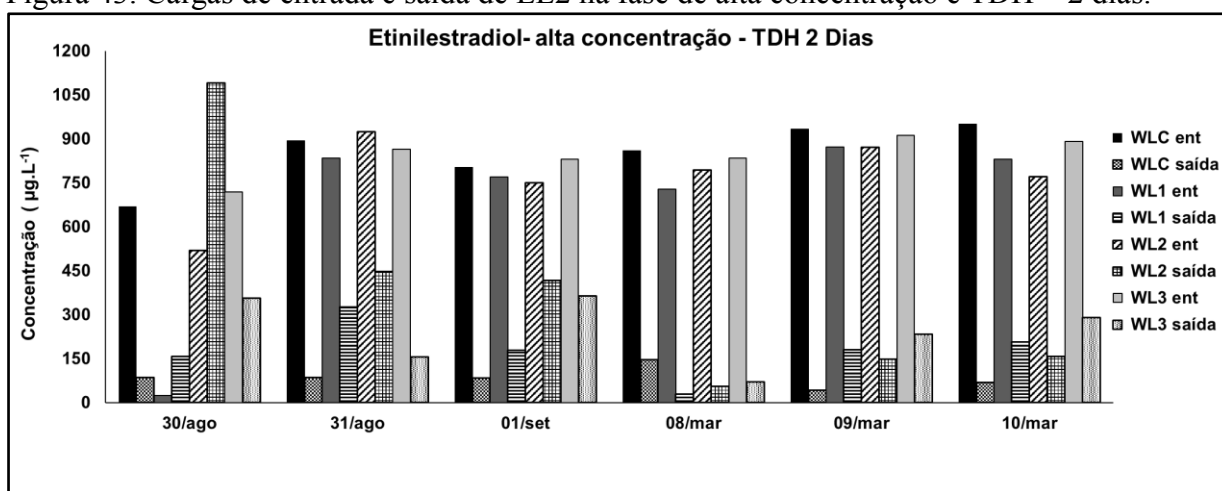
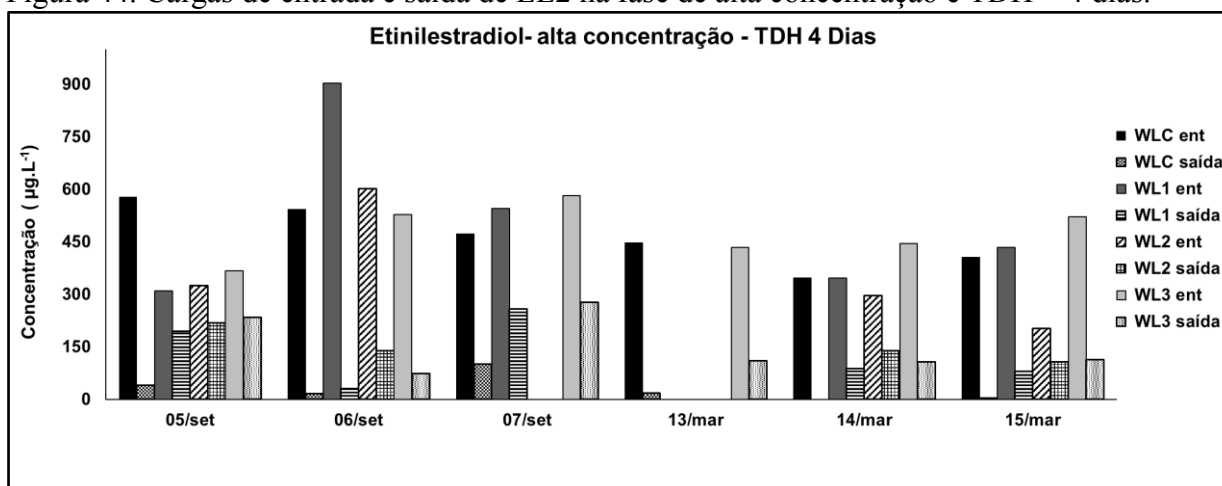


Figura 44. Cargas de entrada e saída de EE2 na fase de alta concentração e TDH = 4 dias.



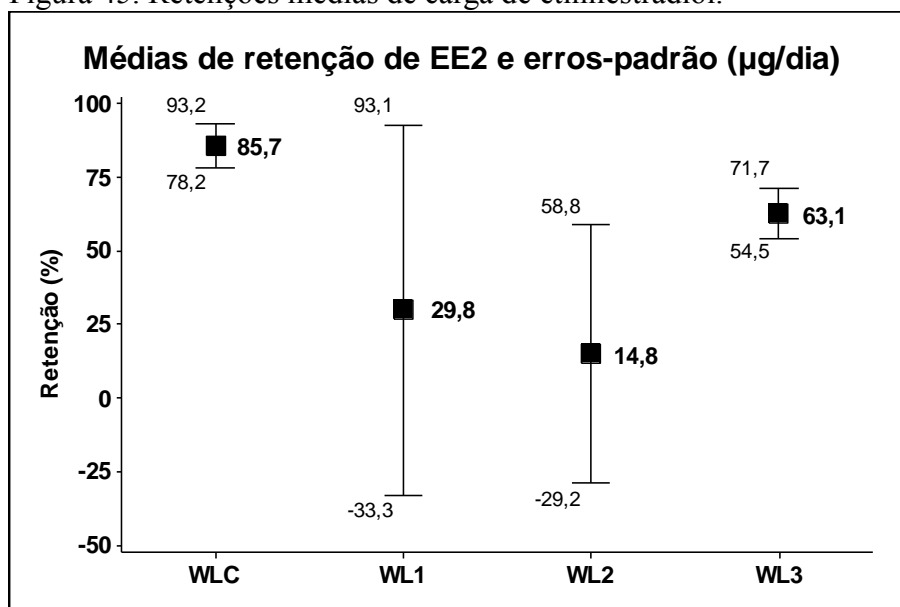
Na Tabela 26 estão apresentadas as retenções máximas e mínimas das cargas de EE2 levando em consideração os dois TDH e fases de concentração estudadas. WLC foi a *wetland* mais eficiente e WL2 a menos eficiente para retenção de carga de EE2 em todos os casos, exceto no TDH de 2 dias em alta concentração onde WL1 obteve as eficiências máxima e mínima.

Tabela 26. Retenções mínimas e máximas de carga de EE2 com ambas concentrações e TDH estudados.

Wetlands	Baixa concentração - Retenção (%)				Alta concentração - Retenção (%)			
	TDH = 2 dias		TDH = 4 dias		TDH = 2 dias		TDH = 4 dias	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
WLC	100,0	84,8	98,5	24,1	95,5	83,1	100,0	78,7
WL1	76,8	18,2	95,3	-127,7	96,0	-539,8	96,7	37,5
WL2	67,9	-18,8	90,1	-329,9	92,9	-109,7	76,9	32,7
WL3	88,3	20,4	88,8	30,7	91,4	50,2	85,9	36,2

Na Figura 45 estão apresentadas as médias de retenção de EE2 em ambas fases de concentração e TDH, com seus respectivos erros-padrão, onde é possível observar que novamente WLC foi a *wetland* com maior eficiência de retenção e menor erro-padrão ($85,7 \pm 7,5\%$). A *wetland* com aguapé mais uma vez apareceu em segundo lugar em eficiência de retenção, pois obteve $63,1 (\pm 8,6\%)$. WL1 obteve $29,8 (\pm 63,3\%)$, um erro-padrão muito alto, e WL2 foi a menos eficiente mais uma vez com média de $14,8 (\pm 44\%)$. Não foram encontrados resultados em carga na literatura, para que as retenções pudessem ser comparadas.

Figura 45. Retenções médias de carga de etinilestradiol.



O etinilestradiol em concentração baixa obteve retenção de carga explicada $29,15\%$ (R^2) pelo modelo de dois fatores, e apenas as *wetlands* tiveram influência nos resultados. Conforme ANOVA apresentada na Tabela 27, o modelo não foi significativo, porém a interferência das *wetlands* foi significativa a nível 5% (p -valor $< 0,05$).

Tabela 27. Análise de variância das cargas de EE2 na fase de baixa concentração.

Ethinilestradiol - concentração baixa ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma Quadrática	Média Quadrática	Estatística <i>F</i>	p-valor
Modelo	7	77,621	11,089	1,760	0,132
TDH	1	8,249	8,249	1,310	0,261
Wetlands	3	61,456	20,485	3,260	0,035 *
TDH* <i>wetlands</i>	3	10,481	3,494	0,560	0,648
Erro	30	188,669	6,289		
Total	37	266,290			

Como pode ser observado na comparação múltipla de Tukey (Tabela 28) a WLC obteve uma grande diferença em relação ao desempenho da *wetland* de controle, que apresentou eficiência negativa em média. Contudo, as demais *wetlands* foram iguais entre si a nível 5%. O TDH teve p-valor maior do que 0,05, portanto as interações não foram válidas.

Tabela 28. Teste de Tukey para cargas de EE2 na fase de baixa concentração.

Ethinilestradiol - concentração baixa ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística <i>T</i>	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	25,0	62,7	-1,3	0,206
Wetlands				
WL2 - WL1	-12,7	43,5	-1,4	0,498
WL3 - WL1	56,9	43,5	-0,6	0,942
WLC - WL1	79,1	43,5	1,6	0,396
WL3 - WL2	56,9	-12,7	1,0	0,775
WLC - WL2	79,1	-12,7	3,0	0,028 *
WLC - WL3	79,1	56,9	2,3	0,125

Na fase alta de concentração de EE2 o modelo foi significativo a nível 5%, explicando 31,74% (R^2) da retenção de carga do hormônio. O TDH e as *wetlands* foram significantes no modelo, conforme ANOVA (Tabela 29), contudo a interação não obteve p-valor menor ou igual a 0,05, portanto ela não foi considerada válida.

Tabela 29. Análise de variância das cargas de EE2 na fase de alta concentração.

Ethinilestradiol - concentração alta ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma Quadrática	Média Quadrática	Estatística <i>F</i>	p-valor
Modelo	7	0,0046	0,0007	2,460	0,036 *
TDH	1	0,0012	0,0012	4,420	0,042 *
Wetlands	3	0,0029	0,0010	3,610	0,022 *
TDH* <i>wetlands</i>	3	0,0010	0,0003	1,230	0,312
Erro	37	0,0100	0,0003		
Total	44	0			

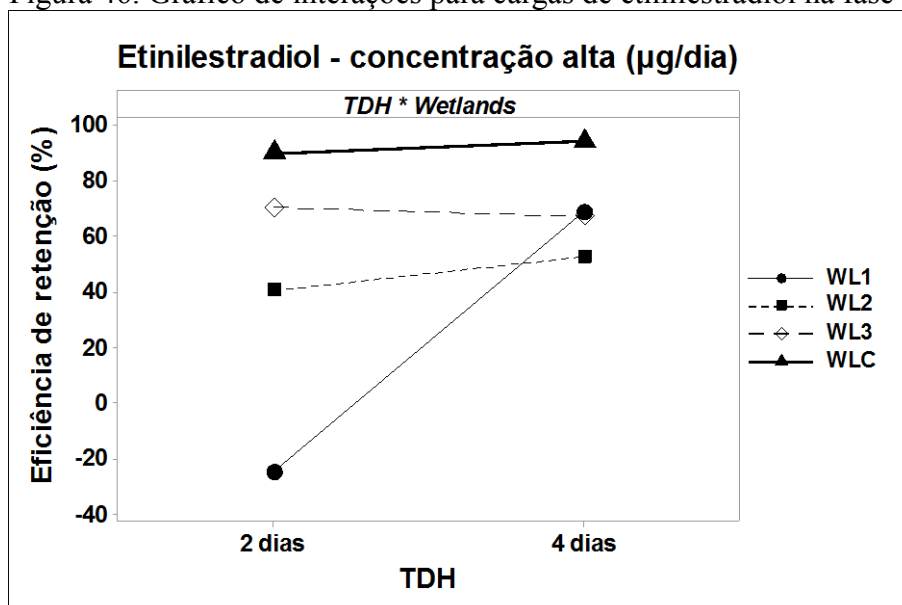
O TDH de 4 dias foi mais eficiente em média no teste de Tukey (Tabela 30), e quanto às *wetlands*, WLC apresentou desempenho melhor do que WL2, porém estimou-se que seu desempenho foi parecido com WL1 e WL3.

Tabela 30. Teste de Tukey para cargas de EE2 na fase de alta concentração.

Ethinilestradiol - concentração alta ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística <i>T</i>	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	72,4	43,7	1,9	0,050 *
Wetlands				
WL2 - WL1	45,2	17,4	1,8	0,306
WL3 - WL1	68,7	17,4	1,1	0,666
WLC - WL1	91,8	17,4	-1,1	0,666
WL3 - WL2	68,7	45,2	-0,7	0,902
WLC - WL2	91,8	45,2	-2,9	0,029 *
WLC - WL3	91,8	68,7	-2,3	0,107

Apesar de TDH e *wetlands* terem sido significativos, não foi possível estabelecer uma interação uma vez que WL1, WL3 e WLC foram parecidas em desempenho, e quando foram analisadas simultaneamente com o TDH: WLC não apresentou diferença acentuada na eficiência entre o TDH de 2 e 4 dias, WL3 apresentou maior eficiência no TDH de 2 dias e menor no de 4 dias, contrariando o sentido mostrado nos testes; e embora houvesse crescimento de 2 para 4 dias de TDH, a WL1 possuía eficiência mais baixa no TDH de 2 dias, e não atingiu o mesmo índice alto da WLC em 4 dias. Na Figura 46 podem-se verificar as observações descritas anteriormente. Todos os resultados de carga de entrada e saída de EE2, e as respectivas retenções, encontram-se no Apêndice 2.

Figura 46. Gráfico de interações para cargas de etinilestradiol na fase de alta concentração.



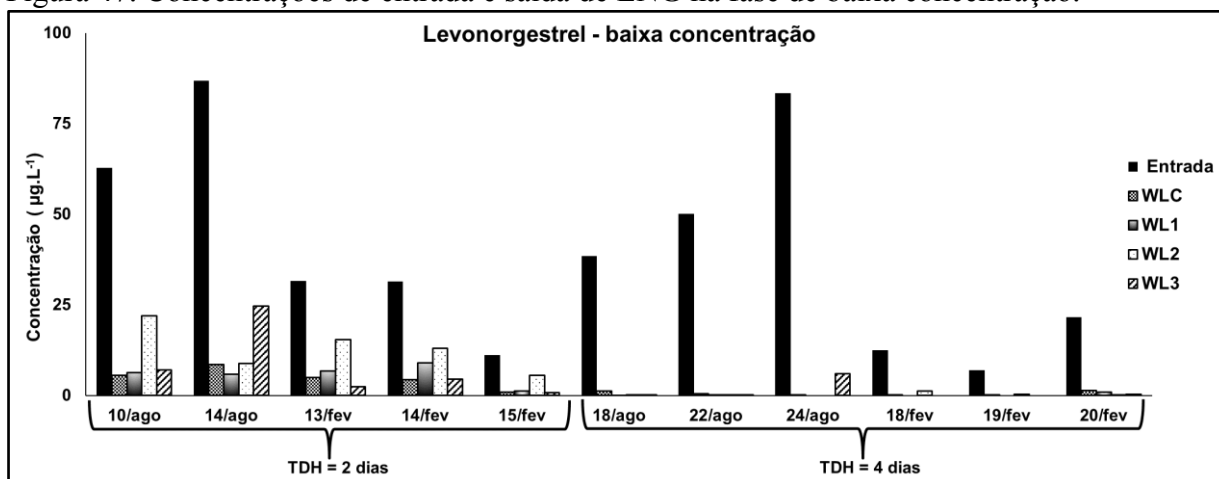
6.2.1.3. Levonorgestrel (LNG)

— Análise das concentrações ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

A concentração de entrada deveria ser próxima a $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ na fase de baixa concentração e $500 \mu\text{g.L}^{-1}$ na fase de alta concentração, no entanto observou-se concentrações muito menores. A diminuição da concentração na entrada do sistema provavelmente ocorreu pelo fato do levonorgestrel ser a substância com menor solubilidade ($1,73 \text{ mg.L}^{-1}$), quando comparado ao EE2 ($11,3 \text{ mg.L}^{-1}$) e BPA (300 mg.L^{-1}), provavelmente sua dissolução no esgoto sintético não tenha sido tão eficiente quanto dos outros compostos. Não foram encontrados dados concretos na literatura sobre o tempo de meia-vida do LNG em águas residuárias ou superficiais, mas outra possibilidade para que as concentrações de entrada do sistema não serem atingidas seria que o LNG poderia ser rapidamente degradado.

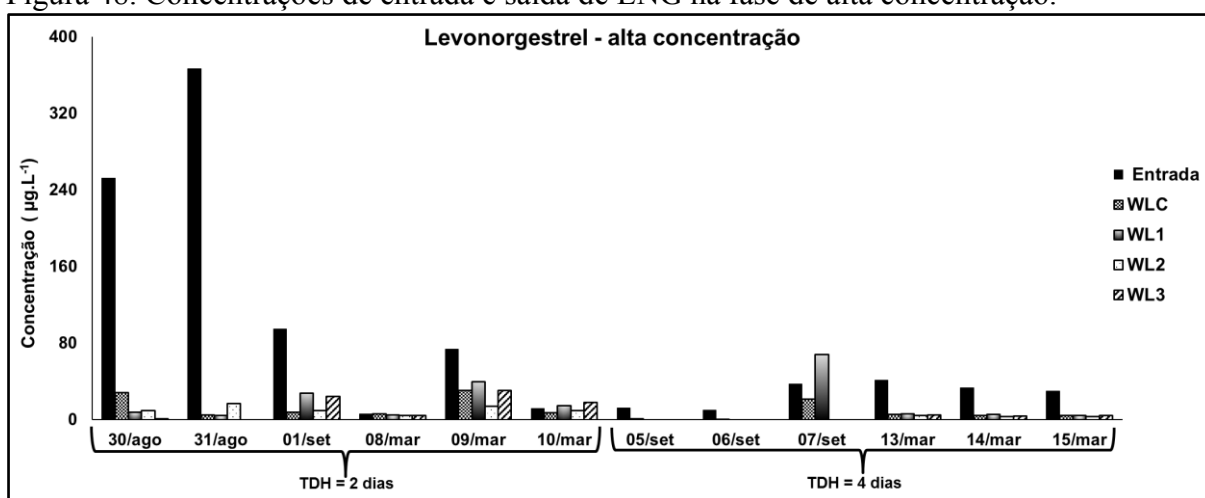
Na fase de baixa concentração os valores de entrada variaram de $6,9$ a $86,7 \mu\text{g.L}^{-1}$ de levonorgestrel, e de $0,1$ a $8,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ para WLC, de $0,0$ a $9,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ em WL1, entre $0,0$ e $22,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ para WL2 e de $0,0$ a $24,7 \mu\text{g.L}^{-1}$ para WL3. As menores concentrações de saída foram para as *wetlands* cultivadas com mini-papiro, WL1 e WLC (novamente), mas também é possível observar no gráfico abaixo que as concentrações de saída das *wetlands* foram muito baixas, em relação às concentrações de saída dos demais compostos. Na Figura 47 estão apresentadas as concentrações de entrada e saída (WLC, WL1, WL2 e WL3) de LNG na FB com TDH de 2 e 4 dias.

Figura 47. Concentrações de entrada e saída de LNG na fase de baixa concentração.



Os valores de entrada de LNG na fase de alta concentração tiveram uma grande faixa de variação em relação aos demais compostos, de 6,3 a 366,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Os valores de saída de WLC foram de 0,6 a 30,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$, de 0,0 a 68,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para WL1, de 0,0 a 16,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ em WL2 e de 0,0 a 30,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$ em WL3. A menor concentração de saída ocorreu para a *wetland* sem planta. Observa-se na Figura 48 as concentrações de entrada e saída (WLC, WL1, WL2 e WL3) de LNG na fase de alta concentração com TDH de 2 e 4 dias. O mesmo observado na FB para levonorgestrel pode ser observado na FA, as concentrações de saída são mais baixas que nos demais compostos (independente do TDH) e as concentrações de entrada de LNG possuem uma ampla faixa de variação.

Figura 48. Concentrações de entrada e saída de LNG na fase de alta concentração.



É possível observar na Tabela 31 que as médias de retenção de levonorgestrel foram maiores que de BPA e EE2, além disso, pela primeira vez WLC não foi a *wetland* mais

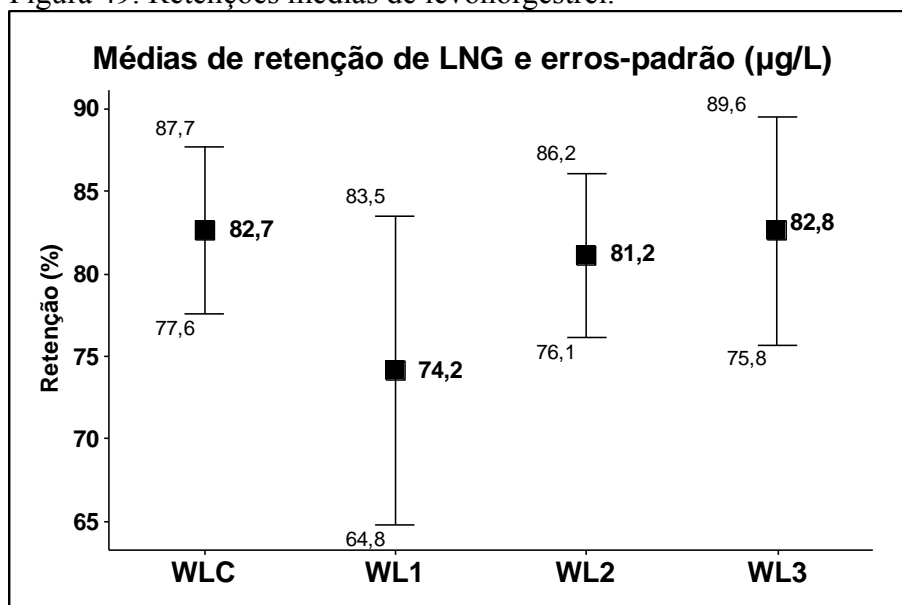
eficiente em nenhum dos casos. WL3 foi a *wetland* mais eficiente em todas combinações de fatores, e com TDH de 4 dias (independente da faixa de concentração) WL1 e WL2 foram também as mais eficientes, juntamente com WL3. WL2 foi a *wetland* com retenção mínima na fase de baixa concentração, e na fase de alta concentração WL3 obteve mínima retenção com TDH de 2 dias, e WL1 com TDH de 4 dias.

Tabela 31. Retenções mínimas e máximas de LNG com ambas concentrações e TDH estudados.

Wetlands	Baixa concentração - Retenção (%)				Alta concentração - Retenção (%)			
	TDH = 2 dias		TDH = 4 dias		TDH = 2 dias		TDH = 4 dias	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
WLC	91,3	84,5	99,8	94,0	98,6	1,3	94,3	42,4
WL1	93,3	71,4	100,0	96,1	98,8	-21,5	100,0	-82,7
WL2	89,8	0,0	100,0	89,6	96,3	21,3	100,0	89,3
WL3	93,6	71,5	100,0	92,8	100,0	-50,5	100,0	86,1

A maior média de retenção de LNG foi para WL3 com 82,8 ($\pm 6,8$), quase igual à WLC com 82,7 ($\pm 5,0\%$), porém com erro-padrão menor. Pela primeira vez WL2 obteve maior média de retenção maior que qualquer outra *wetland* ($81,2 \pm 5,0\%$), e WL1 obtiveram a menor média de retenção 74,2 ($\pm 9,3\%$). Aparentemente o aguapé foi mais eficiente na retenção do que o mini-papiro, e provavelmente o carvão de bambu teve influência para que WLC obtivesse a segunda maior média de retenção. Na Figura 49 observa-se as médias de retenção das *wetlands* com ambas faixas de concentração e TDH, com seus respectivos erros-padrão. Todos os resultados de concentração de entrada e saída de LNG, e as respectivas retenções, encontram-se no Apêndice 2.

Figura 49. Retenções médias de levonorgestrel.



As taxas de retenção de levonorgestrel foram mais elevadas em relação aos demais compostos, observa-se que as retenções mínimas para o composto levonorgestrel foram muito altas quando comparadas às retenções mínimas dos outros compostos.

Foi encontrado somente um trabalho que estudou a remoção de LNG por diversas configurações de *constructed wetlands* em escala piloto tratando esgoto do campus universitário (Herrera-Melián *et al.*, 2017). A *wetland* horizontal era cultivada com *Cyperus* sp. E *Phragmites* sp., capacidade de 265L, e continha resíduo de palmeira como meio suporte. Já a *wetland* vertical possuía 200L, não era plantada, e continha o mesmo meio suporte que a *wetland* horizontal. Os autores não encontraram levonorgestrel na entrada do sistema de *wetlands*, mas na saída da *wetland* horizontal a concentração ficou entre 12 e 14 ng.L⁻¹, e na *wetland* vertical entre 6 e 8 ng.L⁻¹, concentrações muito menores que as trabalhadas neste estudo.

Li *et al.* (2014) estudaram a remoção de LNG em três tanques de 288L contendo água ultra pura contaminada com 180 µg.L⁻¹ do hormônio, um deles sem macrófita, outro com *Eichhornia crassipes* (sem estar fixada a meio suporte) e outro contendo *Cyperus alternifolius*, também flutuante. Com TDH de 50 dias a remoção obtida foi de 79.8% ± 3.1% no tanque com *Cyperus alternifolius*, e 78.9% ± 2.5% no tanque com aguapé (Li *et al.*, 2014). Os resultados encontrados pelos autores com TDH de 50 dias são um pouco menores que os encontrados no presente estudo, com TDH variando de 2 a 4 dias, evidenciando que as quatro *wetlands* foram eficientes na retenção de levonorgestrel.

Na fase baixa de concentração a ANOVA do delineamento fatorial obteve R² =

74,34%, o melhor obtido até o momento, o que significa que a retenção do levonorgestrel é explicada pelos fatores TDH e tipo de *wetlands*. Conforme apresentado na Tabela 32 (abaixo) com nível de 5% de confiança o modelo foi significativo, assim como a interação do TDH com o tipo de *wetland*.

Tabela 32. Análise de variância de LNG na fase de baixa concentração.

Levonorgestrel - concentração baixa ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma Quadrática	Média Quadrática	Estatística F	p-valor
Modelo	7	5,553	793	14,900	< 0,001 *
TDH	1	3,389	3,389	63,660	< 0,001 *
Wetlands	3	1,274	425	7,980	< 0,001 *
TDH*<i>wetlands</i>	3	1,085	362	6,790	0,001 *
Erro	36	1,916	53		
Total	43	7,469			

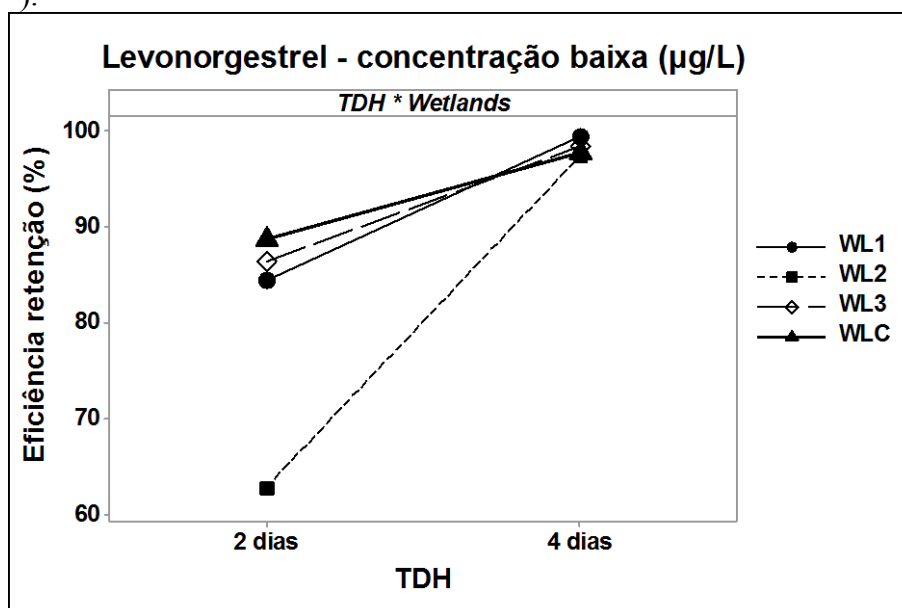
Com nível 5% de significância os resultados apontaram diferença de eficiência média entre os diferentes TDH, sendo que o de 4 dias apresentou eficiência média maior do que o de 2 dias, e quanto ao tipo de *wetland*, com a de controle (WL2) obtendo desempenho inferior às três demais *wetlands*, que possuem eficiências afins. Na Tabela 33 pode-se observar os testes de Tukey e os p-valores indicando as diferenças entre TDH e *wetlands*.

Tabela 33. Teste de Tukey para LNG na fase de baixa concentração.

Levonorgestrel - concentração baixa ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística T	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	98,2	80,6	6,6	< 0,001 *
Wetlands				
WL2 - WL1	80,1	91,9	-2,9	0,028 *
WL3 - WL1	92,4	91,9	0,1	> 0,999
WLC - WL1	93,2	91,9	0,3	0,992
WL3 - WL2	92,4	80,1	3,0	0,022 *
WLC - WL2	93,2	80,1	3,2	0,014 *
WLC - WL3	93,2	92,4	0,2	0,998

Logo, a interação entre o TDH de 4 dias e a WLC, WL1 ou WL3 produziram resultados de alta eficiência. Na Figura 50 está apresentado o gráfico de interações de TDH com *wetlands*, onde é possível observar que quando o TDH vai de 2 para 4 dias a eficiência de retenção aumenta, e que WL2 obteve desempenho inferior que os demais tratamentos.

Figura 50. Gráfico de interações para levonorgestrel na fase de baixa concentração ($100\mu\text{g.L}^{-1}$).



Na fase de concentração alta de levonorgestrel ($500\mu\text{g.L}^{-1}$) o modelo não foi significativo a nível 5%, com apenas 20,95% (R^2) dos resultados explicados pelos dois fatores. Na ANOVA abaixo (Tabela 34) observa-se que o TDH foi diferente em eficiência com nível 5% de significância, porém a interação com as *wetlands* não foi forte o bastante.

Tabela 34. Análise de variância de LNG na fase de alta concentração.

Levonorgestrel - concentração alta ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma Quadrática	Média Quadrática	Estatística <i>F</i>	p-valor
Modelo	7	91,701,166	13,100,167	1,360	0,251
TDH	1	77,081,044	77,081,044	8,020	0,008 *
<i>Wetlands</i>	3	12,297,549	4,099,183	0,430	0,735
TDH* <i>wetlands</i>	3	2,819,884	939,961	0,100	0,961
Erro	36	346,045,896	9,612,386		
Total	43	437,747,062			

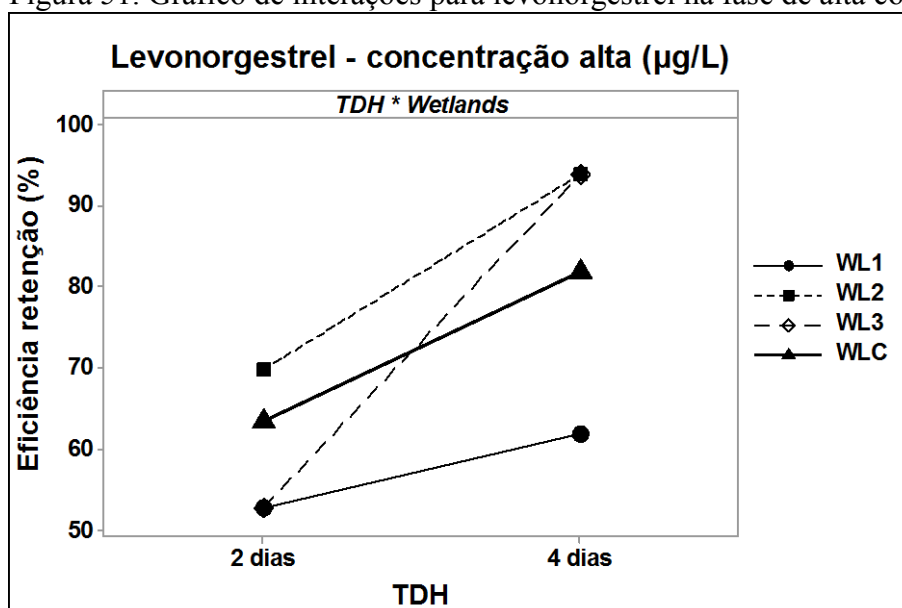
O TDH de 4 dias obteve resultado significativo a nível 5% de confiança, então pode-se dizer que sua eficiência média foi melhor do que o TDH de 2 dias. As interações não produziram resultados expressivos, pois as *wetlands* são consideradas como iguais em retenção média de hormônio. Na Tabela 35 pode-se observar os resultados do Teste de Tukey.

Tabela 35. Teste de Tukey para LNG na fase de alta concentração.

Levonorgestrel - concentração alta ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística T	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	82,8	59,6	3,0	0,005 *
<i>Wetlands</i>				
WL2 - WL1	81,8	57,3	0,2	0,995
WL3 - WL1	73,3	57,3	0,4	0,976
WLC - WL1	72,6	57,3	-0,6	0,918
WL3 - WL2	73,3	81,8	0,2	0,998
WLC - WL2	72,6	81,8	-0,9	0,803
WLC - WL3	72,6	73,3	-1,1	0,697

No gráfico de interações apresentado na Figura 51 é possível observar que conforme o TDH vai de 2 para 4 dias a eficiência das *wetlands* aumenta, principalmente para WL3, apesar de não ter resultado em um p-valor significativo.

Figura 51. Gráfico de interações para levonorgestrel na fase de alta concentração.



— Análise de cargas ($\mu\text{g.dia}^{-1}$)

Ao analisarmos as cargas de levonorgestrel na fase de baixa concentração, observamos que na entrada de WLC variaram de 30 à 1043 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, e na saída de 1 à 67 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. A carga de LNG na entrada de WL1 variou de 26 à 774 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, e na saída de 0 à 67 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Em WL2 a carga de entrada vaiou de 29 à 624 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, e na saída de 0 à 190 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Em WL3 a carga de entrada variou de 30 à 949 $\mu\text{g.dia}^{-1}$ e de saída 0 – 259 $\mu\text{g.dia}^{-1}$.

Observa-se na Figura 52 as cargas de entrada e saída de levonorgestrel na fase de concentração baixa e TDH de 2 dias, e na Figura 53 as mesmas informações com TDH de 4 dias.

Figura 52. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de baixa concentração e TDH = 2 dias.

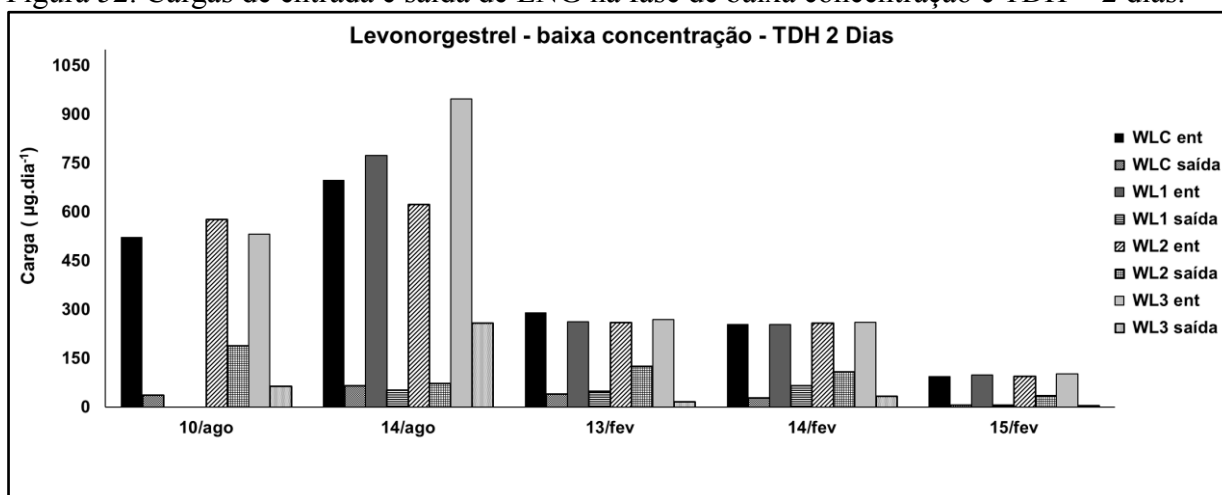
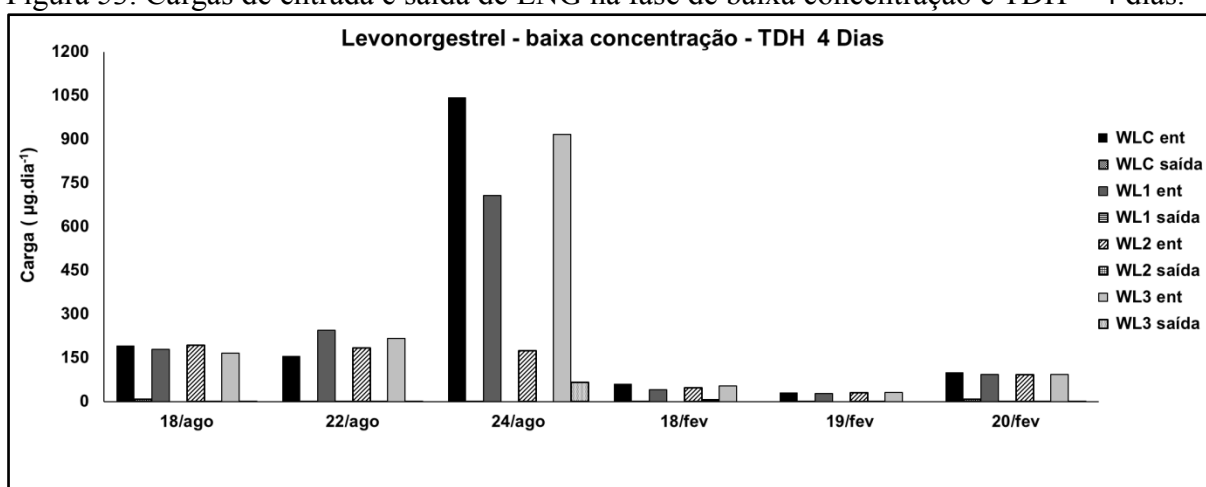


Figura 53. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de baixa concentração e TDH = 4 dias.



Na fase de alta concentração as cargas de entrada de LNG na WLC variaram de 52 à 3167 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, e na saída de 1 à 248 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Em WL1 a entrada variou de 39 à 2955 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, e a saída de 0 à 295 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, próximos aos valores de saída de WLC. Em WL2 a entrada variou de 40 à 3272 $\mu\text{g.dia}^{-1}$ (valor próximo à WLC), e a saída de 0 à 212 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Para WL3 as cargas de entrada variaram de 46 à 3061 $\mu\text{g.dia}^{-1}$, e de saída de 0 à 247 $\mu\text{g.dia}^{-1}$. Na Figura 54 estão apresentadas as cargas de entrada e saída de levonorgestrel na fase de concentração alta e TDH de 2 dias, e na Figura 55 as mesmas informações com TDH de 4 dias.

Figura 54. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de alta concentração e TDH = 2 dias.

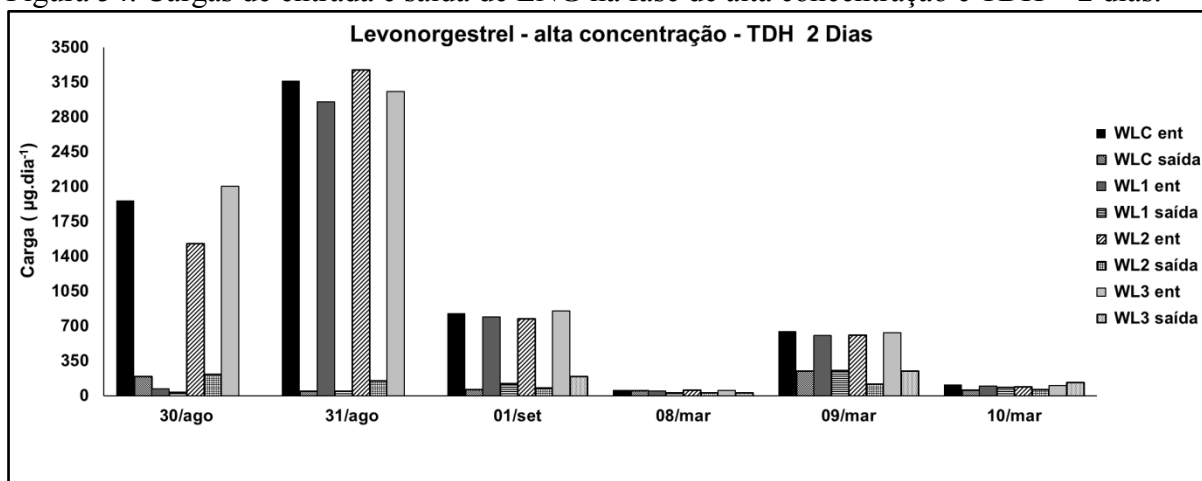
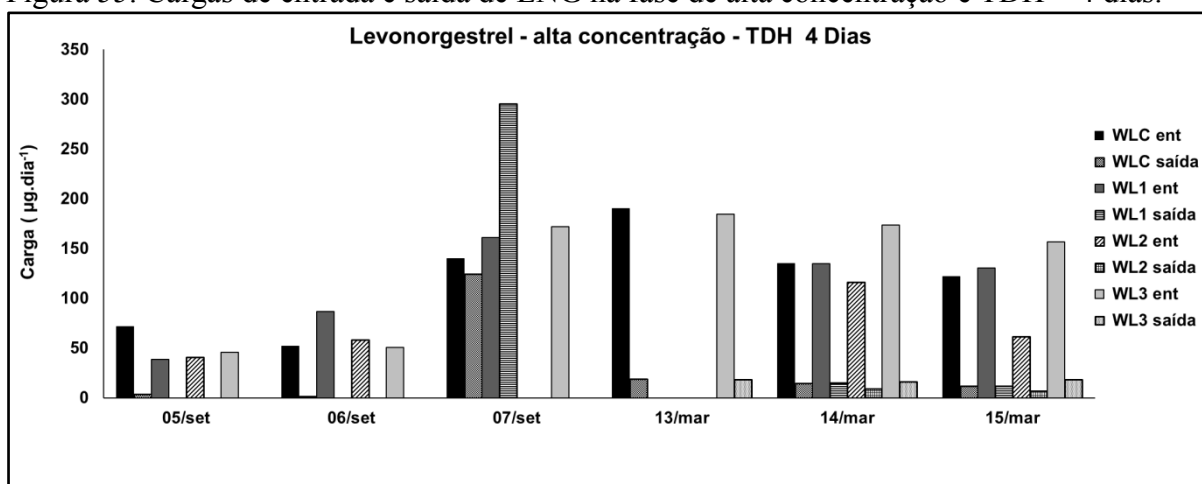


Figura 55. Cargas de entrada e saída de LNG na fase de alta concentração e TDH = 4 dias.



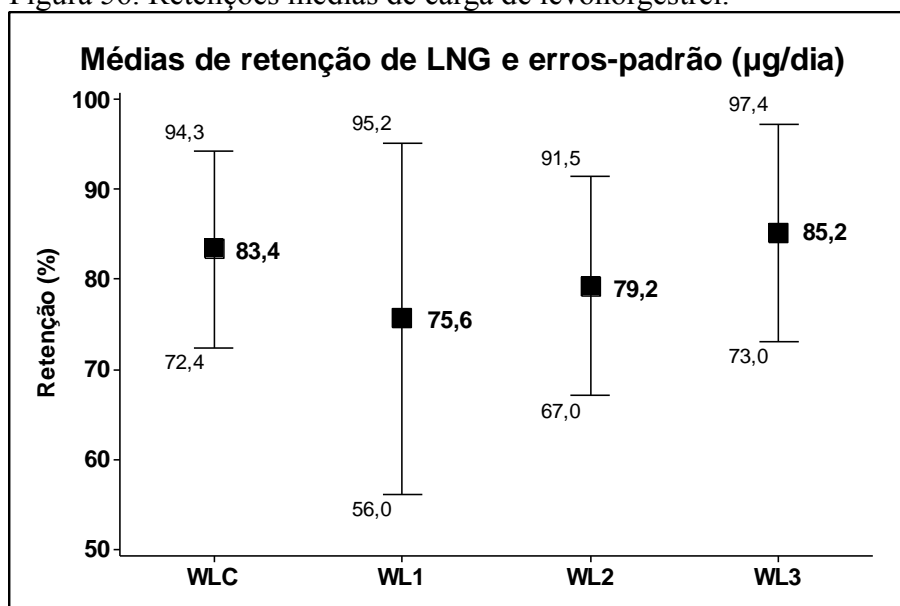
Na Tabela 36 estão apresentados as retenções máximas e mínimas de carga de levonorgestrel com ambas faixas de concentração e TDH estudados. Da mesma maneira que no estudo da retenção de concentração de LNG, WLC não foi a *wetland* que obteve valores máximos de retenção em nenhum dos casos. WL3 obteve as máximas retenções em todas combinações de fatores, e com TDH de 4 dias (independente da faixa de concentração) WL1 e WL2 também obtiveram 100% de retenção, juntamente com WL3. WL2 foi a *wetland* com retenção mínima na fase de baixa concentração, e na fase de alta concentração WL3 obteve mínima retenção com TDH de 2 dias, e WL1 com TDH de 4 dias.

Tabela 36. Retenções mínimas e máximas de carga LNG com ambas concentrações e TDH estudados.

Wetlands	Baixa concentração - Retenção (%)				Alta concentração - Retenção (%)			
	TDH = 2 dias		TDH = 4 dias		TDH = 2 dias		TDH = 4 dias	
	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima
WLC	92,7	85,9	99,9	94,3	98,5	14,9	98,6	11,4
WL1	94,0	73,7	100,0	97,4	98,5	13,2	100,0	-82,7
WL2	88,2	0,0	100,0	89,4	95,5	33,4	100,0	89,2
WL3	94,8	72,7	100,0	93,0	100,0	-30,4	100,0	88,6

Na Figura 56 observa-se as retenções médias de carga de LNG nas *wetlands*, com seus respectivos erros-padrão. Como na análise de concentrações, a WL3 foi a *wetland* mais eficiente na retenção de carga de LNG com 85,2 ($\pm 12,2\%$), seguida de WLC com 83,4 ($\pm 10,9\%$) de retenção. A *wetland* de controle obteve 79,2 ($\pm 12,3\%$) de retenção, média alta e com pequeno erro-padrão quando comparada às retenções de BPA e EE2 por WL2. Mais uma vez WL1 foi a *wetland* menos eficiente para retenção de LNG, com 75,6 ($\pm 19,6\%$) de média.

Figura 56. Retenções médias de carga de levonorgestrel.



A análise estatística das cargas de LNG na concentração baixa obteve o modelo significativo a nível 5% com todos os seus termos, refletindo em um R^2 ótimo de 75,32%. Logo, os fatores principais e interação forneceram resultados ótimos para a retenção de carga levonorgestrel. Na Tabela 37 pode-se observar a ANOVA do delineamento fatorial para carga de LNG.

Tabela 37. Análise de variância de carga de LNG na fase de baixa concentração.

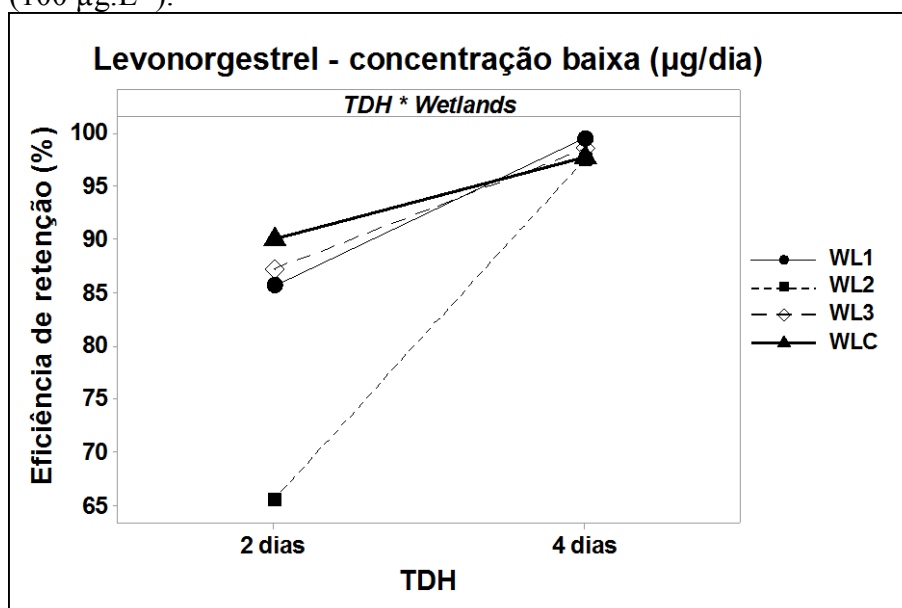
Levonorgestrel - concentração baixa ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma Quadrática	Média Quadrática	Estatística <i>F</i>	p-valor
Modelo	7	4,776	682	15,260	< 0,001 *
TDH	1	2,796	2,796	62,540	< 0,001 *
Wetlands	3	1,113	371	8,300	< 0,001 *
TDH*<i>wetlands</i>	3	962	321	7,170	0,001 *
Erro	35	1,565	45		
Total	42	6,340			

O TDH de 4 dias apresentou melhores resultados a nível 5% de confiança no teste de Tukey (Tabela 38), bem como a WL2 obteve o pior desempenho dentre as quatro *wetlands*. Contudo, estimou-se que as *wetlands* obtiveram desempenhos afins, portanto teríamos três interações válidas (Figura 57) - com 4 dias de TDH a interação com a WL1, WL3 e WLC forneceram resultados satisfatórios de eficiência média de retenção de levonorgestrel.

Tabela 38. Teste de Tukey para cargas de LNG na fase de baixa concentração.

Levonorgestrel - concentração baixa ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística <i>T</i>	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	98,3	81,9	6,5	< 0,001 *
Wetlands				
WL2 - WL1	82,9	93,9	-2,8	0,035 *
WL3 - WL1	93,4	93,9	0,1	> 0,999
WLC - WL1	94,2	93,9	0,3	0,987
WL3 - WL2	93,4	82,9	3,0	0,023 *
WLC - WL2	94,2	82,9	3,3	0,012 *
WLC - WL3	94,2	93,4	0,3	0,995

Figura 57. Gráfico de interações para cargas de levonorgestrel na fase de baixa concentração ($100 \mu\text{g.L}^{-1}$).



Na fase de concentração alta o hormônio foi retido com os fatores explicando 29,58% (R^2), com apenas o TDH significativo, sendo que o modelo em si não apresentou p-valor menor ou igual a 0,05. Na Tabela 39 estão apresentados os resultados da ANOVA.

Tabela 39. Análise de variância de carga de LNG na fase de alta concentração.

Levonorgestrel - concentração alta ($\mu\text{g.dia}^{-1}$)					
Fonte de variação	g.l.	Soma Quadrática	Média Quadrática	Estatística F	p-valor
Modelo	7	43,159,384,718	6,165,626,388	2,220	0,055
TDH	1	37,358,121,744	37,358,121,744	13,460	0,001 *
<i>Wetlands</i>	3	3,414,110,151	1,138,036,717	0,410	0,747
TDH* <i>wetlands</i>	3	3,137,001,550	1,045,667,183	0,380	0,770
Erro	37	102,730,000,000	2,776,499,892		
Total	44	145,890,000,000			

O teste de Tukey (Tabela 40) demonstrou que apenas o TDH de 4 dias foi maior que o de 2 dias, e as *wetlands* não possuíram diferença significativa a nível 5% entre si. Logo, a interação não foi válida. Todos os resultados de carga de entrada e saída de LNG, e as respectivas retenções, encontram-se no Apêndice 2.

Tabela 40. Teste de Tukey para cargas de LNG na fase de alta concentração.

Levonorgestrel - concentração alta ($\mu\text{g}\cdot\text{dia}^{-1}$)				
Comparação	Média 1	Média 2	Estatística T	p-valor
TDH				
4 dias - 2 dias	82,2	64,8	3,7	0,001 *
<i>Wetlands</i>				
WL2 - WL1	81,9	59,0	0,9	0,826
WL3 - WL1	77,7	59,0	0,8	0,853
WLC - WL1	73,4	59,0	0,0	> 0,999
WL3 - WL2	77,7	81,9	-0,1	> 0,999
WLC - WL2	73,4	81,9	-0,8	0,837
WLC - WL3	73,4	77,7	-0,8	0,863

6.2.1.4. Validação do método cromatográfico

O método analítico mostrou ser eficiente, sensível e adequado para a quantificação dos analitos em amostras de esgoto sintético provenientes das *wetlands* construídas.

— Especificidade e seletividade

A especificidade foi avaliada visualmente, comparando um cromatograma da matriz sem os analitos (amostra branco) com um cromatograma da matriz com os analitos (amostra fortificada), com o intuito de verificar se existia alguma substância interferente saindo no mesmo tempo de retenção que os compostos a serem analisados. BPA e EE2 foram identificados no comprimento de onda de 280nm. Conforme mostrado nas Figuras 58 e 59 nenhum interferente foi observado nos mesmos tempos de retenção de BPA e EE2.

Figura 58. Cromatogramas utilizados para avaliação da seletividade: (a) amostra branco (280nm) e (b) padrões BPA e EE2 (280nm).

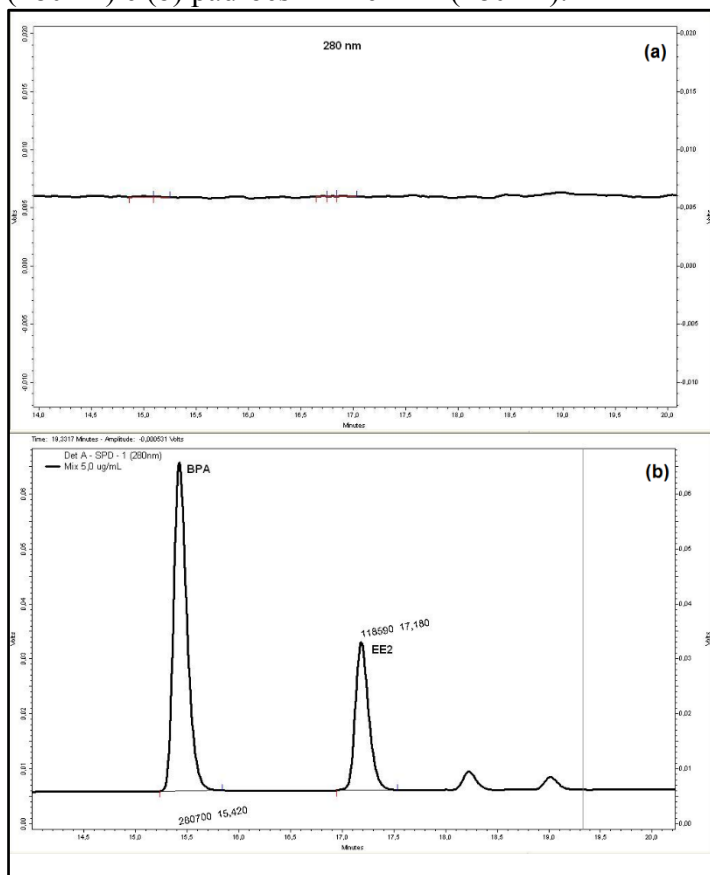
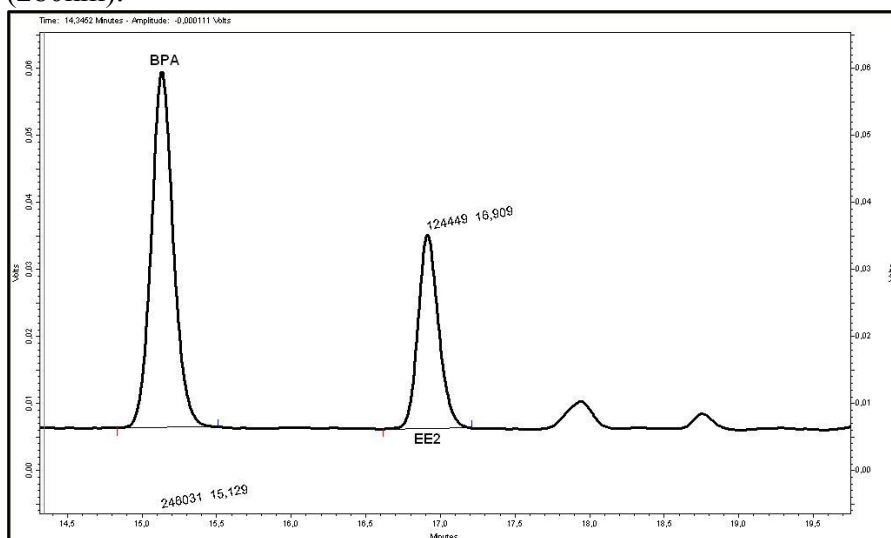


Figura 59. Cromatograma da amostra de esgoto branco fortificada com padrões de BPA e EE2 (280nm).



A mesma análise realizada para BPA e EE2 em 280 nm foi realizada para LNG, porém esta substância foi melhor visualizada no comprimento de onda de 254nm. Nas Figuras 60 e 61 é possível observar que nenhum interferente saiu no mesmo tempo de retenção de

LNG.

Figura 60. Cromatogramas utilizados para avaliação da seletividade: (a) amostra branco (254nm) e (b) padrão de LNG (254nm).

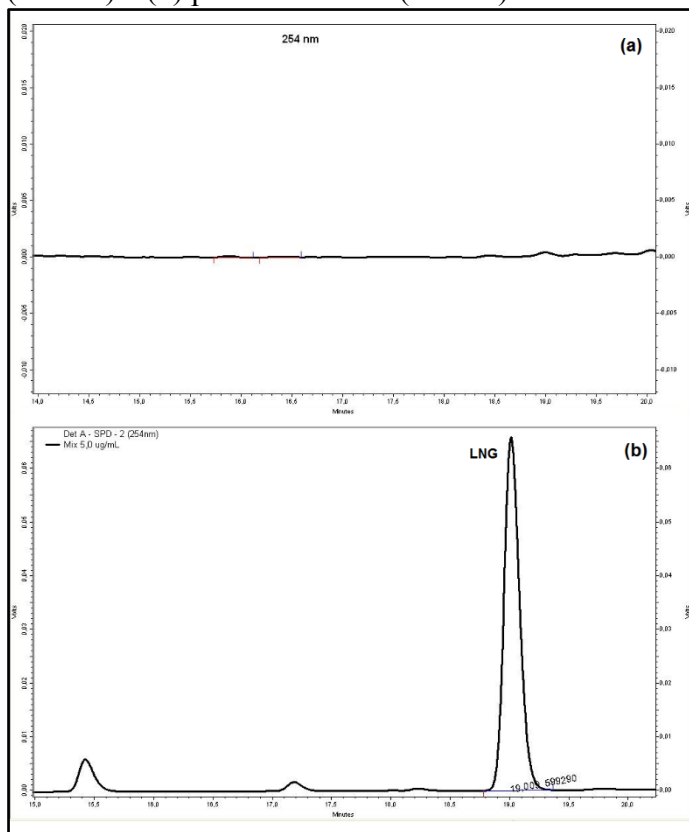
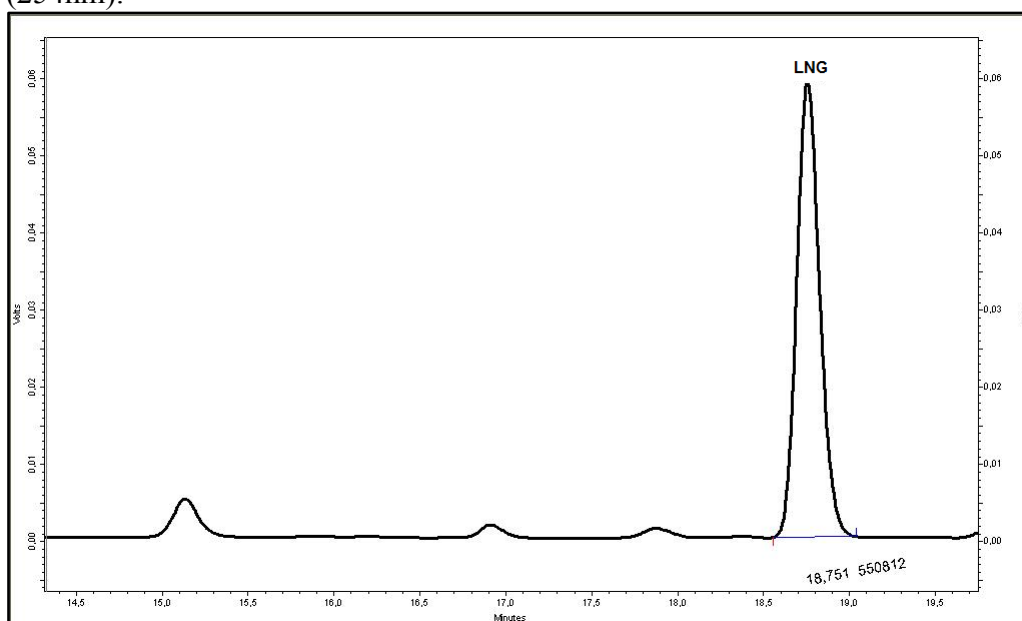


Figura 61. Cromatograma de amostra de esgoto branco fortificada com padrão de LNG (254nm).



O método também mostrou ser específico na análise de amostras reais de esgoto sintético contendo os três interferentes endócrinos de interesse. Na Figura 62 observa-se uma amostra da entrada das *wetlands* no dia 18/08/2016, e na Figura 63 as amostras de saída das quatro *wetlands* no mesmo dia de coleta.

Figura 62. Amostra de entrada do sistema no dia 18/08/2016 (linha preta = 280nm, linha vermelha = 254nm).

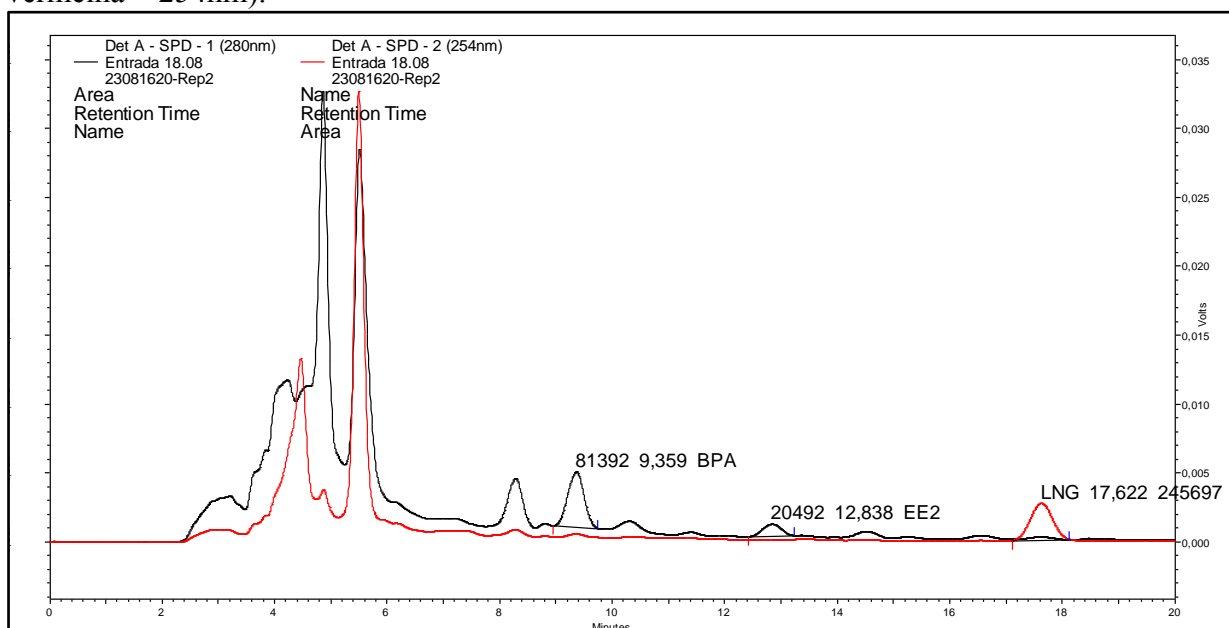
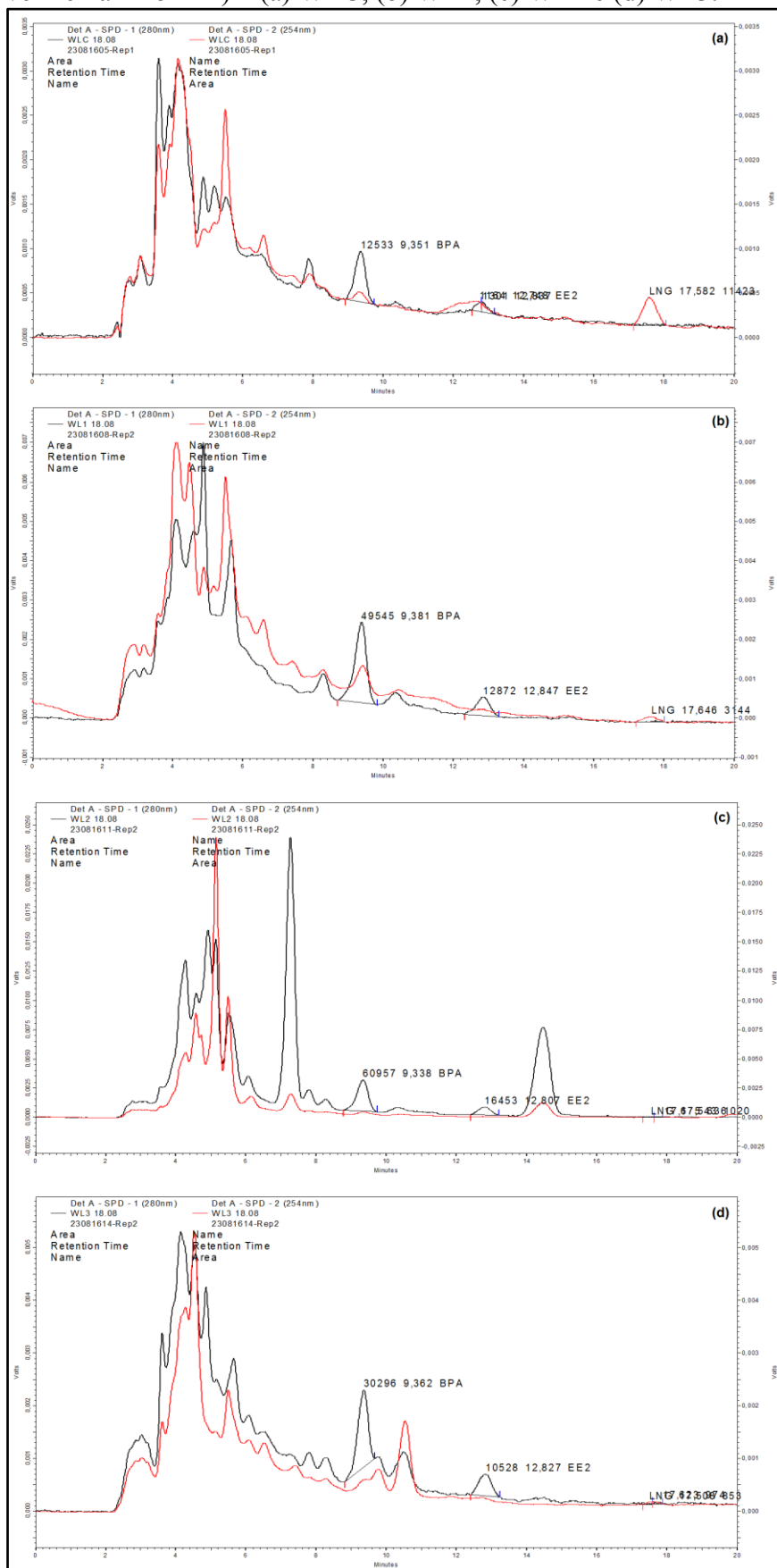


Figura 63. Amostra de saída do sistema no dia 18/08/2016 (linha preta = 280nm, linha vermelha = 254nm) – (a) WLC, (b) WL1, (c) WL2 e (d) WL3.



A avaliação da seletividade foi realizada para os três compostos, com amostras de esgoto da entrada e da saída do sistema. Como pode ser observado na Tabela 41, todos os valores de F calculados foram menores que F tabelados, indicando assim que as variâncias podem ser consideradas iguais. Como as variâncias puderam ser consideradas iguais no teste F , os dados foram agrupados como variâncias equivalentes e o teste t de *Student* foi aplicado.

Tabela 41. Valores do teste F e do teste t de *Student* para as amostras de esgoto de entrada e saída do sistema.

Composto	Esgoto Entrada				Esgoto Saída			
	F calculado	F tabelado	t calculado	t tabelado	F calculado	F tabelado	t calculado	t tabelado
BPA	—	—	—	—	1,17	2,12	0,09	1,68
EE2	1,03	2,39	-0,85	1,69	1,06	2,28	-0,49	1,69
LNG	1,13	1,7	0,07	1,68	1,13	1,70	0,07	1,68

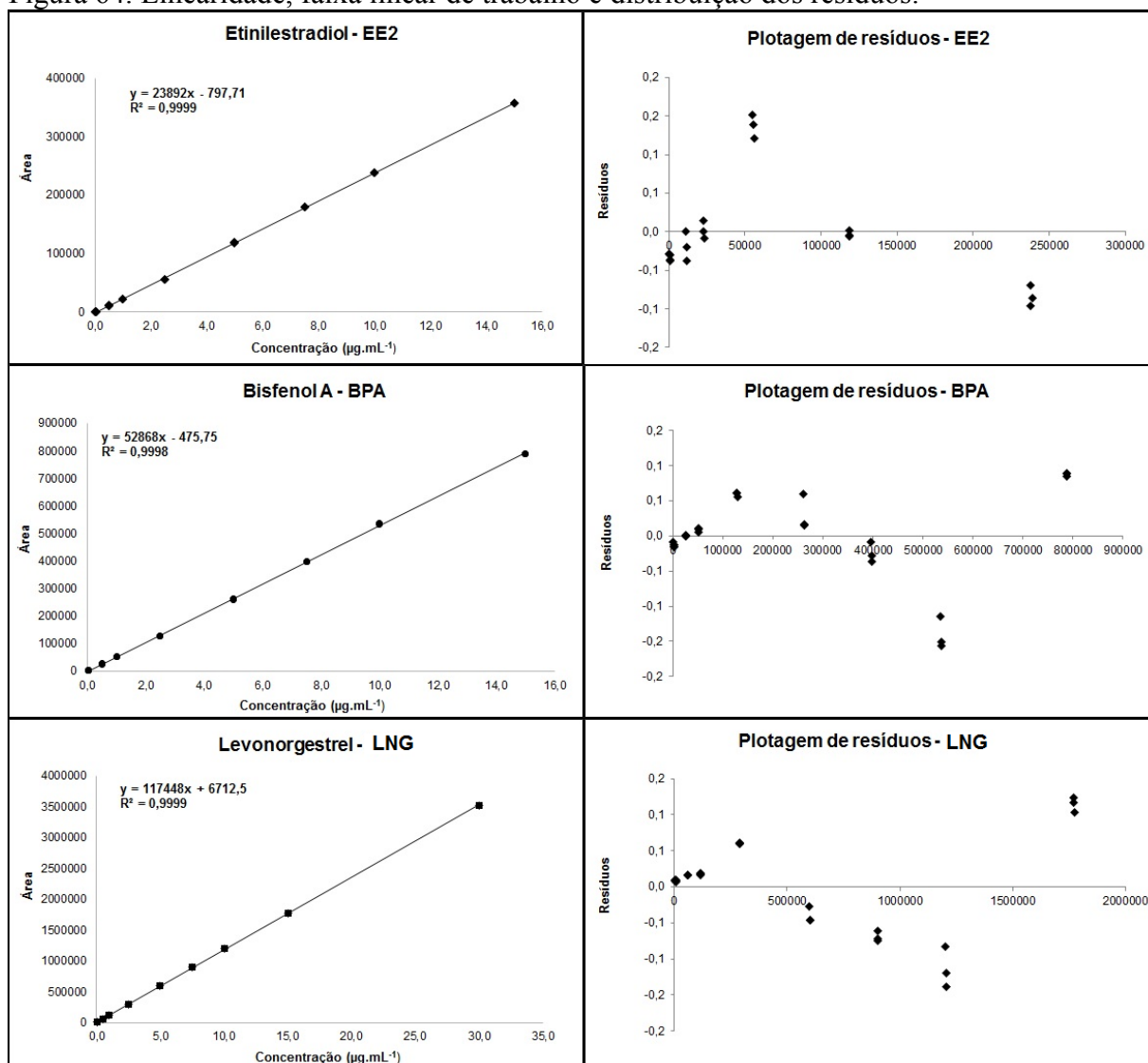
Conforme apresentado na Tabela 41, todos os valores de t calculado foram menores que de t tabelado (para 40 graus de liberdade). Logo, foi possível afirmar que não houve efeito matriz nem para as amostras de esgoto de entrada no sistema, nem para as amostras de saída do sistema, conforme sugerido pelo documento do INMETRO (2007). Não foi calculado o teste F para o BPA nas amostras de entrada, pois apareceu um pico interferente no tempo de retenção do analito, questão que foi solucionada posteriormente, pois aconteceu em amostras isoladas.

— Linearidade e faixa linear de trabalho

A avaliação da linearidade e a faixa linear de trabalho foram realizadas de acordo com INMETRO (2007), por meio da equação da regressão linear dos compostos, e posteriormente observou-se a distribuição dos resíduos por meio do teste estatístico ANOVA. Para BPA e EE2 as curvas eram compostas de 8 pontos, variando de 0,025 a 15,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Cada ponto das curvas analíticas foram injetados três vezes. Para o levonorgestrel a curva possuía nove pontos, variando de 0,025 a 30,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

A linearidade e faixa linear de trabalho estão apresentadas na Figura 64, onde é possível observar que para LNG, BPA e EE2 houve linearidade, com coeficiente de determinação (R^2) maior que 0,999 para os três compostos, e com distribuição aleatória dos resíduos.

Figura 64. Linearidade, faixa linear de trabalho e distribuição dos resíduos.



— Limite de detecção e limite de quantificação

O valor de concentração que correspondeu a um coeficiente de variação (CV) menor que 20% após sucessivas injeções no cromatógrafo foi considerado o limite de quantificação, e o menor ponto identificado com CV maior que 20% e com relação de área de sinal/ruído igual a 3 foi considerado o limite de detecção. De acordo com a Tabela 42, os valores de LOQ foram $0,01 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para LNG, $0,03 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para BPA, e $0,04 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para EE2. Logo, os LOD do aparelho foram $0,007 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para LNG, $0,02 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para BPA, e $0,03 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para EE2.

Tabela 42. Concentrações, desvios-padrão, médias e coeficientes de variação dos interferentes endócrinos.

Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Bisfenol A			Etinilestradiol			Levonorgestrel		
	Desv-pad*	Média	CV (%)	Desv-pad*	Média	CV (%)	Desv-pad*	Média	CV (%)
0,01	265	511	51,9	0	0	—**	83	1260	6,6
0,025	137	1320	10,4	0	0	—**	126	2723	4,6
0,038	101	1876	5,4	70	819	8,5	63	4158	1,5
0,05	111	2495	4,4	121	1145	10,6	122	5534	2,2

* desvio-padrão

** CV não calculado porque os picos não foram quantificados

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método foram obtidos da mesma maneira, porém levando-se em consideração o fator de concentração de 50 vezes (extração em fase sólida). Desse modo os valores encontrados para LD do método foram $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para LNG, $0,4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para BPA, e $0,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para EE2, e para LQ foram $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para LNG, $0,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para BPA, e $0,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para EE2.

Peng *et al.* (2014) quantificaram levonorgestrel por HPLC-DAD utilizando coluna C18 (como neste experimento) em amostras de meio de cultura filtradas e centrifugadas, obtendo limite de quantificação de $43,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, bem mais alto que o deste estudo.

Bernadelli (2014) obteve para etinilestradiol LOD de $7,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, LOQ de $25,8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, e LQ de $0,61 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, praticamente igual ao encontrado neste estudo, em HPLC-DAD. Já Campos (2014) obteve LOQ de $2,52 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e LOD de $1,26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para EE2, utilizando HPLC-DAD (limites maiores que os encontrados neste experimento).

Montagner e Jardim (2011) obtiveram LD de $0,019 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e LQ de $0,063 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para levonorgestrel em HPLC-DAD, e em HPLC-FL o LD foi de $0,017 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e LQ de $0,056 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para etinilestradiol, e LD de $0,038 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e LQ de $0,13 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para bisfenol A; os autores obtiveram menores limites que os obtidos neste estudo com o mesmo equipamento, porém Montagner e Jardim (2011) analisaram água superficial, sendo possível extrair até um litro de amostra na etapa de SPE, diminuindo consequentemente o LD e LQ.

Fernandes *et al.* (2011) obtiveram LQ de $0,0679 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para EE2 em HPLC-DAD em amostras de água tratada, talvez por isso tenham conseguido encontrar limites menores do que os autores conseguiram em amostras de águas residuárias. Torres (2009) considerou o LOD de $0,09 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ como LD, e o LOQ de $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ como LQ para EE2 em HPLC-DAD.

Tran & Gin (2017) relataram limite de detecção de $1,0 \text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ para BPA em esgoto de ETE tratado, e limite de quantificação de $3,0 \text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$; para o esgoto bruto os autores obtiveram LD de $1,8 \text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e LQ de $6,0 \text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$. Os autores utilizaram extração em fase sólida com leitura em UHPLC-MS/MS, um equipamento mais sensível que o HPLC-UV e HPLC-

DAD, que permite atingir menores LD e LQ.

King *et al.* (2016) obtiveram limite de detecção de $0,0025 \mu\text{g.L}^{-1}$ para levonorgestrel em água residuária tratada em equipamento extremamente mais sensível que o HPLC-UV, o GC-MS/MS, com prévia extração em fase sólida concentrando as amostras até 10.000 vezes. Trinh *et al.* (2011) obtiveram LD de $0,006 \mu\text{g.L}^{-1}$ para LNG em efluente sintético de biorreator de membrana e de $0,007 \mu\text{g.L}^{-1}$ em água residuária após tratamento terciário; para EE2 o LD foi $0,001 \mu\text{g.L}^{-1}$ no efluente de MBR e $0,0012 \mu\text{g.L}^{-1}$ na água residuária de tratamento terciário. Os autores também utilizaram GC-MS/MS, com prévia SPE ou EFS.

— Exatidão (recuperação)

A exatidão do método foi avaliada por meio de ensaios de recuperação adicionando-se concentrações conhecidas dos analitos em amostras isentas dos mesmos em três diferentes níveis de concentração – baixa, média e alta. Para BPA e EE2 o nível baixo foi $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, o médio $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ e o alto $100 \mu\text{g.L}^{-1}$, enquanto que para LNG o nível baixo também foi $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, o médio $100 \mu\text{g.L}^{-1}$, e o alto $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$, devido ao fato deste composto estar em maior quantidade na pílula anticoncepcional utilizada no experimento. Essas amostras foram processadas seguindo exatamente a mesma metodologia de análise das amostras.

Na Tabela 43 é possível observar os valores de recuperação dos três compostos nos níveis baixo, médio e alto com três replicatas para cada concentração para BPA, na Tabela 44 para EE2 e na Tabela 45 para LNG. Os valores de recuperação permaneceram entre 70 e 120% e portanto a exatidão do método ficou dentro dos níveis aceitáveis (SANCO, 2009).

Tabela 43. Recuperações obtidas do bisfenol A em esgoto sintético com três níveis de concentração.

BISFENOL A			
10 µg.L⁻¹ - Concentração baixa			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	10,0	9,9	98,8
2	10,0	9,1	91,0
3	10,0	9,0	89,8
50 µg.L⁻¹ - Concentração média			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	50,0	47,9	95,8
2	50,0	47,3	94,7
3	50,0	47,1	94,1
100 µg.L⁻¹ - Concentração alta			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	100,0	95,8	95,8
2	100,0	99,7	99,7
3	100,0	99,5	99,5

Tabela 44. Recuperações obtidas do etinilestradiol em esgoto sintético com três níveis de concentração.

ETINILESTRADIOL			
10 µg.L⁻¹ - Concentração baixa			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	10,0	9,7	96,8
2	10,0	10,1	100,6
3	10,0	9,8	98,1
50 µg.L⁻¹ - Concentração média			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	50,0	49,3	98,7
2	50,0	49,3	98,6
3	50,0	48,9	97,7
100 µg.L⁻¹ - Concentração alta			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	100,0	103,2	103,2
2	100,0	107,0	107,0
3	100,0	106,8	106,8

Tabela 45. Recuperações obtidas do levonorgestrel em esgoto sintético com três níveis de concentração.

LEVONORGESTREL			
10 µg.L⁻¹ - Concentração baixa			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	10,0	8,5	85,0
2	10,0	7,9	78,6
3	10,0	7,8	78,3
100 µg.L⁻¹ - Concentração média			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	100,0	95,8	95,8
2	100,0	97,9	97,9
3	100,0	97,6	97,6
1.000 µg.L⁻¹ - Concentração alta			
Amostra	Concentração esperada (µg.L⁻¹)	Concentração obtida (µg.L⁻¹)	Recuperação (%)
1	1000,0	853,8	85,4
2	1000,0	985,1	98,5
3	1000,0	984,9	98,5

Montagner e Jardim (2011) obtiveram recuperações para BPA de 85% no nível baixo (1,0 µg.L⁻¹) e de 97% no nível alto (10,0 µg.L⁻¹) em água Milli-Q®; para EE2 as recuperações foram 74 e 108% nos níveis baixo e alto, respectivamente, e para LNG as recuperações médias foram 72% no nível baixo e 92% no nível alto. As variações das recuperações obtidas pelos autores foram próximas às deste estudo, mas apesar de utilizarem uma concentração menor na fase baixa as recuperações foram feitas em água ultra pura, sem interferentes como no caso do esgoto sintético ou de águas residuárias.

Peng *et al.* (2014) relataram recuperação média de $98 \pm 7,1\%$ de LNG em amostras de meio de cultura centrifugadas e extraídas; concentrações próximas às obtidas nas faixas de concentração média e alta neste estudo.

Tran & Gin (2017) obtiveram recuperação absoluta média de $95,8 \pm 1,7\%$ de BPA em esgoto de ETE tratado, e $94,7 \pm 3,2\%$ no esgoto bruto. Trinh *et al.* (2011) relataram recuperações de $99 \pm 7\%$ LNG em efluente sintético de biorreator de membrana (MBR) e $120 \pm 10\%$ em água residuária após tratamento terciário, já as recuperações de EE2 foram $83 \pm 2\%$ na saída do MBR e $90 \pm 3\%$ na água residuária terciária; Trinh *et al.* (2011) trabalharam com concentrações na faixa de 0,1 µg.L⁻¹ (menores que deste estudo) por terem utilizado GC-MS/MS, que atinge menores limites de detecção.

— **Precisão (repetitividade e precisão intermediária)**

A precisão foi obtida através da determinação do coeficiente de variação das replicatas no mesmo dia (repetitividade) e em dias diferentes (precisão intermediária). Como todas as amostras foram processadas e injetadas no mesmo dia (27/07/2016) esses valores foram considerados como repetitividade (Tabela 46), sendo que os valores de coeficientes de variação das amostras ficaram abaixo de 20%, indicando que o método possui precisão adequada (SANCO, 2009).

Tabela 46. Recuperações obtidas na mesma data e repetitividade do método analítico.

Analito	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Recuperação (%) / n = 3	CV (%)
Bisfenol A	10	96,5	5,5
	50	95,3	0,6
	100	98,4	2,3
Ethinilestradiol	10	97,7	0,8
	50	98,2	0,5
	100	105,8	2,2
Levonorgestrel	10	83,0	4,6
	100	96,9	1,1
	1000	91,4	6,8

Os valores de precisão intermediária foram obtidos ao longo do tempo, e os valores de recuperação e de coeficientes de variação sempre ficaram dentro das faixas aceitáveis. Na Tabela 47 são apresentados os resultados obtidos de precisão intermediária.

Tabela 47. Resultados de precisão intermediária do método analítico.

Analito	Data	Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Recuperação (%) / n = 3	CV (%)
Ethinilestradiol	01/07/2016	5,0	98,4	5,9
	14/07/2016	0,5	93,4	4,1
	14/07/2016	5,0	108,1	3,8
Bisfenol A	09/07/2016	0,5	96,6	1,2
	09/07/2016	3,5	95,3	0,2
	14/07/2016	0,5	88,3	2,2
	14/07/2016	5,0	100,6	4,0
Levonorgestrel	09/07/2016	0,5	98,5	1,1
	09/07/2016	5,0	94,4	0,1
	14/07/2016	0,5	87,4	1,4
	14/07/2016	5,0	96,5	4,1

— Robustez

A robustez foi avaliada por meio de pequenas variações de fase móvel e temperatura da sala de preparo de amostras. Como os coeficientes de variação dos resultados obtidos da injeção das amostras fortificadas em diferentes dias, com diferentes temperaturas e diferentes marcas dos solventes utilizados foram todas menores que 20%, é possível concluir que o método foi robusto e preciso.

6.2.2. Toxicidade do esgoto sintético

Os resultados de toxicidade obtidos no Microtox[®] das amostras de entrada e saída das *wetlands*, na fase de baixa concentração estão apresentados na Tabela 48. Essas análises tiveram o intuito de verificar se haveria diminuição da toxicidade após a passagem do esgoto sintético pela *wetland*, e também verificar se as concentrações dos interferentes endócrinos e do nitrogênio amoniacal possuíam relação com a toxicidade das amostras.

Em alguns ensaios o *software* não foi capaz de calcular o resultado de EC50 (que é a concentração necessária para inativar 50% dos micro-organismos presentes no teste) ou porque a amostra estava muito concentrada (muito tóxica) ou porque estava com toxicidade quase nula. Os resultados que não foram apresentados nas Tabelas 48 e 49 foram repetidos com a mesma concentração, e com diferentes diluições. No entanto, novamente não apresentaram resultados conclusivos.

Tabela 48. Toxicidade das amostras de entrada e saída das *wetlands* na fase de baixa concentração.

Réplica	TDH	Amostra	Coleta	EC50 (%) 15 min	Resultado ⁽¹⁾	% alteração
1	2 dias	Entrada	10/ago	> 81,9	Não tóxica	————
1	2 dias	WLC	10/ago	————	NV*	————
1	2 dias	WL1	10/ago	————	NV*	————
1	2 dias	WL2	10/ago	————	NV*	————
1	2 dias	WL3	10/ago	————	NV*	————
2	2 dias	Entrada	14/ago	58,7	Moderadamente tóxica	————
2	2 dias	WLC	14/ago	3,4	Muito tóxica	94,1
2	2 dias	WL1	14/ago	1,5	Muito tóxica	97,5
2	2 dias	WL2	14/ago	> 81,9	Não tóxica	-39,5
2	2 dias	WL3	14/ago	> 81,9	Não tóxica	-39,5
3	2 dias	Entrada	14/fev	70,9	Moderadamente tóxica	————
3	2 dias	WLC	14/fev	————	NV*	————
3	2 dias	WL1	14/fev	————	NV*	————
3	2 dias	WL2	14/fev	> 81,9	Não tóxica	-15,4
3	2 dias	WL3	14/fev	0,7	Muito tóxica	99,0
1	4 dias	Entrada	18/ago	36,1	Tóxica	————
1	4 dias	WLC	18/ago	12,8	Muito tóxica	64,6
1	4 dias	WL1	18/ago	> 81,9	Não tóxica	-39,5
1	4 dias	WL2	18/ago	13,3	Muito tóxica	77,4
1	4 dias	WL3	18/ago	36,1	Tóxica	38,5
2	4 dias	Entrada	18/fev	1,6	Muito tóxica	————
2	4 dias	WLC	18/fev	0,5	Muito tóxica	70,3
2	4 dias	WL1	18/fev	3,1	Muito tóxica	-92,2
2	4 dias	WL2	18/fev	> 81,9	Não tóxica	-5060,7
2	4 dias	WL3	18/fev	> 81,9	Não tóxica	-5060,7

*NV = não válido (o *software* não pode calcular o intervalo de confiança).

⁽¹⁾ Classificação de acordo com Bulich (1992).

A porcentagem (%) de alteração que consta na última coluna da Tabela é a taxa de aumento ou diminuição da toxicidade das amostras de saída das *wetlands* em relação às amostras de entrada, e quanto menor o valor (mais negativo) maior foi a redução de toxicidade realizada pelas *wetlands*. É possível observar na Tabela 48 que não houve um padrão de toxicidade nas amostras na fase de baixa concentração, apesar dos compostos do esgoto sintético serem adicionados sempre na mesma concentração. Por exemplo, houve amostras de entrada não tóxica, moderadamente tóxica, tóxica e muito tóxica, de acordo com a classificação de Bulich (1992).

Não foi possível observar redução de toxicidade para WLC, possivelmente o carvão pode ter alguma substância tóxica para as bactérias *Vibrio fischeri*; para WL1 observou-se apenas uma ocorrência de redução de toxicidade (18/08), o que pode indicar que o mini-papiro libere alguma substância que seja tóxica para as bactérias. Para WL3 observou-

se dois casos de redução da toxicidade (14/08/16 e 18/02/17), e para WL2 (controle) foram observados três casos de redução de concentração – o que pode indicar que as macrófitas tiveram influência sobre a toxicidade das amostras de saída do sistema.

Spina *et al.* (2015) não obteve valores de toxicidade positiva no teste com Microtox[®] em águas residuárias contendo etinilestradiol, BPA, dentre outros compostos farmacêuticos. O autor relatou não ter conseguido também calcular o EC50 de algumas amostras, considerando então toxicidade negativa para estas.

Em 2010, Lundström *et al.* testaram a toxicidade de efluentes contaminados com hormônios e outros disruptores endócrinos provenientes de diversos tipos de tratamento em ETE utilizando Microtox[®] com a bactéria *V. fischeri*, inibição do crescimento da micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, inibição do crescimento da macro alga *Ceramium tenuicorne*, taxa de desenvolvimento larval do crustáceo *Nitocra spinipes* e embriotoxicidade com o peixe *Danio rerio*. Somente os testes com a macro alga, o peixe e o crustáceo em fase larval resultaram em toxicidade positiva.

He *et al.* (2018a) estudaram a remoção de interferentes endócrinos (dentre eles o BPA) presentes em esgoto de ETE por diversas configurações de *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis*, realizando o tratamento terciário. Os autores testaram a toxicidade afluente e efluente por Microtox[®] e outros métodos e não encontraram toxicidade no ensaio com *Vibrio fischeri*, pelo contrário, houve aumento do número de bactérias (como ocorreu em alguns casos no presente estudo) que os autores relataram ter sido causado pela presença de nutrientes no extrato do esgoto após passar por SPE, no qual foi realizado o ensaio.

Na Tabela 49 podem ser observados os EC50 (%) obtidos no Microtox[®] para amostras de entrada e saída das *wetlands* na fase de alta concentração, onde é possível observar que houve redução de toxicidade para WLC em 31/08/16, e eliminação total da toxicidade em 30/08/16, 14 e 15/03/17 (4 ocorrências), contradizendo os resultados obtidos na fase de baixa concentração. Para WL1 houve redução de toxicidade em 31/08/16, aumento em 05/09/16 e 14/03/17, corroborando com os resultados obtidos de WL1 na fase de baixa concentração.

Observa-se também na Tabela 49 que WL2 (sem macrófita) eliminou a toxicidade das amostras em 3 coletas, aumentou a toxicidade em 10/03/17, e não influenciou no aumento ou diminuição da amostra de 31/08/16. Já WL3 eliminou a toxicidade em quatro coletas de amostras, e reduziu a toxicidade em 31/08/16, sendo assim aparentemente a *wetland* mais eficiente na redução de toxicidade na fase de alta concentração.

Tabela 49. Toxicidade das amostras de entrada e saída das *wetlands* na fase de alta concentração.

Réplica	TDH	Amostra	Data Coleta	EC50 (%) 15 min	Resultado ⁽¹⁾	% alteração
1	2 dias	Entrada	30/ago	10,0	Muito tóxica	————
1	2 dias	WLC	30/ago	> 81,9	Não tóxica	-720,1
1	2 dias	WL1	30/ago	4,9	Muito tóxica	51,2
1	2 dias	WL2	30/ago	> 81,9	Não tóxica	-720,1
1	2 dias	WL3	30/ago	————	NV*	————
2	2 dias	Entrada	31/ago	8,6	Muito tóxica	————
2	2 dias	WLC	31/ago	————	NV*	————
2	2 dias	WL1	31/ago	78,5	Levemente tóxica	-817,6
2	2 dias	WL2	31/ago	16,5	Muito tóxica	-92,2
2	2 dias	WL3	31/ago	48,8	Tóxica	-470,6
3	2 dias	Entrada	09/mar	10,0	Muito tóxica	————
3	2 dias	WLC	09/mar	74,4	Levemente tóxica	-647,5
3	2 dias	WL1	09/mar	————	NV*	————
3	2 dias	WL2	09/mar	————	NV*	————
3	2 dias	WL3	09/mar	> 81,9	Não tóxica	-723,1
4	2 dias	Entrada	10/mar	68,2	Moderadamente tóxica	————
4	2 dias	WLC	10/mar	36,2	Tóxica	46,9
4	2 dias	WL1	10/mar	————	NV*	————
4	2 dias	WL2	10/mar	25,4	Tóxica	62,7
4	2 dias	WL3	10/mar	> 81,9	Não tóxica	-20,1
1	4 dias	Entrada	05/set	> 81,9	Não tóxica	————
1	4 dias	WLC	05/set	————	NV*	————
1	4 dias	WL1	05/set	12,8	Muito tóxica	84,4
1	4 dias	WL2	05/set	————	NV*	————
1	4 dias	WL3	05/set	————	NV*	————
2	4 dias	Entrada	13/mar	————	NV*	————
2	4 dias	WLC	13/mar	4,1	Muito tóxica	————
2	4 dias	WL1	13/mar	————	NV*	————
2	4 dias	WL2	13/mar	4,1	Muito tóxica	————
3	4 dias	Entrada	14/mar	29,2	Tóxica	————
3	4 dias	WLC	14/mar	> 81,9	Não tóxica	-180,3
3	4 dias	WL1	14/mar	3,5	Muito tóxica	88,2
3	4 dias	WL2	14/mar	> 81,9	Não tóxica	-180,3
3	4 dias	WL3	14/mar	> 81,9	Não tóxica	-180,3
4	4 dias	Entrada	15/mar	67,0	Moderadamente tóxica	————
4	4 dias	WLC	15/mar	> 81,9	Não tóxica	-22,3
4	4 dias	WL1	15/mar	————	NV*	————
4	4 dias	WL2	15/mar	> 81,9	Não tóxica	-22,3
4	4 dias	WL3	15/mar	> 81,9	Não tóxica	-22,3

*NV = não válido (o software não pode calcular o intervalo de confiança).

⁽¹⁾ Classificação de acordo com Bulich (1992).

He *et al.* (2018b) também observaram aumento, ao invés de inibição, do número de bactérias durante os ensaios. A análise de principais componentes (PCA) analisou os resultados de toxicidade com os cromatográficos dos interferentes endócrinos naproxeno,

ibuprofeno e cafeína, indicando que houve correlação positiva entre os resultados dessas substâncias com as de toxicidade obtidas pelo Microtox (HE *et al.*, 2018b).

Anderson *et al.* (2015) testaram a toxicidade com Microtox, e verificaram a presença de interferentes endócrinos, em amostras de águas residuárias de lagoas e sistemas filtrantes subsuperficiais. Os autores obtiveram médias de inibição de luminescência com a bactéria *Vibrio fischeri* variando de 42 a 112%, dependendo do ponto de coleta, e apesar das concentrações de EE2 encontradas estarem na faixa de ng.L^{-1} os autores relataram que houve pouca remoção do hormônio nos sistemas filtrantes, provavelmente pelo baixo TDH de seis horas.

Mendonça *et al.* (2013) e Mendonça *et al.* (2011) avaliaram a toxicidade de águas residuárias de diversas configurações de ETE utilizando a bactéria *Vibrio fischeri*, a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, os crustáceos *Thamnocephalus platyurus* e *Daphnia magna*, e a macrófita *Lemna minor*.

Grafias *et al.* (2010) trataram lixiviado de processamento de bagaço de azeitona por *wetlands* de fluxo vertical cultivadas com *Phragmites australis* e TDH de 3 dias, e observaram uma redução na toxicidade de 3,8 para 45,0%, evidenciando a eficiência da diminuição de toxicidade pelo sistema de *wetlands*. Os ensaios ecotoxicológicos realizados foram o mesmo utilizado neste estudo, o “*Microtox 81,9% basic test*”.

Mendonça *et al.* (2009) utilizando Microtox relataram EC_{50} de 15 minutos variando de 0,9 à 28%, obtendo também alguns resultados que não puderam ser determinados, como os resultados não válidos deste estudo. Os autores avaliaram a toxicidade de águas residuárias afluentes e efluentes à ETEs em Portugal.

Os autores relataram que a bactéria *Vibrio fischeri*, do Microtox® foi o organismo mais sensível nos testes de toxicidade (Mendonça *et al.*, 2013; Mendonça *et al.*, 2011; Mendonça *et al.*, 2009). Ra *et al.* (2008) verificou a toxicidade de diversos produtos farmacêuticos utilizando Microtox® com a bactéria *V. fischeri* e o micro crustáceo *Daphnia magna*, onde *V. fischeri* se mostrou mais sensível à toxicidade dos compostos farmacêuticos do que o micro crustáceo.

Pelo fato dos dados não apresentarem distribuição normal, testes estatísticos não-paramétricos foram realizados para verificar se existia diferença significativa entre o aumento/redução de toxicidade pelas *wetlands*, faixa de concentração e pelo TDH. É possível observar na Tabela 50 que os p-valores obtidos nos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram maiores que 0,05 e por isso pode-se afirmar com 95% de significância que o tipo de *wetland*, as variações de TDH (2 e 4 dias) e de concentração (baixa e alta) não influenciaram

no aumento ou diminuição da toxicidade nas *wetlands*.

Tabela 50. Resultados dos testes estatísticos não-paramétricos.

	Kruskal-Wallis*	Mann-Whitney*	Resultado
Wetland	0,558	————	Não difere
TDH	————	0,900	Não difere
Concentração	————	0,130	Não difere

*p-valor obtido no teste

Também foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson (r) para verificar se os resultados de toxicidade possuíam correlação com as concentrações de bisfenol A, etinilestradiol, levonorgestrel e nitrogênio amoniacal presentes nas amostras, tendo em vista que estas substâncias poderiam ser as responsáveis pela toxicidade do esgoto sintético.

No entanto, é possível observar na Tabela 51 que nenhuma correlação foi próxima de -1 ou 1 (que são os valores que indicam forte correlação), e que os p-valores foram todos maiores que 0,005, indicando que não houve forte correlação entre os fatores com nível de 95% de significância. No entanto, de acordo com tabela de classificação de correlação de *Pearson* (Monteiro et al., 2014) é possível classificar o valor obtido das correlações como fraca, média ou forte.

Tabela 51. Correlação entre interferentes endócrinos e amônia com resultados de toxicidade.

		Toxicidade			
		Fase baixa EC50 15 min (%)	Correlação ⁽¹⁾	Fase alta EC50 15 min (%)	Correlação ⁽¹⁾
BPA (µg.L⁻¹)	<i>Pearson [r]</i> <i>p-valor</i>	0,196 0,421	Fraca	-0,065 0,742	Fraca
EE2 (µg.L⁻¹)	<i>Pearson [r]</i> <i>p-valor</i>	0,419 0,074	Média	0,216 0,270	Fraca
LNG (µg.L⁻¹)	<i>Pearson [r]</i> <i>p-valor</i>	0,321 0,180	Média	-0,350 0,068	Média
N. amoniacal (mg.L⁻¹)	<i>Pearson [r]</i> <i>p-valor</i>	0,152 0,655	Fraca	-0,297 0,475	Média

(1) correlação obtida de acordo com tabela de classificação apresentada em Monteiro, Diniz e Correia Filho (2014).

Observa-se na Tabela 51 que de acordo com essa classificação as concentrações de levonorgestrel apresentaram média correlação com a toxicidade tanto na fase de baixa quanto de alta concentração, enquanto as concentrações de EE2 apresentaram média correlação com a toxicidade na fase de baixa concentração, e o nitrogênio amoniacal

apresentou média correlação na fase de alta concentração de hormônios (as concentrações de nitrogênio eram iguais independente da fase de concentração dos hormônios). Sendo assim, o fator que mais pareceu influenciar a toxicidade do esgoto sintético foi o hormônio levonorgestrel, mas devido aos p-valores obtidos não é possível afirmar isso a 95% de significância.

6.3. Macrófitas

6.3.1. Interferentes endócrinos no tecido vegetal

Podem ser observadas na Tabela 52 as concentrações de BPA e EE2 que foram absorvidas pelo *Cyperus isocladius* (CI) ou mini-papiro em WLC e WL1, e pelo aguapé em WL3, onde é possível notar que apesar de WLC ter sido estatisticamente a *wetland* mais eficiente na retenção de concentração e, em alguns casos, de carga destes interferentes endócrinos as concentrações destes na macrófita de WL1 foram maiores que na macrófita de WLC, sugerindo que possivelmente a maior eficiência de WLC se deu por outros fatores e não pela absorção nas macrófitas.

Para ambos IE a maior concentração e massa removida ocorreu em WL1, seguido de WLC e WL3 para BPA em concentração e massa, e para EE2 em massa; analisando as concentrações de EE2, o aguapé absorveu mais ($1,1 \mu\text{g.g}^{-1}$) que o mini-papiro de WLC e WL1. A massa total removida foi obtida pelo produto da concentração encontrada nas macrófitas, pela massa total de macrófita (parte aérea e raiz) retirada das *wetlands* ao final do experimento, que estão apresentadas no Apêndice 5.

Tabela 52. Concentrações e massa total removida de BPA e EE2 pelas macrófitas das *wetlands*.

Wetland	Bisfenol A		Ethinilestradiol	
	Concentração ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Massa total (μg)	Concentração ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Massa total (μg)
WLC	1,8	115,0	0,3	19,6
WL1	2,2	133,7	0,8	49,7
WL3	1,1	18,3	1,1	18,0

Petrie *et al.* (2017) analisaram 81 micro poluentes, dentre eles BPA e EE2, em *P. australis* proveniente de *wetlands* que tratavam esgoto municipal secundário no Reino Unido. Os autores encontraram concentrações de BPA variando de $60,5 (\pm 56,5 \text{ ng.g}^{-1})$ à $148,2 (\pm 23,8 \text{ ng.g}^{-1})$ nas amostras de macrófitas próximas à entrada do sistema, e concentrações de

32,0 ($\pm 7,6$ ng.g⁻¹) à 70,9 ($\pm 1,8$ ng.g⁻¹) nas macrófitas próximas à saída do sistema; não foram encontradas concentrações de EE2 nas macrófitas no experimento de Petrie *et al.* (2017). Os autores relataram que o fato de serem encontrados esses micro poluentes recalcitrantes na *P. australis* das *wetlands*, é um bom indicativo de que absorção pela macrófita é um dos mecanismos de remoção desses poluentes nesses sistemas. As concentrações encontradas por Petrie *et al.* (2017) foram bem menores do que as encontradas neste estudo, provavelmente por se tratar de uma *wetland* em escala real e com uma quantidade muito maior de macrófitas; não ficou claro no artigo se os autores utilizaram toda a planta (raiz, caule e folhas), mas aparentemente sim.

No presente experimento não foi possível identificar e quantificar o hormônio levonorgestrel no detector de fluorescência, e no detector ultravioleta havia um interferente no mesmo tempo de retenção do LNG que não foi possível eliminar (mesmo com diferentes tipos de extração, gradientes na corrida cromatográfica e mudança de equipamento). Esse fato ocorreu tanto para o aguapé, quanto para o mini-papiro, por isso somente foram apresentados resultados de BPA e EE2. No entanto, apresenta-se abaixo um estudo de fitorremediação com o composto LNG.

Li *et al.* (2014) analisaram a fitorremediação de levonorgestrel tanques contendo água contaminada com 180 $\mu\text{g.L}^{-1}$ do hormônio, um deles com a macrófita *Eichhornia crassipes* (sem estar fixada a meio suporte) e outro contendo *Cyperus alternifolius*, também flutuante. Ao final do experimento, as concentrações de LNG absorvidas pelo *Cyperus alternifolius* variaram de $0,27 \pm 0,14$ $\mu\text{g.g}^{-1}$ a $1,58 \pm 0,17$ $\mu\text{g.g}^{-1}$ nas raízes, e $0,56 \pm 0,05$ $\mu\text{g.g}^{-1}$ no caule; no aguapé os autores encontraram nas raízes uma concentração de $0,62 \pm 0,22$ $\mu\text{g.g}^{-1}$. Os autores relataram não terem encontrado concentrações de LNG nas folhas das macrófitas, e valores de LNG no caule do aguapé não foram relatados pelos autores.

Hurtado *et al.* (2016) realizaram um experimento de hidroponia com alface batavia (*Lactuca sativa*) com o intuito de verificar se culturas irrigadas com águas superficiais possivelmente contaminados com fármacos e interferentes endócrinos, absorveriam esses compostos. Os autores testaram diversos compostos e concentrações, e as quantidades de BPA absorvidas pelas raízes das alfaces ao final de um experimento de 70 dias foram 73 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (± 11) no tratamento de 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$, 124 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (± 18) no tratamento de 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$, 212 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (± 71) no tratamento de 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$, e 325 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (± 69) no tratamento de 40 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Diariamente eram colocados 50mL de solução nos tratamentos para repor a água evaporada e utilizada pela alface, mantendo assim o nível d'água. Hurtado *et al.* (2016) analisaram também as concentrações de BPA absorvidos pelas folhas que foi 33 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (± 17) no tratamento de 4

$\mu\text{g.L}^{-1}$, $54 \mu\text{g.L}^{-1} (\pm 8)$ no tratamento de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, $83 \mu\text{g.L}^{-1} (\pm 19)$ no tratamento de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$, e $158 \mu\text{g.L}^{-1} (\pm 53)$ no tratamento de $40 \mu\text{g.L}^{-1}$.

É possível observar no estudo de Hurtado *et al.* (2016) que maiores concentrações de BPA foram absorvidos nas raízes, quando comparados às folhas. Nesta tese foram utilizadas amostras compostas contendo 0,5g de raiz e 1,5g de caules e folhas, sendo assim não foi possível estimar se mais BPA e EE2 foram absorvidos nas raízes ou na parte aérea.

Karnjanapiboonwong *et al.* (2011) analisaram o crescimento do feijão em areia e solo contaminados com EE2 na concentração de $1 \mu\text{g}^{-1}$ de solo/areia, e quantificaram $1644 \pm 433 \mu\text{g.g}^{-1}$ de EE2 nas raízes e $74 \pm 30 \mu\text{g.g}^{-1}$ de EE2 nas folhas dos feijões plantados em areia, e $31 \pm 8,3 \mu\text{g.g}^{-1}$ de EE2 nas raízes e $17 \pm 1,7 \mu\text{g.g}^{-1}$ de EE2 nas folhas dos feijões plantados em solo. Esses resultados podem evidenciar a persistência do interferente endócrino e seu possível acúmulo em plantas, benéfico nos casos de fitorremediação e perigoso na irrigação com águas residuárias de culturas alimentícias, por bioacumular nas mesmas.

Saiyood *et al.* (2010) realizaram um experimento de fitorremediação de BPA em água com a planta *Dracaena sanderiana* em meio estéril, para isolar a interferência das bactérias endofíticas, e também com presença dessas bactérias que estão associadas às raízes das plantas. Os autores observaram que a *D. sanderiana* foi capaz de absorver, translocar e acumular por volta de 81% da concentração total adicionada no experimento ($20 \mu\text{M}$), obtendo uma concentração de $519,63 \mu\text{g.g}^{-1} (\pm 78,97)$ de BPA nas raízes e $790,87 \mu\text{g.g}^{-1} (\pm 105,51)$ nos caules, evidenciando a capacidade de plantas absorverem o interferente endócrino.

Hijosa-Valsero *et al.* (2016) estudaram sete tipos diferentes de *wetlands* cultivadas com *P. australis* e *Typha angustifolia* avaliando a concentração na água residuária e absorção pelas raízes das macrófitas dos seguintes fármacos: carbamazepina (CAR), ibuprofeno (IBU), naproxeno (NAP), cafeína (CAF), metilditihidrojasmonato (MDHJ), cetoprofeno (KET), ácido salicílico (SAL), diclofenaco (DCF), galaxolide (GAL), e tonalide (TON). Por análise em GC-MS/MS os autores encontraram nas raízes os fármacos SAL, IBU, MDHJ, GAL e TON e correlacionaram esses resultados com os resultados de remoção de concentração desses compostos da água residuária das *wetlands*; os autores relataram que não houve correlação positiva da eficiência de remoção dos fármacos na água residuária, com as concentrações absorvidas pelas raízes das macrófitas, evidenciando que a absorção pela planta não é um dos mecanismos principais de remoção de fármacos pelas *constructed wetlands*. O que aconteceu com Hijosa-Valsero *et al.* (2016) foi o mesmo ocorrido no caso deste experimento, onde a maior absorção de BPA e EE2 pelas macrófitas das *wetlands* não ocorreu

nas *wetlands* que obtiveram maiores eficiências de retenção dos poluentes.

Lyu (2016) trabalharam com *wetlands* com e sem planta, em escala de bancada e tratando esgoto sintético com o fungicida tebuconazol adicionado nas faixas de 10 e 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Os autores analisaram a concentração de tebuconazol na parte aérea das macrófitas e encontraram concentrações variando de 0,7 a 3,8 mg.kg^{-1} , de 2,5 à 12,1% do total adicionado. As concentrações encontradas por Lyu (2016) foram próximas à deste estudo que foram de 0,3 μg^{-1} (EE2) à 2,2 μg^{-1} (BPA), e o autor sugeriu que devido às baixas concentrações de tebuconazol encontradas nas macrófitas e também no meio suporte das *wetlands*, provavelmente a eliminação do fungicida tenha ocorrido em maior parte por biodegradação ou metabolização pela planta, que podem ter sido também as principais vias de remoção de EE2 e BPA no presente estudo.

6.3.1.1. Validação do método cromatográfico

Pelo fato de não haver uma metodologia para análise simultânea de BPA e EE2 em mini-papiro e aguapé foi necessário desenvolver e validar uma metodologia (separadamente para cada macrófita) para análise destes compostos em HPLC-FL (fluorescência). Foram utilizadas macrófitas livres de interferentes endócrinos nos ensaios de validação.

Não foi possível desenvolver uma metodologia para o hormônio levonorgestrel porque devido à estrutura de sua molécula, ele não pode ser identificado pelo detector de fluorescência. Foram realizados diversos testes para análise dos três interferentes endócrinos no detector UV, porém haviam picos de interferentes no mesmo tempo de retenção dos analitos. A seguir estão descritos os resultados de validação de acordo com os parâmetros analisados, para ambas macrófitas.

— Especificidade e seletividade

A especificidade foi avaliada por comparação de cromatogramas das matrizes sem os analitos (amostra branco), com o cromatograma das matrizes contendo analitos (amostra fortificada), para verificar visualmente se existia algum interferente na matriz que saísse no mesmo tempo de retenção dos analitos de interesse. Observa-se na Figura 65 (aguapé) e na Figura 66 (mini-papiro) que nenhum interferente foi observado, tornando o método com boa especificidade. Na Figura 67 está apresentado o cromatograma dos padrões do analito de

interesse.

Figura 65. Cromatogramas de especificidade do aguapé: (a) amostra branco e (b) amostra fortificada com BPA e EE2.

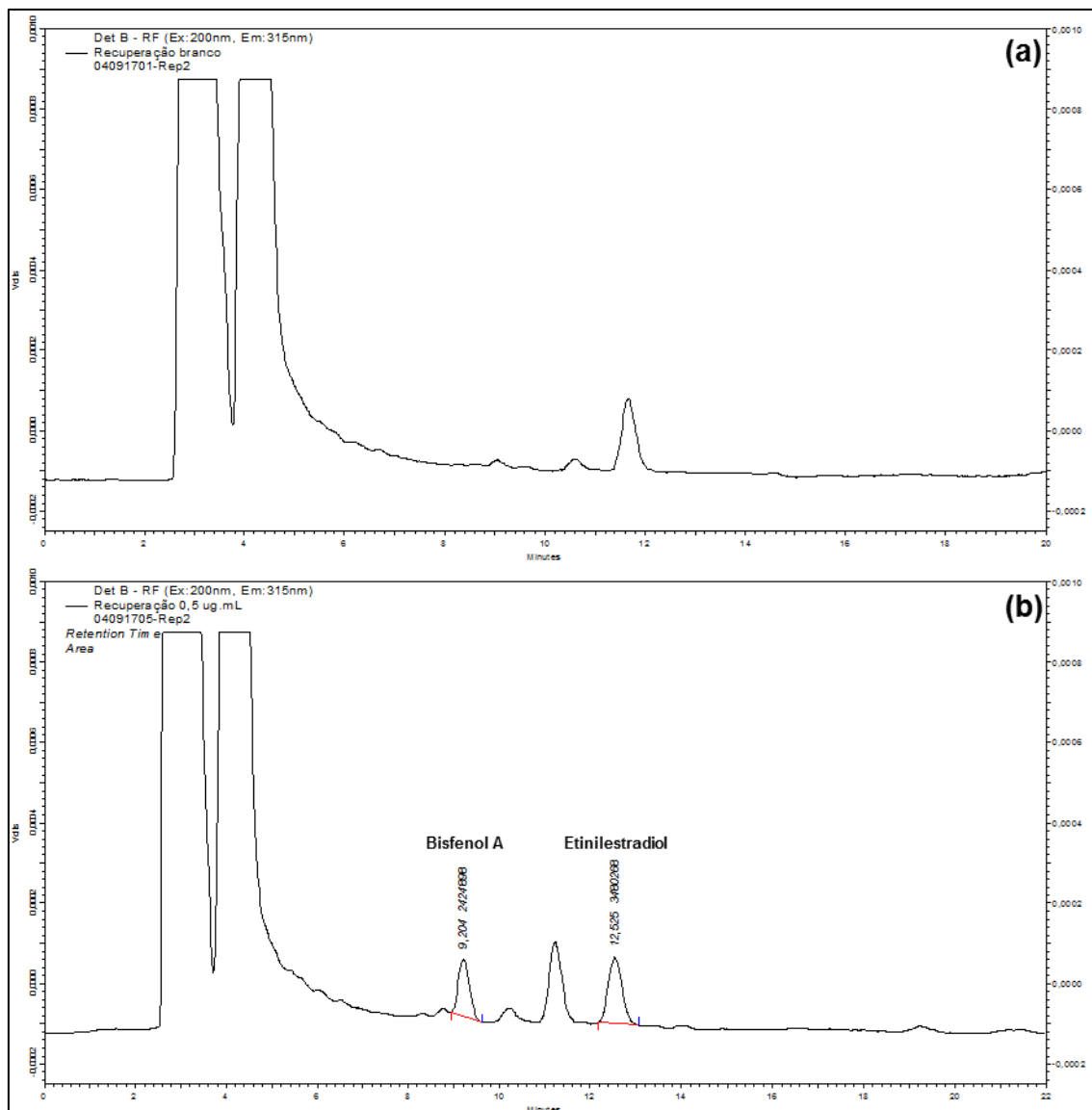


Figura 66. Cromatogramas de seletividade do mini-papiro: (a) amostra branco e (b) amostra fortificada com BPA e EE2.

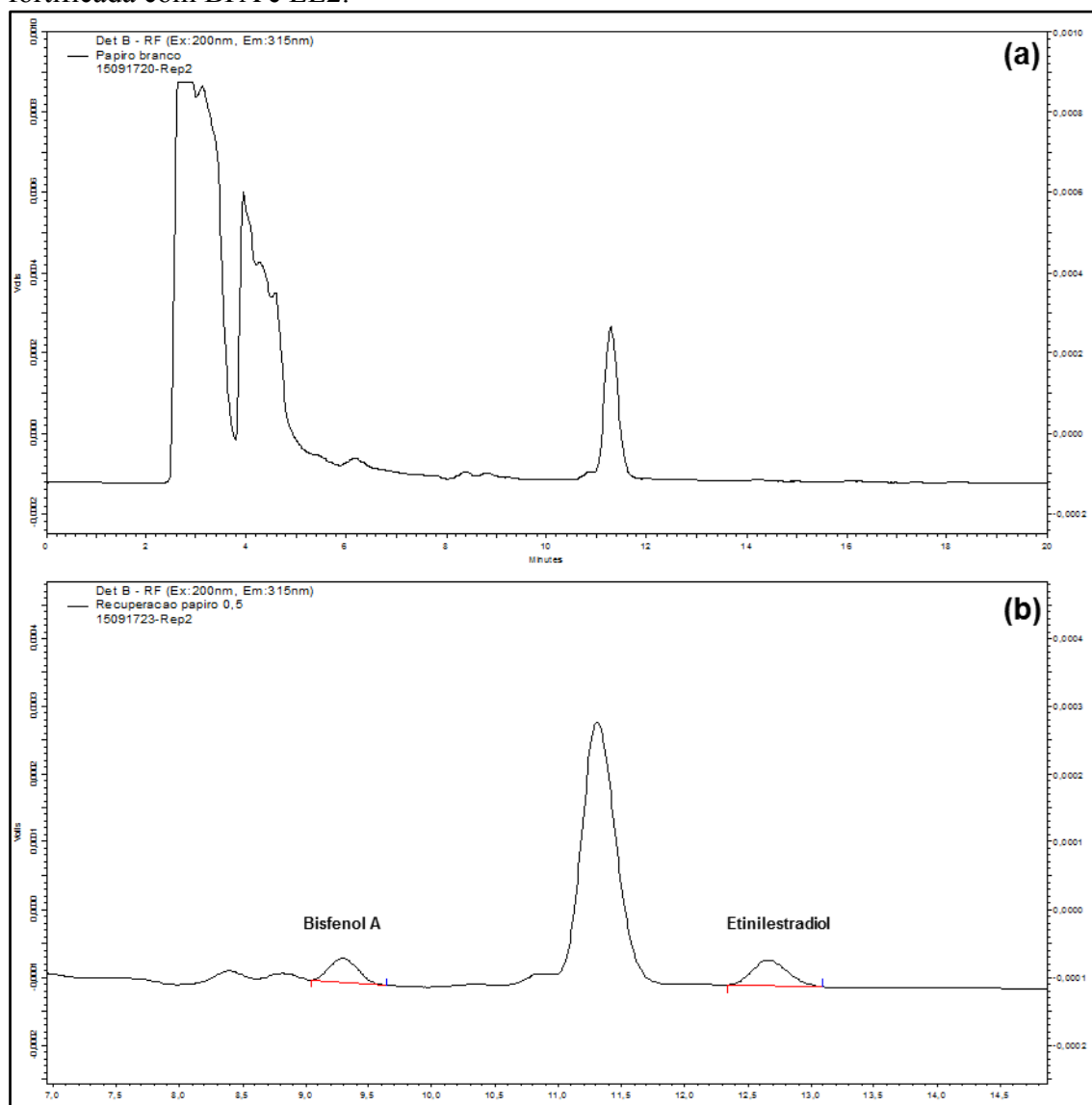
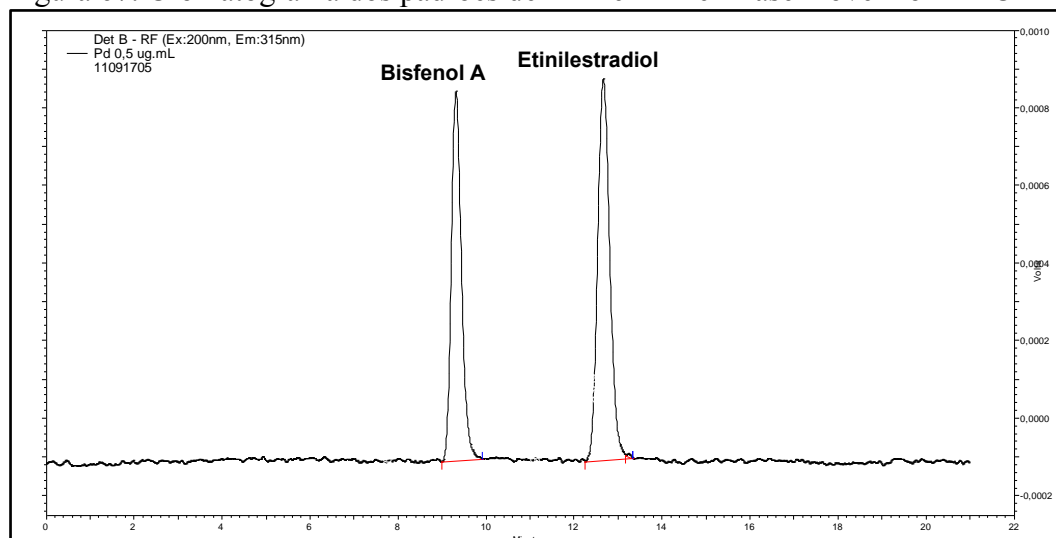
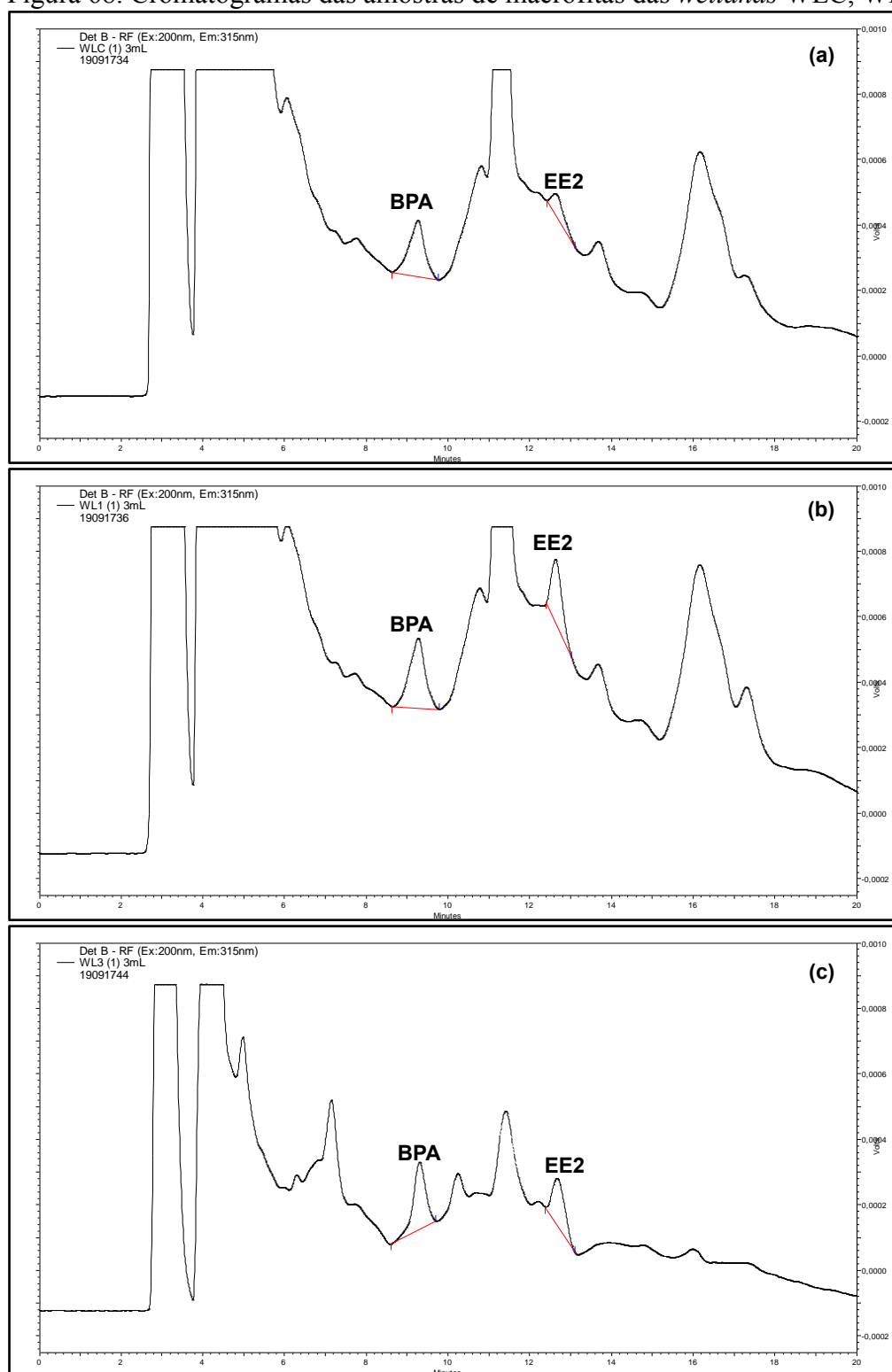


Figura 67. Cromatograma dos padrões de BPA e EE2 em fase móvel no HPLC-FL.



Nas amostras de mini-papiro e aguapé proveniente das *wetlands* o método também mostrou-se específico na análise de EE2 e BPA. Na Figura 68 (a) observa-se uma amostra do mini-papiro de WLC, na Figura 68 (b) uma amostra do mini-papiro de WL1 e na Figura 68 (c) uma amostra do aguapé de WL3.

Figura 68. Cromatogramas das amostras de macrófitas das *wetlands* WLC, WL1 e WL3.



A avaliação da seletividade foi realizada para os dois interferentes endócrinos, por meio de testes de efeito matriz. Não foi possível calcular o efeito matriz (EM) das amostras pelos testes *F* e *t* de *Student* como fora realizado nas amostras de esgoto sintético por não existir o número de dados mínimos para realização de um teste estatístico, então o EM foi calculado de acordo com a Equação 4, de acordo com Nieto-García *et al.* (2015):

$$EM = [(slope\ da\ curva\ na\ matriz / slope\ da\ curva\ no\ solvente) - 1] \times 100 \quad (Equação\ 4)$$

De acordo com Nieto-García *et al.* (2015) resultados na faixa de $\pm 20\%$ não indicam efeito matriz, sendo assim não houve efeito matriz para nenhum composto em nenhuma macrófita, tendo em vista que o efeito matriz do aguapé com BPA foi $-14,4\%$, e com EE2 foi praticamente nulo ($-0,4\%$). Já para mini-papiro o efeito matriz com BPA foi alto, porém dentro da faixa estabelecida ($-18,8\%$) e com EE2 foi menor ($-12,1\%$). Desta maneira os métodos de análise de BPA e EE2 em amostras de mini-papiro e aguapé puderam ser considerados específicos e seletivos.

— Linearidade e faixa linear de trabalho

Os parâmetros linearidade e faixa linear de trabalho foram avaliados de acordo com o guia do INMETRO (2007); utilizou-se a equação da regressão linear dos compostos, e também observou-se a distribuição dos resíduos por meio do teste estatístico ANOVA. Os ensaios foram realizados separadamente para as duas plantas estudadas.

Para mini-papiro, a curva de BPA foi composta de 7 pontos variando de $0,025$ a $5,0\ \mu\text{g.mL}^{-1}$, e a de EE2 foi composta de 6 pontos variando de $0,025$ a $2,5\ \mu\text{g.mL}^{-1}$. No caso do aguapé, tanto para BPA quanto para EE2, as curvas foram compostas por 7 pontos variando de $0,025$ a $2,5\ \mu\text{g.mL}^{-1}$. Cada ponto das curvas analíticas foram injetados três vezes. A linearidade e faixa linear de trabalho estão apresentadas na Figura 69 (mini-papiro) e na Figura 70 para o aguapé, onde é possível observar que houve linearidade para BPA e EE2, com coeficiente de determinação (R^2) maior que $0,99$ para todos compostos e macrófitas, e com distribuição aleatória dos resíduos.

Figura 69. Linearidade, faixa linear de trabalho e distribuição dos resíduos para mini-papiro.

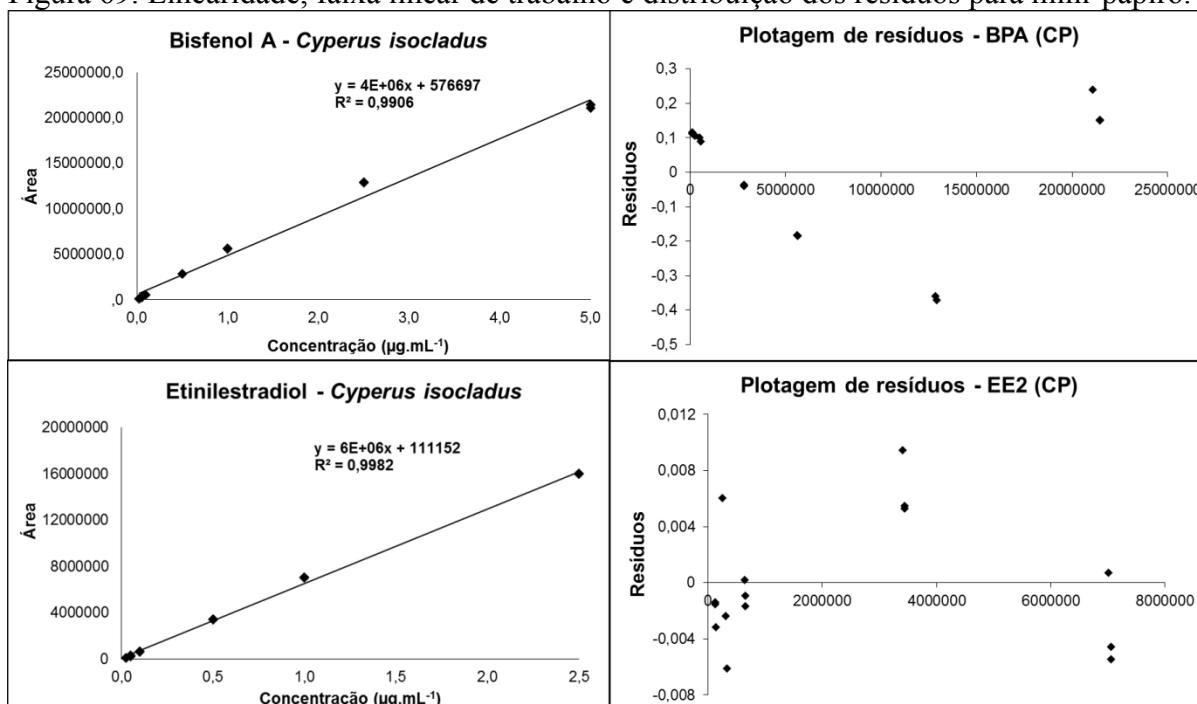
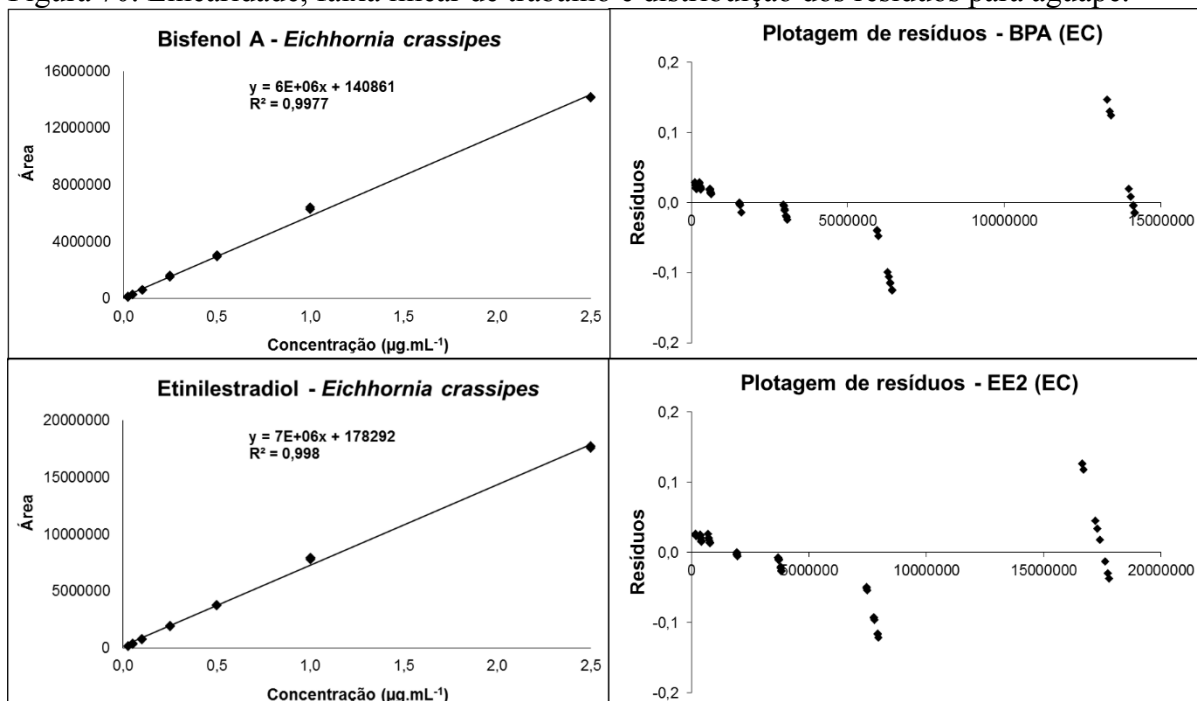


Figura 70. Linearidade, faixa linear de trabalho e distribuição dos resíduos para aguapé.



— Limites de detecção e de quantificação

Os limites de detecção e quantificação do aparelho (HPLC-FL) foram obtidos da mesma maneira que para o HPLC-UV, no caso do esgoto sintético. O valor de concentração

que correspondeu a um coeficiente de variação (CV) menor que 20% após sucessivas injeções no cromatógrafo foi considerado o limite de quantificação, e o menor ponto identificado com CV maior que 20% e com relação de área de sinal/ruído igual a 3 foi considerado o limite de detecção. Logo, os valores de LOQ foram $0,025 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para BPA e EE2, e os valores de LOD do aparelho foram $0,015 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para BPA e EE2.

Foram considerados como limite de quantificação (LQ) do método a menor concentração obtida nos ensaios de recuperação que obteve precisão e exatidão aceitáveis (SANCO, 2009), e como limite de detecção (LD) do método a concentração que teve o pico identificado no cromatograma, porém a precisão e exatidão não obtiveram coeficientes de variação confiáveis. Na Tabela 53 estão apresentados os limites de detecção e quantificação para os dois interferentes endócrinos, e as duas macrófitas estudadas.

Tabela 53. Limites de detecção e quantificação do método para mini-papiro e aguapé.

Interferente endócrino	<i>Cyperus isocladius</i>		<i>Eichhornia crassipes</i>	
	LD ⁽¹⁾ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LQ ⁽²⁾ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LD ⁽¹⁾ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	LQ ⁽²⁾ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Bisfenol A	0,15	1,50	0,15	0,75
Etinilestradiol	0,15	0,75	0,15	0,75

⁽¹⁾ limite de detecção do método; ⁽²⁾ limite de quantificação do método

Petrie *et al.* (2017) desenvolveram um método analítico para identificação e quantificação de 81 micropoluentes, dentre eles BPA e EE2, em *P. australis* proveniente de *wetlands* utilizando extração prévia em micro-ondas, com posterior extração em fase sólida utilizando cartuchos Oasis HLB (similares ao *Hypersep Retain* PEP utilizados neste experimento), e leitura em UHPLC-MS/MS. Os autores obtiveram LOD de $0,03 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ para BPA e de $0,10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ para EE2, e LOQ de $0,10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ para BPA e $0,48 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ para EE2. Os LD atingidos pelos autores foram $0,39 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ para BPA e $2,68 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ para EE2, e os LQ foram $1,30 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ para BPA e $12,88 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ para EE2; os autores obtiveram LOD, LOQ, LD e LQ muito inferiores ao presente estudo porque o detector MS/MS acoplado ao UHPLC permite atingir limites muito menores do que no aparelho HPLC-FL.

Karnjanapiboonwong *et al.* (2011) analisaram EE2 em plantas de feijão extraídas em acetonitrila e água, com posterior *clean up* em cartucho C18 de extração em fase sólida; a leitura foi realizada em HPLC-UV e em coluna C18 e os autores obtiveram limites de detecção de $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de EE2. Observa-se que os limites encontrados pelos autores são bem próximos aos encontrados neste estudo usando o mesmo tipo de cromatógrafo (mudando apenas o detector) e coluna, o que ressalta que essa é a faixa média de concentração que

podem ser obtidas deste composto neste tipo de equipamento.

Calderón-Preciado *et al.* (2009) analisaram vários tipos de interferentes endócrinos, dentre eles o BPA, em amostras de alface com diversas etapas de extração dos analitos (utilizando reagentes sólidos e diferentes tipos de solvente), com posterior análise em GC-MS/MS. Os autores obtiveram LD de $13,6 \mu\text{g.kg}^{-1}$ e LQ de $15,3 \mu\text{g.kg}^{-1}$, menores que as obtidas neste estudo devido ao equipamento mais sensível que fora utilizado pelos autores.

— Exatidão (recuperação)

Da mesma maneira que nos ensaios com esgoto sintético, a exatidão do método foi avaliada por meio de ensaios de recuperação adicionando-se concentrações conhecidas dos analitos em macrófitas isentas dos mesmos. Para BPA no aguapé foram adicionados três diferentes níveis de concentração, sendo $0,15 \mu\text{g.g}^{-1}$ (baixa), $0,75 \mu\text{g.g}^{-1}$ (média), e $1,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ (alta). Todos ensaios de recuperação deveriam ter sido feitos em três níveis, no entanto EE2 no aguapé e BPA no mini-papiro não obtiveram recuperações aceitáveis na faixa de 70 – 120% (SANCO, 2009) em todos os níveis de concentração descritos anteriormente.

De acordo com SANCO (2009) os ensaios de recuperação devem ser realizados em um nível de concentração próximo ao limite de quantificação do método, e pelo menos em mais um nível acima deste, com mínimo de 5 ensaios no total. Por isso, considerou-se para EE2 no aguapé as recuperações nos níveis de concentração média e alta ($0,75 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $1,5 \mu\text{g.g}^{-1}$), num total de 6 ensaios injetados em triplicata, que obtiveram recuperações na faixa de 70 – 120%.

Para BPA no mini-papiro a concentração média considerada foi $1,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ porque as recuperações das concentrações menores que esta não ficaram na faixa de 70 – 120% (SANCO, 2009) e a alta $3,0 \mu\text{g.g}^{-1}$, num total de 9 ensaios injetados em triplicata. Como EE2 no mini-papiro obteve boas recuperações nos níveis $0,15 \mu\text{g.g}^{-1}$, $0,75 \mu\text{g.g}^{-1}$, e $1,5 \mu\text{g.g}^{-1}$, e a adição do nível $3,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ foi realizada para os dois compostos, as recuperações de EE2 no mini-papiro ficaram com 4 níveis de concentração. Todas amostras foram processadas seguindo exatamente a mesma metodologia de análise das amostras.

Na Tabela 54 estão apresentados os resultados de recuperação de BPA e na Tabela 55 de EE2 (ambos no aguapé), na Tabela 56 podem ser observados os resultados de recuperação de EE2 e na Tabela 57 de BPA (ambos no mini-papiro). Os valores de recuperação permaneceram entre 70 e 120% e portanto a exatidão do método ficou dentro dos níveis aceitáveis (SANCO, 2009).

Tabela 54. Recuperações obtidas de bisfenol A na macrófita *Eichhornia crassipes*.

Bisfenol A - <i>Eichhornia crassipes</i>			
0,15 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração baixa			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0,15	0,17	110,4
2	0,15	0,15	99,3
3	0,15	0,15	98,5
0,75 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração média			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0,75	0,74	98,7
2	0,75	0,73	97,7
3	0,75	0,74	98,0
1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração alta			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	1,50	1,48	98,5
2	1,50	1,47	98,1
3	1,50	1,41	94,0

Tabela 55. Recuperações obtidas de etinilestradiol na macrófita *Eichhornia crassipes*.

Etinilestradiol - <i>Eichhornia crassipes</i>			
0,75 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração média			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0,75	0,91	121,5
2	0,75	0,85	113,2
3	0,75	0,85	113,0
1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração alta			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	1,50	1,76	117,5
2	1,50	1,65	110,0
3	1,50	1,70	113,5

Tabela 56. Recuperações obtidas do hormônio etinilestradiol na macrófita *Cyperus isocladius*.

Etinilestradiol - <i>Cyperus isocladius</i>			
0,15 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração baixa			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0,15	0,12	81,6
2	0,15	0,13	88,0
3	0,15	0,12	80,8
0,75 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração média			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0,75	0,69	92,7
2	0,75	0,70	93,3
3	0,75	0,70	93,7
1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração alta (1)			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	1,50	1,37	91,2
2	1,50	1,43	95,6
3	1,50	1,50	100,2
3,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração alta (2)			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	3,00	3,16	105,3
2	3,00	3,21	106,9
3	3,00	3,19	106,2
4	3,00	3,00	99,9
5	3,00	3,07	102,4
6	3,00	2,89	96,2

Tabela 57. Recuperações obtidas de bisfenol A na macrófita *Cyperus isocladius*.

Bisfenol A - <i>Cyperus isocladius</i>			
1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração média			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	1,50	1,8	119,4
2	1,50	1,8	122,7
3	1,50	1,8	121,5
3,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ - Concentração alta (2)			
Amostra	Concentração esperada ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Concentração obtida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	3,00	2,97	98,9
2	3,00	2,95	98,4
3	3,00	2,98	99,3
4	3,00	2,81	93,8
5	3,00	2,96	98,8
6	3,00	2,73	90,9

Calderón-Preciado *et al.* (2009) analisaram BPA em amostras de alface e obtiveram recuperação de 61,1% BPA na concentração de $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$, recuperação inferior às obtidas no presente estudo com concentração próxima às concentrações utilizadas no nível de recuperação baixa. Os autores utilizaram apenas essa faixa de concentração para os ensaios de recuperação, e relataram recuperação teórica de 76, porém não ficou claro o que seria essa recuperação teórica relatada por Calderón-Preciado *et al.* (2009).

Karnjanapiboonwong *et al.* (2011) analisaram EE2 em plantas de feijão e obtiveram recuperação média de $71,9 \pm 2,3\%$ na concentração de $1 \text{ }\mu\text{g.g}^{-1}$, menores que as obtidas neste estudo.

Petrie *et al.* (2017) obtiveram recuperação de 105,0%, 124,9% e 149,7% nos níveis baixo, médio e alto, respectivamente, para BPA; para EE2 os autores obtiveram recuperações de 81,2%, 49,5% e 70,9% para os níveis baixo, médio e alto, respectivamente. Petrie *et al.* (2017) relataram que a maioria dos compostos estudados obtiveram recuperações na faixa de 80 – 120%, os autores estudaram no total 81 compostos, mas as recuperações de BPA e EE2 obtidas pelos autores foram inferiores às obtidas no presente estudo, talvez porque os mesmos trabalharam com concentrações na faixa de ng.g^{-1} e não $\mu\text{g.g}^{-1}$.

— Precisão (repetitividade e precisão intermediária)

A precisão foi obtida da mesma maneira que no esgoto sintético, através da determinação do coeficiente de variação das replicatas no mesmo dia (repetitividade) e em dias diferentes (precisão intermediária). Como pode ser observado na Tabela 58, os coeficientes de variação (CV) das amostras ficaram abaixo de 20%, indicando que o método possui precisão adequada (SANCO, 2009). Os valores de precisão intermediária foram obtidos ao longo do tempo, e os coeficientes de variação sempre ficaram dentro das faixas aceitáveis, como podem ser observados na Tabela 59. Observa-se em ambas tabelas que em alguns campos está escrito “Não há”, o que significa que aquela concentração não foi utilizada ou não obteve resultado positivo para aquele parâmetro.

Tabela 58. Repetitividade do método analítico para aguapé e mini-papiro.

Interferente endócrino	Repetitividade - coeficiente de variação (%)						
	<i>Eichhornia crassipes</i>			<i>Cyperus isocladius</i>			
	0,15 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,75 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,50 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,15 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,75 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,50 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	3,00 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Bisfenol A	4,1	1,8	0,3	Não há	Não há	1,9	1,0
Etinilestradiol	Não há	0,2	0,4	6,2	2,0	0,9	1,0

Tabela 59. Resultados de precisão intermediária do método analítico para aguapé.

Interferente endócrino	Precisão intermediária - coeficiente de variação (%)						
	<i>Eichhornia crassipes</i>			<i>Cyperus isocladius</i>			
	0,15 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,75 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,50 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,15 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,75 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,50 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	3,00 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Bisfenol A	3,9	1,4	0,5	Não há	Não há	1,7	1,0
Etinilestradiol	Não há	0,3	0,3	5,8	1,5	1,2	1,0

— Robustez

A robustez foi avaliada por meio de pequenas variações de fase móvel, gradientes de concentração na corrida cromatográfica, e temperatura da sala de preparo de amostras. Como os coeficientes de variação dos resultados obtidos da injeção das amostras fortificadas em diferentes dias, com diferentes temperaturas e diferentes marcas dos solventes utilizados foram todas menores que 20%, é possível concluir que o método foi robusto e preciso.

6.3.2. Análises microbiológicas e isolamento de micro-organismos

Na Tabela 60 estão apresentados os resultados obtidos da contagem total de colônias de bactérias e fungos nas raízes do *Cyperus isocladius* de WLC e WL1 (em UFC.g⁻¹ - unidades formadoras de colônia por grama), e o número de diferentes colônias isoladas de cada *wetland*. Conforme apresentado abaixo, a contagem total de colônias bactérias na raiz da macrófita de WLC gerou um valor de $1,2 \times 10^8$ UFC por grama de planta, com 14 diferentes tipos de colônias de bactérias, e em WL1 foi $1,0 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ e 10 diferentes tipos de colônias isoladas.

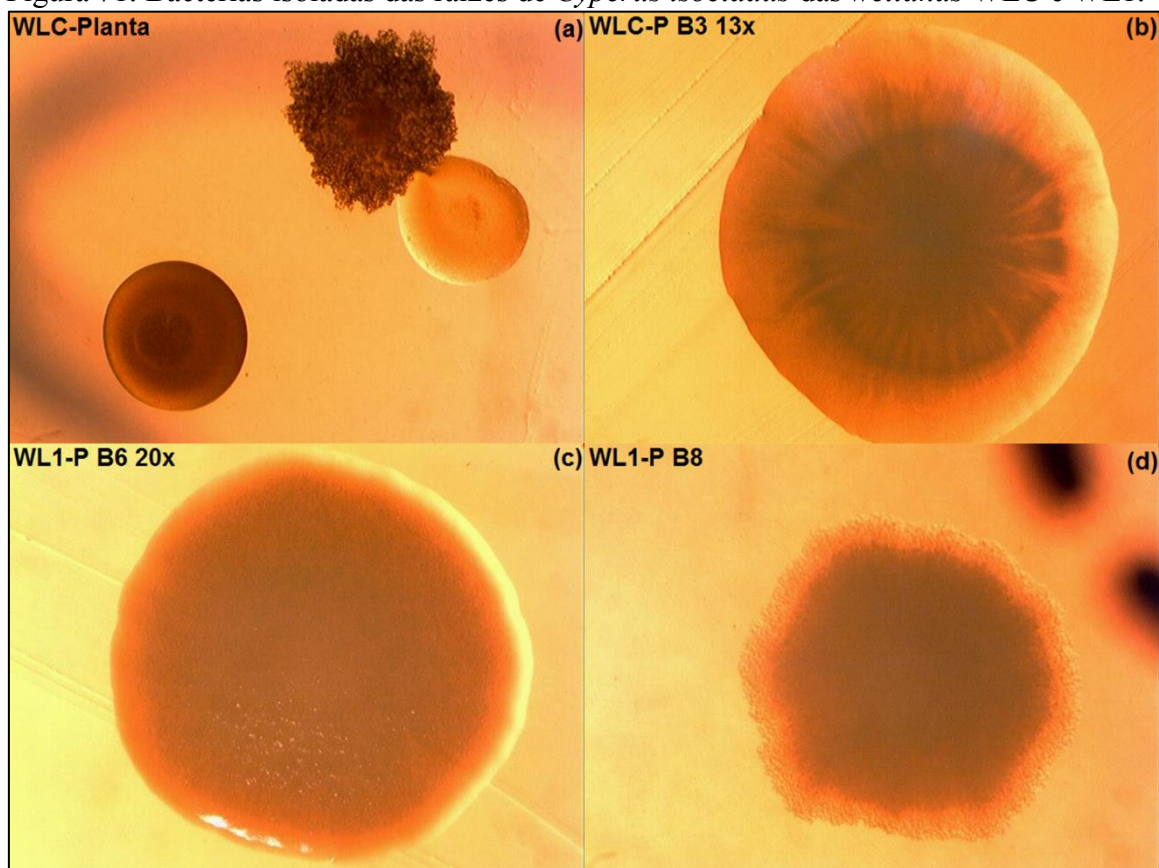
Tabela 60. Contagem total de micro-organismos e quantidade de colônias isoladas obtidas nas raízes.

Wetland	Bactérias		Fungos	
	(UFC.g ⁻¹)	Número de diferentes colônias	(UFC.g ⁻¹)	Número de diferentes colônias
WLC	$1,2 \times 10^8$	14	$3,4 \times 10^5$	6
WL1	$1,0 \times 10^8$	10	$1,5 \times 10^5$	4

De acordo com a Tabela 60, a contagem e isolamento de fungos também foi maior em WLC com $3,4 \times 10^5$ UFC/g e 6 tipos diferentes de colônias isoladas, do que em WL1 com $1,5 \times 10^5$ e 4 tipos de colônias de fungos isolados. Observou-se que WLC apresentou maior quantidade e diversidade tanto de colônias de bactérias quanto de fungos, o que pode indicar que as maiores taxas de retenção de BPA e EE2 nesta *wetland* tenha ocorrido pela degradação por algumas destas colônias de micro-organismos, tendo em vista que não foi por absorção na planta - conforme apresentado no item “5.3.1” WLC foi a *wetland* que menos absorveu BPA e EE2.

Na Figura 71 estão apresentadas algumas imagens de colônias de bactérias isoladas, onde observa-se em (a) três tipos diferentes de colônias de bactérias em uma mesma placa de WLC, em (b) a B3 (colônia de bactéria n.º 3) da amostra WLC-P (WLC-Planta) com lente de aumento 13x (13 vezes). Em (c) observa-se a colônia de bactéria n.º 6 isolada da amostra de WL1 com lente de aumento 20x, e em (d) a colônia de bactéria n.º 8 da mesma amostra WL1-Planta. Observa-se nessa figura seis diferentes tipos de colônias de bactérias isoladas das amostras de raiz de mini-papiro de WLC e WL1, mas como foi apresentado na Tabela 60, essa diversidade foi muito maior.

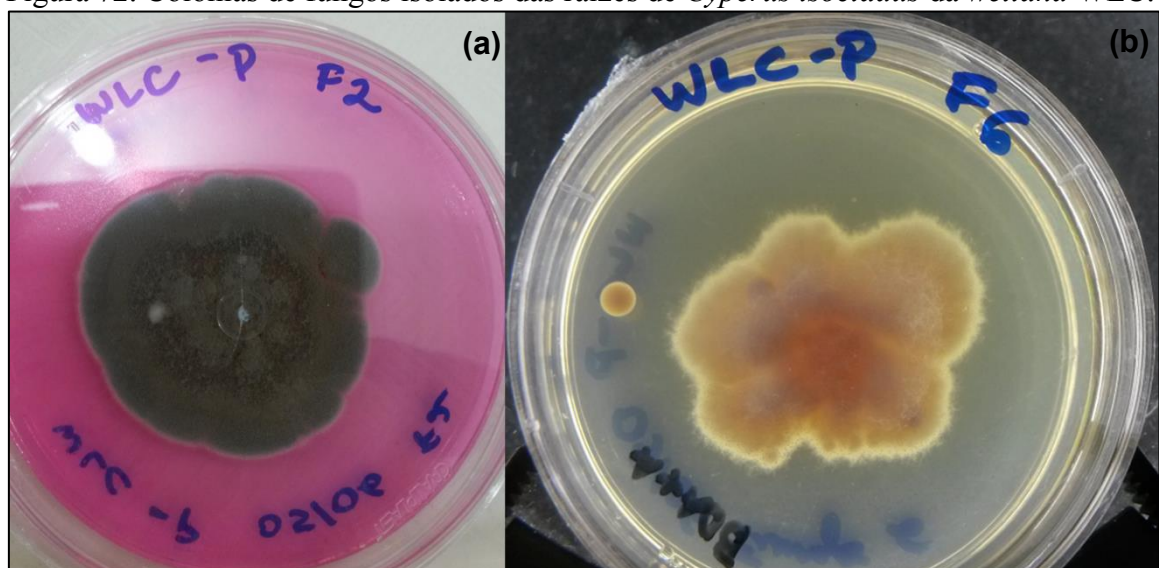
Figura 71. Bactérias isoladas das raízes de *Cyperus isocladius* das wetlands WLC e WL1.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Na Figura 72(a) apresenta-se o F2 (colônia de fungos n.º2) da amostra de raiz de WLC, e na Figura 72(b) a colônia de fungos n.º 6, isoladas de WLC-P (WLC – Planta).

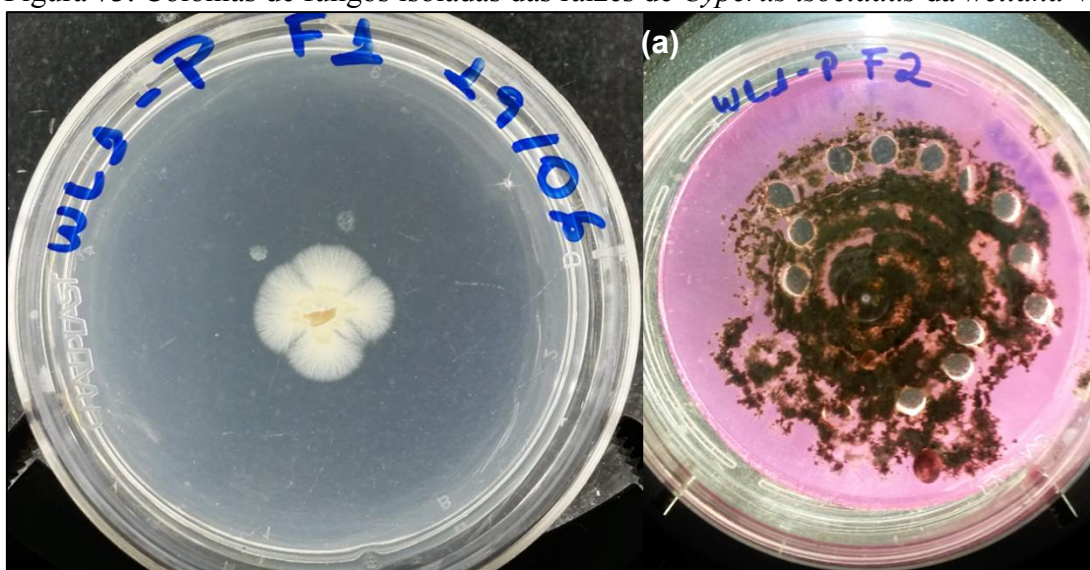
Figura 72. Colônias de fungos isolados das raízes de *Cyperus isocladius* da wetland WLC.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Observa-se na figura anterior e na figura abaixo uma amostra da diversidade de colônias de fungos que puderam ser isolados das raízes das macrófitas. Na Figura 73(a) apresenta-se a colônia de fungos n.º 1 da amostra de raiz de WL1, e na Figura 73(b) a colônia de fungos n.º 2 (isolado de das raízes de WL1). Também se observa na Figura 73(b) o ágar na placa de Petri após a retirada dos discos das colônias de fungos com ágar para serem preservados.

Figura 73. Colônias de fungos isoladas das raízes de *Cyperus isocladius* da wetland WL1.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

A Figura 74 ilustra como ocorreu a preservação das colônias de fungos em frascos de penicilina com água destilada estéril.

Figura 74. Colônias de fungos preservadas em frascos de penicilina.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Arboleda et al. (2012) obtiveram degradação de BPA e triclosan pelos fungos *Ganoderma stipitatum* e *Lentinus swartzii*, isolados da floresta colombiana, e produtores de lacase. Os autores relataram que a enzima agiu como um catalisador na degradação do interferente endócrino, e reduziu a toxicidade da solução. Kang et al. (2006) relatou que as enzimas lignolíticas lacase, peroxidase e manganês peroxidase (MnP) são capazes de degradar BPA.

Kim et al. (2008) utilizou o fungo *Trametes versicolor* (produtor de enzimas lignolíticas) para degradação de bisfenol A, nonilfenol e dois ftalatos e observou, além da diminuição da concentração dos compostos, diminuição de sua atividade estrogênica. Hirano et al. (2000) estudou a degradação de bisfenol A pelo fungo *Pleurotus ostreatus*, produtor da enzima manganês peroxidase, e também obteve resultados satisfatórios.

Toro-Vélez et al. (2016) isolou onze tipos diferentes de fungo das raízes de *Heliconia psitacorum* cultivadas em *wetlands* cultivada, dos quais quatro eram produtores de lacase. Isso mostra a diversidade de fungos presentes em *wetlands*, especialmente os produtores de lacase. Neste contexto, a exploração da degradação de interferentes endócrinos por fungos isolados de *wetlands* é uma alternativa possível para a degradação destes compostos. Além disso, a diversidade de fungos presentes em *wetlands* pode aumentar a eficiência de degradação destes compostos em *wetlands* construídas.

Kyambadde et al. (2004) estudaram *Cyperus papyrus* (papiro) e *Miscanthidium violaceum* em *wetlands* e observaram que as raízes do papiro possuíam mais estruturas propícias para adesão de biofilme microbiano, e maior área superficial para absorção de poluentes do que a outra macrófita. Pode ser que pelo fato do mini-papiro possuir estrutura igual ao papiro (em menor escala) junto ao fato da área superficial do carvão de bambu ser mais propícia para adesão de biofilme do que a brita, culminaram em uma maior quantidade e diversidade de micro-organismos do que em WL1, proporcionando assim maior retenção ou degradação de BPA e EE2.

Elsayed et al. (2014) observaram por análises de DNA maior diversidade de bactérias nas raízes das macrófitas de *wetlands* do que na água residuária presente dentro das mesmas, com média $57 \pm 7\%$ de semelhança entre as comunidades microbianas das macrófitas *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. e *Phalaris arundinacea* L.

6.4. Meio suporte

6.4.1. Análises microbiológicas e isolamento de micro-organismos

No meio suporte WLC não obteve maior quantidade de micro-organismos como nas raízes das macrófitas, com $2,5 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ e 10 tipos de colônias de bactérias, e $1,1 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ e 6 tipos de colônias de fungos. Já WL1 obteve $5,2 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ e 7 tipos de colônias de bactérias, e $3,9 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ e 3 tipos de colônias de fungos; WL2 obteve $3,0 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ e 8 tipos de colônias de bactérias, e $1,6 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ e 8 tipos de colônias de fungos, enquanto WL3 obteve $9,5 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ e 10 tipos de colônias de bactérias, e $2,7 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ e 7 tipos de colônias de fungos.

A brita da *wetland* WL1 apresentou maior quantidade de bactérias, enquanto WL3 e WLC obteve maior diversidade, com 10 tipos de colônias diferentes. Sendo assim, apesar de WLC ter obtido a menor quantidade de micro-organismos, este meio suporte obteve novamente maior diversidade de colônias – da mesma maneira que o ensaio nas raízes das macrófitas. Na Tabela 61 estão apresentados os resultados obtidos da contagem total de bactérias e fungos no meio suporte das *wetlands* (em UFC.g⁻¹), e o número de diferentes colônias de micro-organismos isoladas de cada *wetland*.

Tabela 61. Contagem total de micro-organismos e quantidade de colônias isoladas obtidas no meio suporte.

Wetland	Bactérias		Fungos	
	(UFC.g ⁻¹)	Número de diferentes colônias	(UFC.g ⁻¹)	Número de diferentes colônias
WLC	$2,5 \times 10^6$	10	$1,1 \times 10^4$	6
WL1	$5,2 \times 10^6$	7	$3,9 \times 10^3$	3
WL2	$3,0 \times 10^6$	8	$1,6 \times 10^4$	8
WL3	$9,5 \times 10^5$	10	$2,7 \times 10^3$	7

Já no caso dos fungos (Tabela 61) a diversidade em WLC não foi muita com apenas 6 diferentes tipos de colônias, igualmente na análise da raiz do mini-papiro de WLC. WL2 obteve 8 diferentes tipos de colônias, e WL3 obteve 7 tipos de colônias, não tão diferente de WLC. Em questão de quantidade de fungos, WLC foi o segundo maior com apenas $0,5$ UFC.g⁻¹ de diferença de WL2, que obteve $1,6 \times 10^4$ UFC.g⁻¹.

A maneira que foi avaliada os micro-organismos no meio suporte deste estudo foi adaptada de He *et al.* (2014), que encontraram de $3,1 \times 10^7$ a $4,1 \times 10^7$ UFC.mL⁻¹ bactérias na

wetland de fluxo vertical, e de $3,0 \times 10^7$ a $4,1 \times 10^7$ UFC.mL⁻¹ bactérias na *wetland* de fluxo horizontal. De acordo com os autores, a contagem de fungos na *wetland* vertical variou de $3,3 \times 10^4$ até $4,4 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹, e na horizontal de $3,3 \times 10^4$ a $3,8 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹. Os autores relataram que o tipo de meio suporte influenciou o crescimento e atividade microbiana, e que os resultados obtidos do carvão de bambu foram melhores que os obtidos na brita. Não foi possível comparar os resultados dos autores com os deste estudo porque foram relatados em UFC.mL⁻¹, enquanto o do presente estudo foi relatado em UFC.g⁻¹, e mesmo que os resultados deste estudo fossem apresentados em UFC.mL⁻¹ as quantidades utilizadas de meio suporte e água/tampão estéril utilizadas foram diferentes, por isso a comparação não seria válida.

He *et al.* (2014) realizaram ensaios de biologia molecular (DGGE, PCR e 16Sr DNA) para verificar a diversidade de micro-organismos, incluindo os não cultiváveis (que não crescem em placa de Petri). Os autores relataram que o carvão de bambu aumentou a riqueza e diversidade de micro-organismos no biofilme aderido ao meio suporte, quando comparado com a brita, provavelmente devido à sua grande e porosa área superficial proporcionando o crescimento de um biofilme mais denso. A diversidade relatada pelos autores corrobora com a diversidade de bactérias do meio suporte de WLC, e de bactérias e fungos presente nas raízes do mini-papiro de WLC (em comparação ao mini-papiro de WL1).

Xia *et al.* (2016) relataram que a adição de carvão de bambu em um biorreator anaeróbio de membrana aumentaram a diversidade de micro-organismos no sistema de tratamento; os autores utilizaram extração de DNA para verificar a diversidade de micro-organismos.

Lv *et al.* (2017) utilizaram o teste CLPP (do inglês, *community level physiological profiling*) para avaliar a atividade microbiana e a “riqueza” metabólica do biofilme do meio suporte de *wetlands* com e sem planta, e observaram que nas plantadas as taxas de atividade microbiana eram mais elevadas, bem como um diferente perfil da comunidade microbiana. Esse fato não ocorreu no presente estudo, pois o meio suporte de WL2 apresentou maior quantidade de bactérias do que WLC.

Calheiros *et al.* (2009a) realizaram a contagem total de micro-organismos em diferentes meios suporte de *wetlands* cultivadas com a macrófita *Typha latifolia*, e em uma sem macrófita. Os autores também realizaram contagem nas raízes das macrófitas. Os autores realizaram também o isolamento e análises de biologia molecular (DGGE, 16Sr DNA), e observaram que a presença de macrófita no sistema e o tipo de meio suporte influenciaram a estrutura e diversidade da comunidade bacteriana. Além disso, os autores observaram que houve maior diversidade nas raízes das macrófitas do que no meio suporte, da mesma maneira

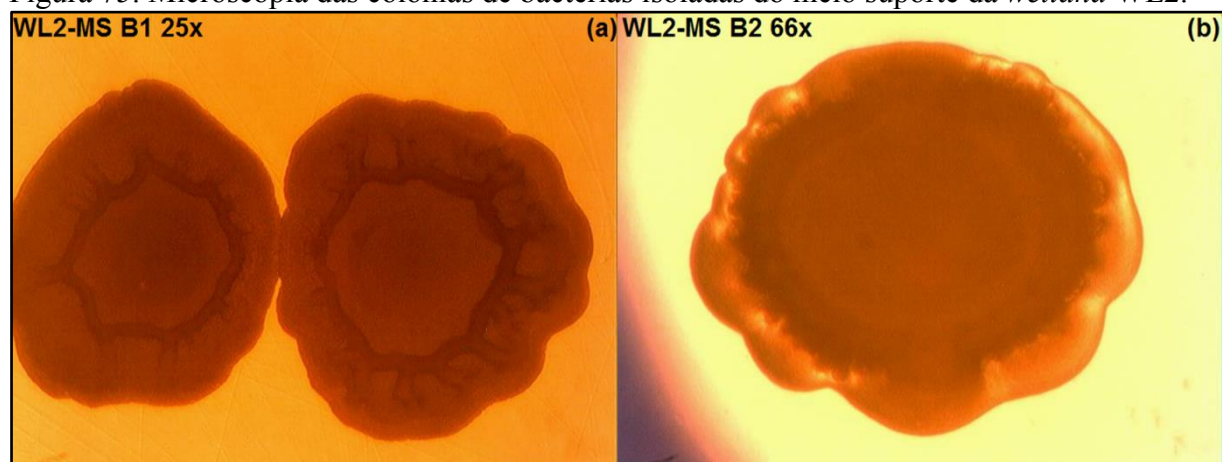
que ocorreu no presente estudo.

Calheiros *et al.* (2009b) obtiveram como resultado da contagem total de bactérias $1,2 \times 10^6$ à $2,7 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ nas *wetlands* cultivadas com *Typha latifolia*, e de $2,0 \times 10^6$ à $4,4 \times 10^8$ nas *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis*; esses resultados representam a junção da análise da contagem total de micro-organismos obtido nas raízes das macrófitas e nos meios suporte das *wetlands*. Esses resultados são maiores do que os obtidos no meio suporte de WLC, WL1, WL2 e WL3, porém são próximos aos obtidos nas raízes do minipapiro de WLC e WL1. Os autores observaram o mesmo que Calheiros *et al.* (2009a), maior contagem de bactérias nas raízes do que no meio suporte, apesar dessa diferença não ter sido estatisticamente significativa (p-valor > 0,05).

Gagnon *et al.* (2007) estudaram a quantidade de bactérias aderidas ao biofilme do meio suporte de *wetlands* plantadas e não plantadas, e também o biofilme aderido às raízes das macrófitas *Phalaris arundinacea*, *Phragmites australis* e *Typha angustifolia* utilizando citometria de fluxo. Os autores observaram que a densidade de bactérias presentes nas *wetlands* cultivadas com macrófitas era em média 10,3 vezes maior do que nas *wetlands* sem planta. Gagnon *et al.* (2007) também observaram maior respiração microbiana aeróbica nas raízes das macrófitas do que no meio suporte o que pode indicar, segundo os autores, a influência da liberação de oxigênio pelas raízes na formação da comunidade microbiana.

Na Figura 75 estão apresentadas algumas imagens de colônias de bactérias isoladas, onde observa-se em: (a) a colônia de bactérias n.º1 (B1) isolada da amostra de WL2-MS (meio suporte) com aumento de 25 vezes, e em (b) colônia de bactérias n.º 2 (B2) isolada da mesma amostra com aumento de 66 vezes.

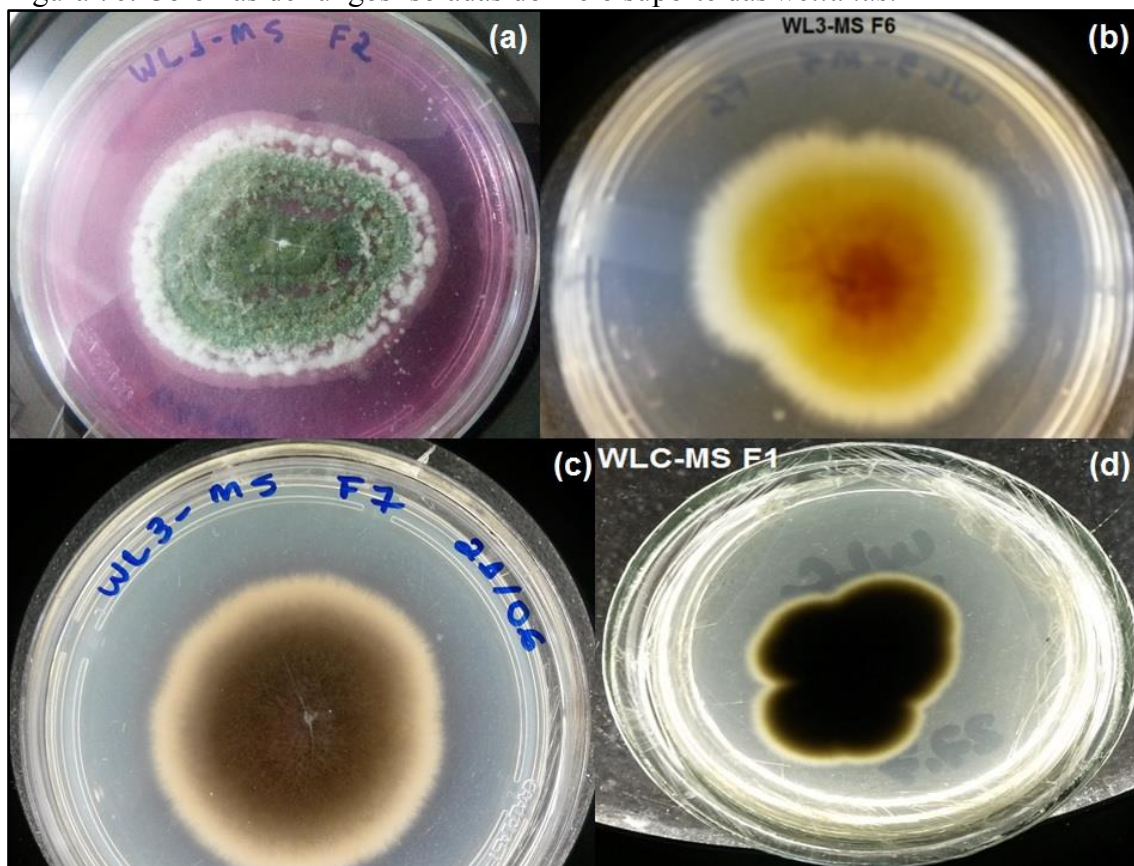
Figura 75. Microscopia das colônias de bactérias isoladas do meio suporte da *wetland* WL2.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Na Figura 76 encontra-se uma amostra da diversidade de colônias de fungos que puderam ser isolados do meio suporte das *wetlands*. Em (a) apresenta-se a colônia de fungos n.º 2 (F2) isolada da amostra WL1-MS (meio suporte), em (b) a colônia de fungos n.º 6 (F6) e a colônia de fungos n.º 7 (F7) isoladas da amostra WL3-MS (meio suporte), e em (d) a colônia de fungos n.º 1 (F1) isolada da amostra WLC-MS (meio suporte).

Figura 76. Colônias de fungos isoladas do meio suporte das *wetlands*.



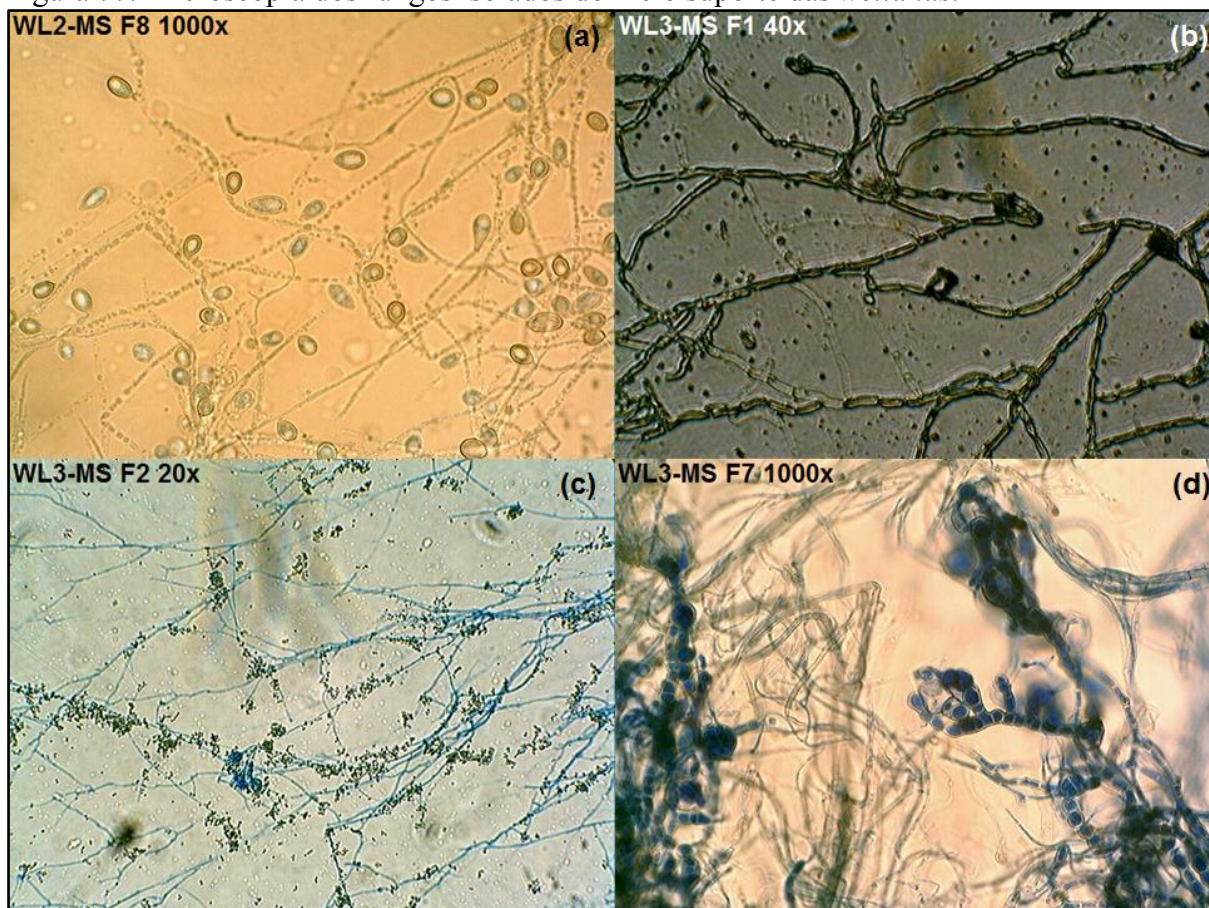
Fonte: Arquivo pessoal (2017).

Fotos microscópicas das colônias de fungos isoladas das *wetlands* podem ser observadas na Figura 77: em (a) colônia de fungos n.º 8 da amostra de meio suporte da *wetland* WL2 com lente de aumento de 1.000 vezes, é possível observar os esporos formados pelas colônias (pequenas esferas), enquanto as linhas são os hilos. Em (b) apresenta-se a colônia de fungos n.º 1 da amostra de meio suporte de WL3 com 40 vezes de aumento, onde é possível observar uma estrutura diferente de (a), como se o hilo fosse formado por diversos gomos aglomerados, enquanto nas extremidades é possível observar as estruturas reprodutivas.

Na Figura 77 (c) a microscopia é da colônia de fungos n.º 2 da mesma amostra anterior (WL3-MS) com aumento de 20 vezes, onde é possível observar finos hilos com

diversas esferas espalhadas, o que possivelmente são os esporos reprodutivos. E por fim, em (d) apresenta-se a colônia de fungos n.º 7 da mesma amostra com aumento de 1.000 vezes, onde observa-se uma estrutura semelhante à de (b) e (c), como se houvessem hifas finas e hilos com gomos aglomerados; também observa-se a estrutura reprodutiva do fungo na ponta do hilo com maior clareza.

Figura 77. Microscopia dos fungos isolados do meio suporte das *wetlands*.



Fonte: Arquivo pessoal (2017).

6.4.2. Ensaio com carvão de bambu

6.4.2.1. Caracterização físico-química dos carvões de bambu

A adsorção de N_2 a $-196^\circ C$ resultou em uma área superficial de S_{BET} de $3 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, $W_0 = 0 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, $E_0 = 10,9 \text{ kJ}$ e largura média dos poros (L_0) de 0 nm , o que significa que esse carvão de bambu não ativado não tinha porosidade. Estes resultados significaram que não poderia haver adsorção física de EE2 e BPA neste carvão porque este não tinha porosidade para que ocorresse adsorção.

Testes de adsorção foram realizados com EE2 e BPA neste carvão para verificar se poderia haver algum tipo de interação química entre eles, mas as concentrações finais dos compostos em solução após quatro dias de agitação com o carvão foram praticamente as mesmas que as iniciais. Portanto, não houve adsorção de EE2 e BPA no carvão vegetal de bambu inativado, indicando que a melhor retenção destes compostos em *wetlands* com carvão vegetal de bambu (WLC) não ocorreu por adsorção, mas devido a algum outro mecanismo não elucidado, ou porque a retenção desses compostos no bambu foi favorecida na *wetland* pela presença de algum tipo de matéria orgânica ou micro-organismo, que poderiam degradar esses compostos através de algum processo químico.

Como o objetivo do estágio havia sido alcançado, decidiu-se ativar este carvão de bambu para verificar se este processo melhoraria as condições de adsorção do mesmo, tendo em vista que o bambu é uma cultura de fácil manejo, e além disso, para aprender as técnicas analíticas de produção de carvão ativado.

A Tabela 62 mostra os resultados obtidos a partir da análise elementar das três amostras, onde BK-0 é o carvão de bambu obtido apenas por pirólise, e BK-1 é o carvão ativado obtido por pirólise seguido de ativação química. Pode-se observar que quanto mais ativado o carvão, maior a sua quantidade de carbono, e menor a quantidade de nitrogênio, hidrogênio e oxigênio, mostrando como a ativação e a pirólise alteram a composição e estrutura do carvão. É também digno de nota como o teor de material mineral (% de cinzas) é reduzido em aproximadamente 70% em comparação com a amostra original (Bambu).

Tabela 62. Análise elementar das amostras de carvão de bambu.

Amostra	Nitrogênio (%)	Carbono (%)	Hidrogênio (%)	Enxofre (%)	Oxigênio (%)	Cinzas (%)
Bambu	0,71	72,47	4,14	0,00	20,06	2,61
BK-0	0,56	88,82	0,75	0,04	6,50	3,34
BK-1	0,20	93,73	0,35	0,05	4,82	0,86

Utilizando o mesmo agente químico deste experimento (KOH) e o mesmo tempo e temperatura de ativação química, Hirunpraditkoon *et al.* (2011) obtiveram 6,5% de cinzas (muito maiores que BK-1), 0,22% de nitrogênio (confirmando BK-1), 45,5% de carbono (menos da metade de BK-1), 4,6% de hidrogênio (consideravelmente maior que BK-1) e 49,7% de oxigênio, enxofre e outros compostos - percentual maior que o BK-1. A diferença nas concentrações pode ter ocorrido porque a ativação química realizada por Hirunpraditkoon *et al.* (2011) foi realizada no bambu *in natura*, enquanto neste experimento foi realizado em pó de carvão de bambu.

Peng *et al.* (2018) obtiveram carvão ativado de bambu utilizando ativação física e química com ácido fosfórico e obtiveram em sua composição 0,15% de nitrogênio, 81,6% de carbono, 1,4% de hidrogênio, 0,1% de enxofre e 9,6% de oxigênio - percentuais diferentes dos obtidos no presente estudo, possivelmente devido à diferente preparação do carvão. Khandaker *et al.* (2018) com carvão ativado fisicamente e oxidado com ar comprimido obtiveram os seguintes resultados: 0,45% de nitrogênio e 9,0% de oxigênio (menor que neste estudo), e 90,5% de carbono, próximo ao BK-0 e BK- 1 (mesma ativação física, uma sem ativação química e outra com).

Sumanatrakul *et al.* (2000) utilizando carvão de bambu da mesma espécie estudada nesta pesquisa (*Dendrocalamus asper*) e ativando o mesmo fisicamente e quimicamente, obtiveram percentual de cinzas variando de 2,4 a 3,1%, valores maiores que BK-1 mas próximos de BK -0 e Bambu.

O conteúdo de cinzas obtido por Huang & Wen (2014) de um carvão de bambu ativado na mesma temperatura que nesse experimento, porém apenas pelo método físico, foi de 2,34% - próximo ao valor obtido na amostra bambu, sem ativação. Lin *et al.* (2014) obtiveram cinzas de carvão de bambu sem ativação variando de 1,3 à 3,1%, dependendo da espécie do bambu, valores próximos aos encontrados nesse estudo da amostra “Bambu” e também de BK-0 e BK-1.

Martín-González *et al.* (2014) também observaram aumento de carbono e diminuição de hidrogênio e oxigênio em relação ao resíduo de palma seca e moída e o carvão ativado deste material, no entanto observaram aumento de nitrogênio e diminuição de enxofre, ao contrário do que ocorreu com o carvão de bambu. No resíduo de pirólise e ativação Martín-González *et al.* (2014) obtiveram 41,6% de carbono, 4,5% de hidrogênio, 2,5% de nitrogênio, 0,4% de enxofre e 50,9% de oxigênio (apenas o conteúdo de hidrogênio estava próximo ao carvão de bambu); na amostra pirolisada a 650°C e quimicamente ativada com ácido fosfórico, os autores obtiveram 46,6% de carbono, 2,9% de nitrogênio e 50,5% de oxigênio - os autores não descreveram as concentrações de hidrogênio e enxofre. Observa-se que as concentrações de carbono obtidas nas amostras de carvão vegetal de bambu foram superiores às de Martín-González *et al.* (2014), o que é bom, porém as concentrações de nitrogênio e carbono foram menores nas amostras de carvão vegetal de bambu.

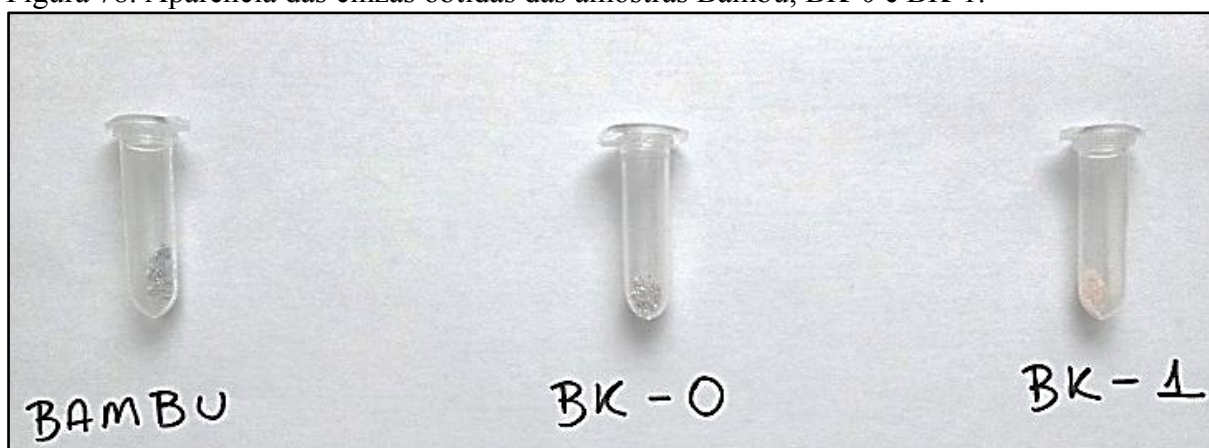
Barbosa *et al.* (2014) produziram carvão ativado a partir de biomassa de aguapé utilizando como agente químico o cloreto de zinco, e obtiveram aumento de carbono de 39,6% no aguapé *in natura* para 68,8% no carvão de aguapé (taxas de carbono menores que as apresentadas neste estudo), e obtiveram diminuição das taxas de hidrogênio de 5,5 para

2,1%, como no caso do carvão de bambu, taxas também maiores do que as obtidas em BK-0 e BK-1.

Quanto aos teores de nitrogênio, como Martín-González *et al.* (2014), Barbosa *et al.* (2014) obtiveram aumento deste nutriente, enquanto nas amostras de carvão de bambu e carvões ativados de bambu neste estudo houve diminuição – este fato pode ter ocorrido devido à temperatura de 900°C utilizada neste estudo, tendo em vista que os autores relatados anteriormente utilizaram de 650 – 700°C, ou pelo fato do carvão ativado de bambu ter sido produzido a partir de um carvão de bambu e não de um bambu *in natura*, podem ter ocorrido perda de nitrogênio e outros nutrientes durante a primeira “queima” do carvão.

Ijaola *et al.* (2013) produziram carvão ativado a partir de resíduos de bambu da espécie *Bambusa vulgaris*, utilizando ativação física e química com cloreto de zinco. A quantidade de cinzas obtidas pelos autores variaram de 1,8 à 2,9%, dependendo da quantidade de cloreto de zinco adicionada. Os teores de carbono ficaram entre 58,2 e 73,8% (menores que do presente estudo), de oxigênio entre 14,0 e 25,7% (próximos da amostra bambu, sem ativação) e de enxofre entre 0,00 e 0,38%. Na Figura 78 observa-se as diferentes colorações das cinzas das três amostras de carvão.

Figura 78. Aparência das cinzas obtidas das amostras Bambu, BK-0 e BK-1.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Observa-se na Tabela 63 o aumento da área superficial específica (S_{BET}) da amostra sem ativação química e pirólise (Bambu) para a amostra pirolisada e ativada, mostrando que BK-1 tem uma superfície de adsorção muito maior que a amostra Bambu. O mesmo aumento ocorre para o volume de microporos (W_0), para E_0 e para largura média dos poros (L_0) de 0 nm a 0,65nm.

Tabela 63. Área de superfície e porosidade dos adsorventes.

Amostra	S_{BET} ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	W_0 ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	E_0 ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	L_0 (nm)
Bambu	3,0	0,001	10,90	0,00
BK-1	1147	0,453	28,1	0,65

Hirunpraditkoon et al. (2011) utilizando o mesmo tipo de ativação física e química, obtiveram um S_{BET} de $1493 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, superior ao obtido em BK-1, e W_0 de $0,48 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ (muito próximo do BK-1), indicando que além do precursor utilizado para a produção de carvão vegetal, o tipo de ativação química (KOH ou ácido fosfórico), temperatura, tempo de ativação, entre outros, também tem grande influência nos resultados.

Peng *et al.* (2018) obtiveram S_{BET} de $861,6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (menor que BK-1), o W_0 dos autores foi $0,45 \text{ m}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ enquanto o de BK-1 foi $0,00000045 \text{ m}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, muito menor do que obtido pelos autores. Peng *et al.* (2018) obtiveram L_0 de $1,87 \text{ nm}$, relativamente mais alto o que obtido em BK-1, provavelmente devido às diferenças do processo de ativação. O S_{BET} de um carvão ativado oxidado de Khandaker *et al.* (2018) foi $347,7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ e W_0 de $0,18 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, valores consideravelmente inferiores aos obtidos em BK-1.

A superfície S_{BET} obtida por Huang & Wen (2014) em um carvão de bambu ativado nas mesmas condições de tempo e temperatura porém sem ativação química, foi de $228,6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, maior que da amostra bambu sem ativação porém muito inferior que a amostra BK-1 com ativação química. Lin *et al.* (2014) estudaram carvão ativado a partir de carvão de bambu de diversas espécies, mas nenhuma foi a espécie utilizada neste experimento (*Dendrocalamus asper*). Os resultados de S_{BET} obtidos pelos autores variaram de $58,95$ à $356,62 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ nos precursores (carvão de bambu) valores mais altos que os obtidos neste estudo, e nos carvões ativados o S_{BET} variou de $791,22$ até $829,78 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; S_{BET} menores que o obtido neste estudo, provavelmente pelo fato dos autores terem realizado apenas a ativação física à 900°C .

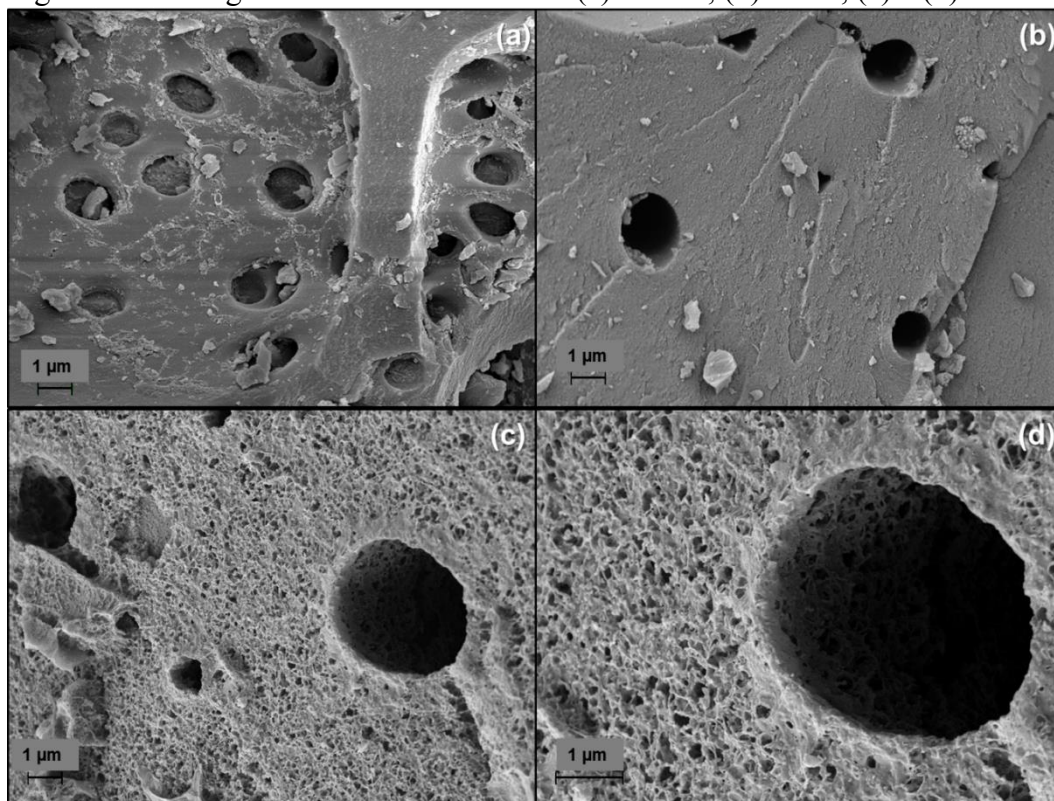
Martín-González *et al.* (2014) obtiveram S_{BET} de $3,0 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ para o resíduo vegetal precursor do carvão ativado (o mesmo valor obtido neste estudo para o carvão de bambu sem ativação) e após ativação do carvão os autores reportaram um S_{BET} de $1274 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, um aumento de área superficial próximo à obtida com o carvão de bambu neste estudo. O W_0 dos autores foi de $0,02 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ no resíduo vegetal à $0,88 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ no carvão ativado, maior volume de poros que neste estudo tanto no resíduo vegetal quanto no carvão. Quanto ao valor de diâmetro de poro (L_0), como no caso do carvão de bambu o resíduo orgânico de Martín-González *et al.* (2014) também apresentou 0 nm de diâmetro médio, enquanto o carvão deste

material obteve 1,43 nm, valores relativamente maiores que de BK-1.

Barbosa *et al.* (2014) obtiveram S_{BET} de $640 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ no carvão de aguapé, menores que as obtidas em BK-0 (carvão de bambu). No entanto, os autores relatam que este valor de S_{BET} pode ser considerado elevado e positivo na adsorção de compostos fenólicos (como o bisfenol A) tendo em vista que uma grande área superficial aumenta a adsorção destes compostos. Kim *et al.* (2008b) compararam um carvão comercial de bambu com um carvão comercial de coco, e com carvão criogel, e os autores observaram que o carvão comercial de bambu possuía maior S_{BET} que os demais ($1329 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), valor um pouco maior que de BK-1 ($1147 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). O volume de microporos obtido do carvão de bambu comercial por Kim *et al.* (2008b) foi $0,23 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, menor que o obtido em BK-1.

As micrografias SEM das amostras (Figura 79) revelam as diferentes morfologias. É possível observar o aumento da porosidade da amostra de bambu (menos porosa) em (a), da amostra BK-0 que só passou por pirólise (porosidade média) em (b) para a amostra de BK-1 que foi quimicamente ativada e pirolisada em (c), onde a porosidade é muito maior. As três micrografias foram tiradas com a mesma lente de aumento (50 Kx), e a escala na parte inferior esquerda de cada uma indica o tamanho de $1 \mu\text{m}$. A micrografia (d) é a mesma amostra que (c), mas com lente de aumento 100 Kx.

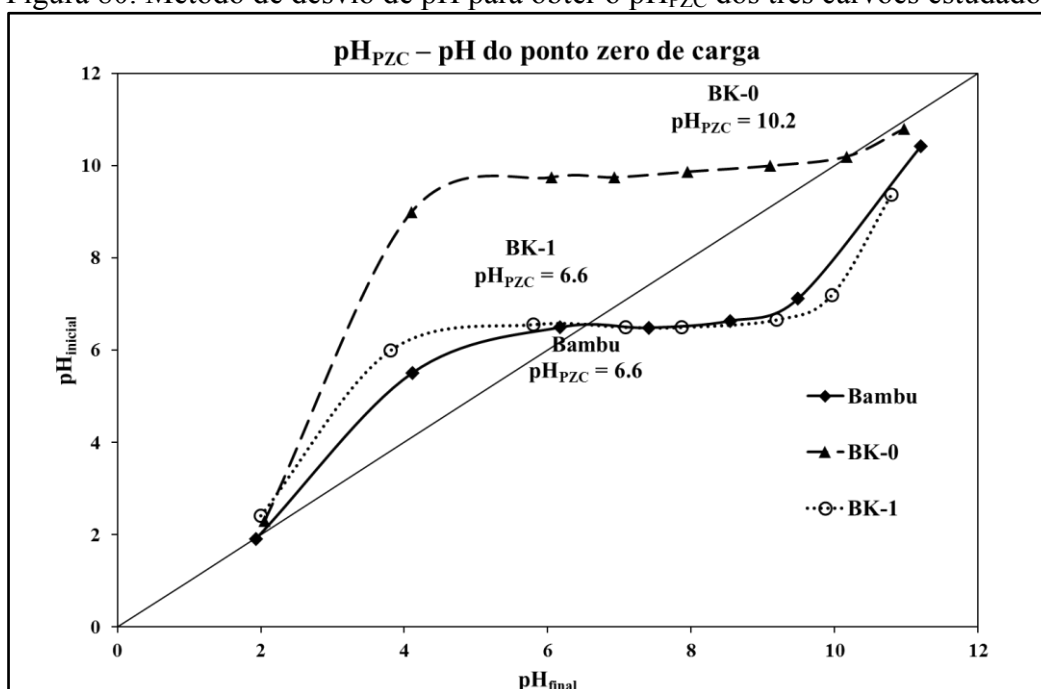
Figura 79. Micrografias SEM das amostras: (a) bambu; (b) BK-0, (c) e (d) BK-1.



Fonte: Arquivo pessoal (2016).

Os resultados do ensaio de pH de carga zero, ou pH do ponto zero de carga são mostrados na Figura 80, onde é interessante notar que o pH_{PZC} do bambu *in natura* foi de 6,6 (próximo à neutralidade), assim como no pH_{PZC} do carvão vegetal ativado fisicamente e quimicamente. O carvão BK-0, que foi ativado apenas por meios físicos, tem um pH_{PZC} maior e alcalino de 10,2. Com os valores de pH_{PZC} próximos ao diagrama de distribuição de espécies do adsorbato é possível saber se houveram interações eletrostáticas (atrativas ou repulsivas), ou não eletrostáticas entre a superfície do carvão e o adsorbato, e em que pH isso pode ter acontecido.

Figura 80. Método de desvio de pH para obter o pH_{PZC} dos três carvões estudados.



Huang & Wen (2014) obtiveram pH_{PZC} de 10,4 em carvão de bambu ativado fisicamente nas mesmas condições deste experimento, corroborando o valor obtido na amostra BK-0 de 10,2. Peng *et al.* (2018) relataram pH_{PZC} de 6,8 em um carvão ativado fisicamente e quimicamente, valor muito próximo ao obtido em BK-1. Khandaker *et al.* (2018) atingiram pH_{PZC} de 9,8 para um carvão ativado fisicamente e oxidado, próximo ao obtido em BK-0 (ativado apenas fisicamente).

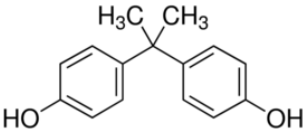
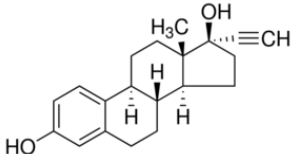
Martín-González *et al.* (2014) obtiveram pH_{PZC} de 5,6 no resíduo vegetal bruto, valor próximo ao carvão de bambu sem ativação deste estudo; no entanto, utilizando pirólise e ativação química (ácido fosfórico) os autores obtiveram um pH_{PZC} de 3,1 e, segundo os autores, essa acidez se deve ao ácido utilizado na ativação. Barbosa *et al.* (2014) utilizaram ativação química com cloreto de zinco e obtiveram pH_{PZC} de 5,4 no aguapé, valor próximo ao

resíduo bruto de Martín-González *et al.* (2014) e um pouco mais ácido que o de Bambu e BK-1.

6.4.2.2. Caracterização dos adsorbatos

As características dos adsorbatos são dadas na Tabela 64. O valor $\log K_{ow}$ é uma medida da hidrofobicidade de adsorção. Por conseguinte, o EE2 é mais insolúvel em água e mais hidrofóbico do que o BPA.

Tabela 64. Propriedades químicas dos adsorbatos.

Adsorbato	Massa molar (g.mol^{-1})	Solubilidade em água (mg.L^{-1})	pK _a	^c $\log K_{ow}$	Estrutura molecular
BPA	228,3	^a 300,0	9,8–10,3	3,32	
EE2	296,4	^c 11,3	10,2	3,67	

pK_a = constante inversa de dissociação ácida.

K_{ow} = coeficiente de partição octanol-água

^aDados de: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/111111111/15063/1/lbna24588enn.pdf>

^cDados de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

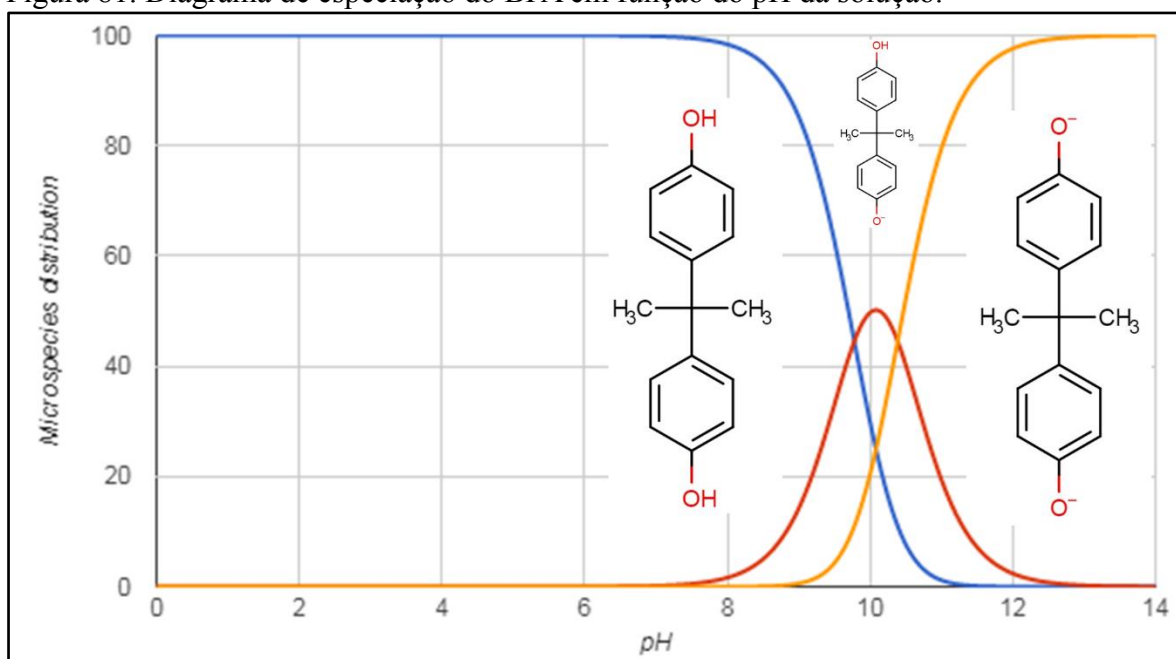
Os adsorventes deste estudo foram caracterizados por titulações potenciométricas para determinar seus diagramas de especiação em função do pH, revelando a distribuição das diferentes formas (neutra, aniônica ou catiônica) de cada soluto em meio aquoso a diferentes valores de pH.

Equilíbrios de protonação de ambos os compostos foram determinados para explicar o processo de adsorção. O diagrama de especiação do BPA (Figura 81) mostra que estas moléculas não estavam dissociadas até pH 8. A partir desse pH, uma espécie aniônica, BPAH⁻, aparece devido à desprotonação de um dos grupos hidroxila (pK_a = 9,8). Outra espécie aniônica, BPA²⁻, aparece por volta do pH 9 por causa da desprotonação do outro grupo hidroxila (pK_a = 10.3), sendo a única espécie aniônica observada a valores de pH acima de 12.

No caso do EE2 (Figura 82), existe como espécie neutra em pH abaixo de 9, e

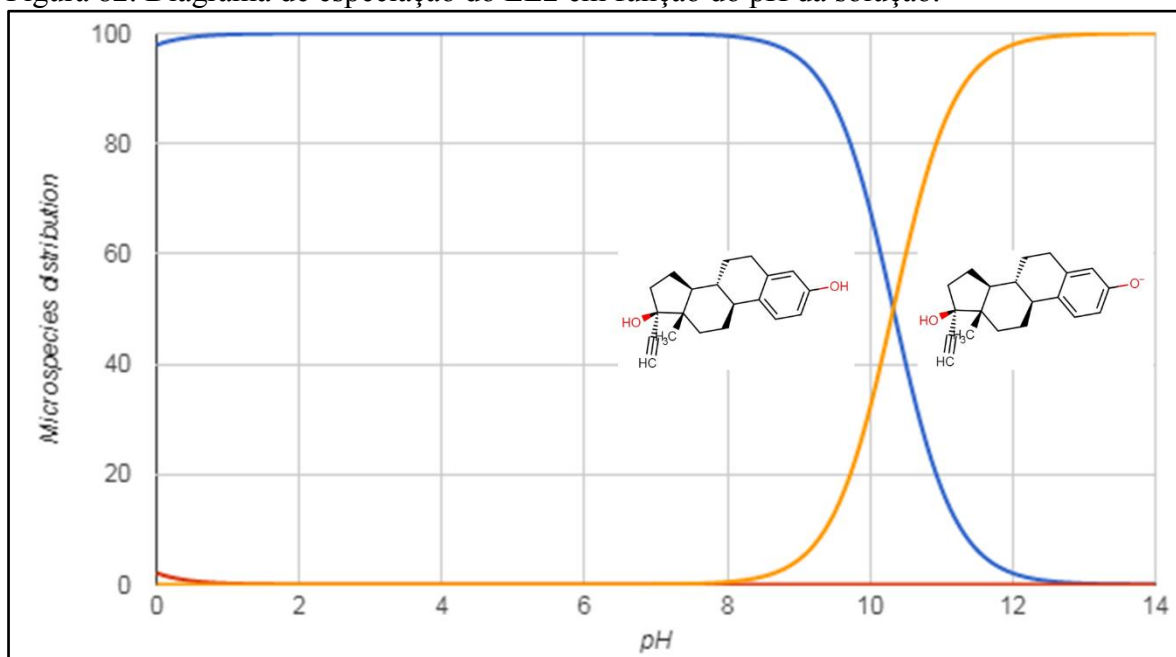
uma espécie aniônica (EE2-) aparece em valores de pH acima de 10 devido a desprotonação de um dos grupos hidroxila ($pK_a = 10.2$), que é o único que existe a partir do pH 12.

Figura 81. Diagrama de especiação do BPA em função do pH da solução.



Fonte: Adaptado de *ChemSpider* e *Chemicalize* (2016).

Figura 82. Diagrama de especiação do EE2 em função do pH da solução.



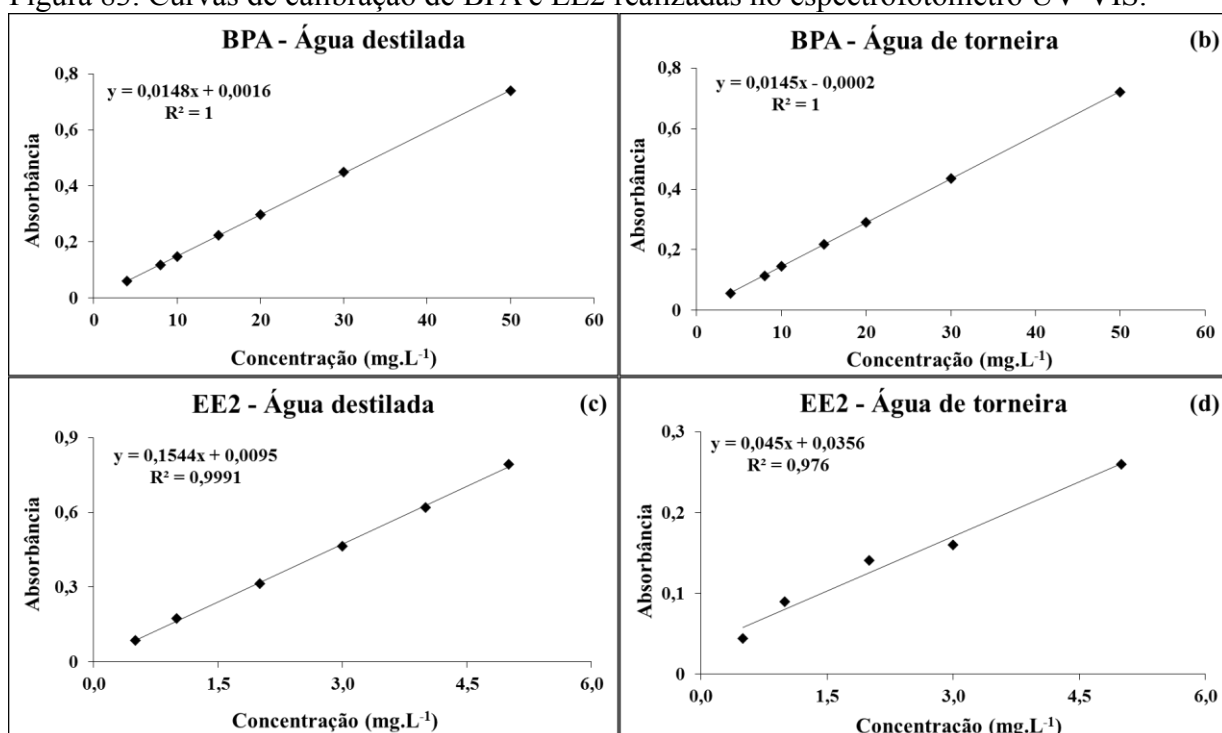
Fonte: Adaptado de *ChemSpider* e *Chemicalize* (2016).

A determinação de etinilestradiol e bisfenol A foi realizada em um espectrofotômetro de duplo feixe de luz com detector UV-VIS (CECIL CE7200/7000 series),

nos comprimentos de onda de 200 nanômetros para EE2, e 277nm para BPA. Uma reta de calibração com diferentes concentrações de soluções padrão foi realizada de acordo com a lei de *Lambert-Beer*, para que e os valores de absorvância gerados pelo espectrofotômetro fossem transformados em concentração. Na Figura 83(a) observa-se uma das retas de calibração feitas para BPA, e em (b) para EE2.

Observa-se que os R^2 do composto BPA foram excelentes, tanto com água destilada quanto de torneira foi $R^2 = 1$, em uma curva de sete pontos variando de 5 à 50 mg.L^{-1} . O $R^2 = 0,9991$ para EE2 em água destilada também foi muito bom, em uma curva variando de 0,5 à 5,0 mg.L^{-1} , já a curva de EE2 com água de torneira obteve um R^2 ruim de 0,976 (0,98), que foi considerado aceitável pelo fato de não ter sido possível atingir um $R^2 \geq 0,99$ para EE2 em água de torneira.

Figura 83. Curvas de calibração de BPA e EE2 realizadas no espectrofotômetro UV-VIS.



6.4.2.3. Isotermas de adsorção

Os resultados obtidos são dados nas Tabelas 65 e 66. As isotermas de adsorção foram muito bem ajustadas à equação de Langmuir, como mostrado pelos valores de R^2 .

Tabela 65. Resultados da aplicação da equação de Langmuir às isotermas de adsorção a 298 K (25 °C): capacidade de adsorção e afinidade relativa para adsorção de BPA e EE2 nas amostras de carvão ativado.

Carvão ativado	BPA			EE2		
	X_m (mg.g ⁻¹ C)	BX_m (L.g ⁻¹)	R^2	X_m (mg.g ⁻¹ C)	BX_m (L.g ⁻¹)	R^2
BK-0	3,4	0,01	0,996	1,5	0,2	0,993
BK-1	39,5	53,3	0,999	18,9	82,1	0,999

Tabela 66. Resultados da aplicação da equação de Langmuir às isotermas de adsorção a 298 K (25 °C): capacidade de adsorção e afinidade relativa para adsorção de BPA e EE2 na amostra de BK-1 em diferentes matrizes de água.

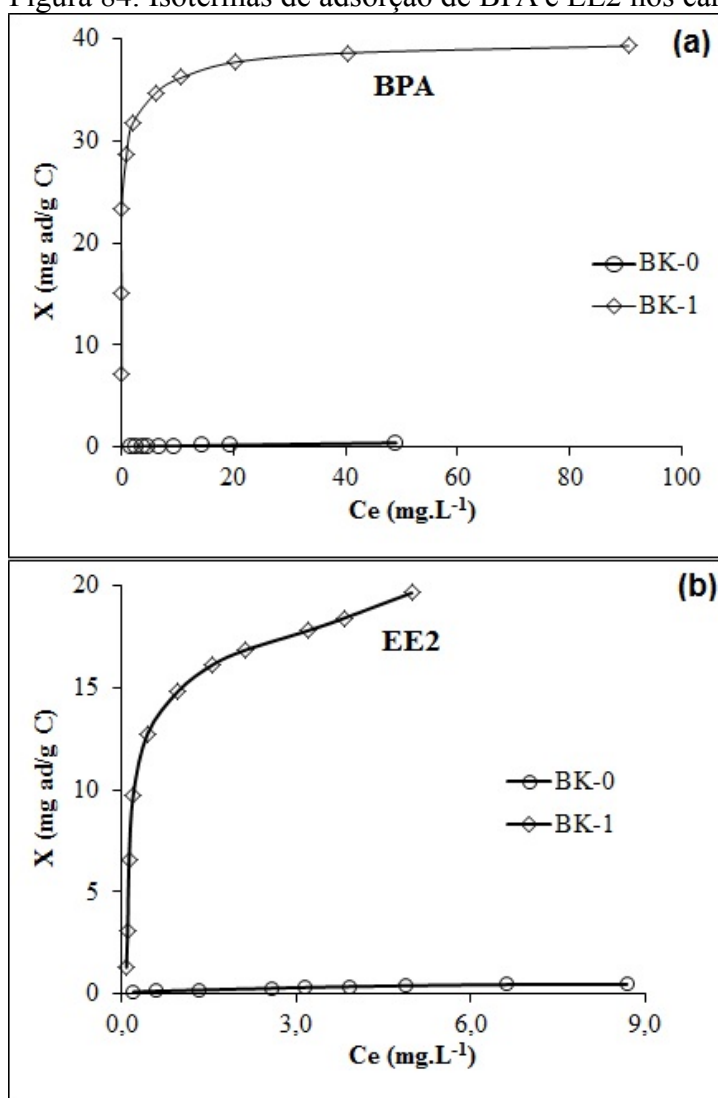
Tipo de água	BPA			EE2		
	X_m (mg.g ⁻¹ C)	BX_m (L.g ⁻¹)	R^2	X_m (mg.g ⁻¹ C)	BX_m (L.g ⁻¹)	R^2
Destilada	39,5	53,3	0,999	18,9	82,1	0,999
Torneira	39,0	49,6	0,999	29,1	877,6	0,999

Os gráficos apresentados a seguir representam as isotermas de adsorção de BPA e EE2, tendo no "eixo y" a relação da massa adsorvida do composto por massa de carvão, e no "eixo x" a concentração no equilíbrio do composto em mg.L⁻¹.

A isoterma de adsorção do BPA em BK-0 e em BK-1 pode ser observada na Figura 84(a). No carvão BK-0 houve uma leve adsorção (3,4 mg adsorvente/grama de carvão), mesmo sem ter sido submetido a um processo de ativação química. Pode-se observar que para a amostra de BK-1 a adsorção foi muito maior (39,5 mg adsorvente/grama de carvão) e, portanto, uma maior afinidade relativa adsorbato-adsorvente BX_m (Tabela 118).

Na Figura 84(b) é possível observar a mesma característica de adsorção, muito maior para BK-1 do que para BK-0, mostrando novamente que o carvão quimicamente ativado também foi eficiente para adsorção de EE2.

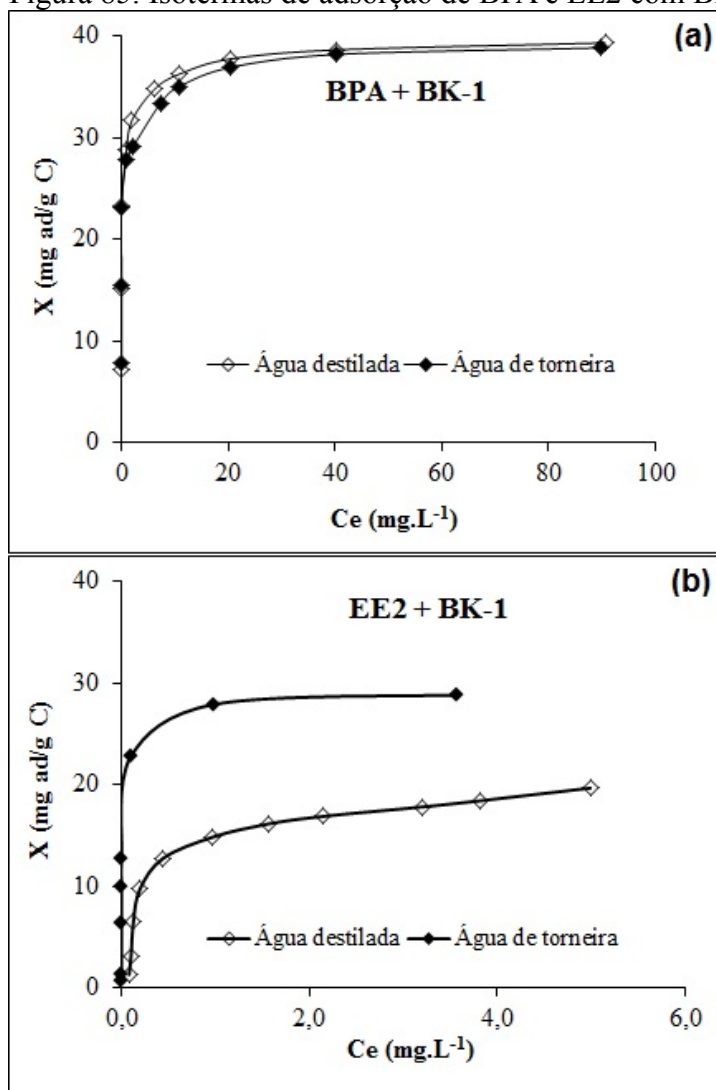
Figura 84. Isotermas de adsorção de BPA e EE2 nos carvões BK-0 e BK-1.



Os ensaios de adsorção na amostra BK-1 também foram realizados para os dois compostos, em água da torneira, a fim de verificar se a adsorção diminuiria com a competição das moléculas de interferentes endócrinos com os íons, sais e minerais da água da torneira.

Na Figura 85(a) observa-se que a adsorção de BPA no carvão ativado BK-1 foi ligeiramente maior em água destilada do que na água da torneira (Tabela 66), porque houve uma pequena competição entre íons inorgânicos e moléculas de BPA nos locais (poros) de adsorção do adsorvente. No entanto, a adsorção de EE2 na água da torneira foi muito maior do que na água destilada (Figura 85 b), um fenômeno difícil de explicar, provavelmente alguma substância presente na água da torneira ajudou a adsorção de EE2 em BK-1 ou degradou parte do hormônio. De fato, este último parece ser o mais provável, uma vez que o $\lambda_{\text{máx}}$ foi de 200 nm para EE2 em água destilada e cerca de 190 nm em água de torneira.

Figura 85. Isotermas de adsorção de BPA e EE2 com BK-1 em água destilada e de torneira.



Por fim, também é importante destacar que em todos os casos estudados (Tabela 65 e Tabela 66) o BPA é adsorvido em maior extensão que o EE2, apesar do EE2 ser um composto mais insolúvel e mais hidrofóbico ($> \log K_{ow}$) do que BPA (Tabela 64). No entanto, como mostrado na Tabela 64, o EE2 tem dimensões moleculares mais altas que o BPA e, portanto, pode ter maior dificuldade de acesso à porosidade do carvão ativado.

6.5. Discussão geral

— Bisfenol A

Quanto ao composto bisfenol A, tanto na fase de baixa quanto na fase de alta concentração, WLC obteve as máximas taxas de retenção de concentração independente do TDH, e a maior média de retenção de concentração com menor erro-padrão em relação às demais *wetlands*. Na fase de alta concentração WLC foi estatisticamente a *wetland* mais eficiente na retenção de concentração de BPA, e na fase de baixa concentração WLC foi mais eficiente que WL1 e WL2 na retenção de concentração (p-valor < 0,05), porém não apresentou diferença significativa quando comparada a WL3.

Na análise de cargas de BPA, como no caso da análise de concentrações, todas as retenções máximas ocorreram em WLC independente de TDH e faixa de concentração. WLC também apresentou maior média de retenção e menor erro-padrão em relação às outras *wetlands*, e a análise estatística da retenção de carga de BPA na fase de alta concentração mostrou que WLC foi a *wetland* mais eficiente com nível de 5% de significância.

A menor taxa de retenção de concentração de BPA na fase de baixa concentração ocorreu em WL2, e na fase de alta concentração em WL3. A menor taxa de retenção de carga de BPA na fase de alta concentração ocorreu em WL1, e na fase de baixa concentração foi em WL2 (sem planta), independente do TDH nos dois casos. A análise estatística da retenção de carga de BPA na fase de baixa concentração mostrou que não houve diferença significativa entre as taxas de retenção de WL1 com as demais *wetlands*, no entanto WL2 foi menos eficiente que WLC e WL3. Apesar de os p-valores não terem sido significativos, a eficiência de retenção de concentração BPA das *wetlands* aumentou de forma interessante quando o TDH foi de 2 para 4 dias na fase de baixa concentração, mas na fase de alta concentração esse aumento foi insignificante.

— Etinilestradiol

Como no caso do BPA, as máximas retenções de concentração de EE2 ocorreram para WLC independente do TDH e faixa de concentração, evidenciando a eficiência desta *wetland*, que pode ser causada por maiores condições aeróbias devido ao maior índice de vazios proporcionado pelo meio suporte de carvão e brita de maior granulometria que nas demais *wetlands*. A maior média de retenção de concentração com menor erro-padrão também

foi obtida por WLC, levando em conta ambos TDH e tipo de *wetland*. Na fase de baixa concentração WLC foi estatisticamente mais eficiente na retenção de concentração que WL2, porém foi semelhante à WL1 e WL3, e na fase de alta concentração o modelo foi significativo em todos seus fatores (TDH e *wetlands*) com $R^2 = 66,2\%$ explicando os resultados obtidos, sendo a combinação de WLC com TDH de 2 dias a mais eficiente na retenção de EE2.

Na análise de cargas de EE2, WLC obteve máxima retenção em ambos TDH na fase de baixa concentração, e no TDH de 4 dias na fase de alta concentração; além disso, obteve maior média de retenção de carga com menor erro-padrão em ambos TDH e faixas de concentração. Nas fases de baixa e alta concentração WLC foi estatisticamente mais eficiente na retenção de carga que WL2, porém foi semelhante à WL1 e WL3. Na fase de alta concentração o TDH de 4 dias foi mais eficiente pelo teste de Tukey, porém não foi possível obter interações entre TDH e tipo de *wetland*.

As mínimas retenções de concentração ocorreram em WL2, independente do TDH e faixa de concentração, evidenciando a eficiência do uso de macrófita em *wetlands*. Além disso, WL2 obteve menor média de retenção de concentração e carga EE2, em ambos TDH e faixa de concentração. A retenção de cargas mínima e máxima no TDH de 2 dias na fase de alta concentração foi obtida por WL1, enquanto WL2 obteve mínima retenção de cargas em ambos TDH na fase de baixa concentração, e no TDH de 4 dias na fase de alta concentração.

— Levonorgestrel

As médias de retenção de levonorgestrel foram maiores que de BPA e EE2, além disso, pela primeira vez WLC não foi a *wetland* mais eficiente na retenção de concentração em nenhum dos casos. WL3 obteve as máximas retenções de concentração em todos TDH e faixa de concentração, e no TDH de 4 dias WL1 e WL2 também obtiveram as máximas retenções. As mínimas retenções de concentração ocorreram para WL2 na fase de baixa concentração e para WL3 na fase de alta concentração. A maior média de retenção foi 82,8 ($\pm 6,8\%$) para WL3, seguida de 82,7 ($\pm 5,0\%$) em WLC.

A análise estatística na fase de baixa concentração mostrou que o TDH de 4 dias foi o mais eficiente na retenção de concentração de LNG, e que WL2 foi a *wetland* com desempenho inferior às demais, que possuíram taxas de retenção semelhantes. Conclui-se que a interação do TDH de 4 dias com a *wetland* WLC, WL1 ou WL3 produzirão resultados de alta eficiência com $R^2 = 74,3\%$. Na fase de alta concentração o TDH de 4 dias foi o mais eficiente na retenção de concentração de LNG, independentemente do tipo de *wetland*.

Analisando as cargas de LNG observou-se que WL3 obteve máximas retenções em todas combinações de fatores, e com TDH de 4 dias (independente da faixa de concentração) WL1 e WL2 também obtiveram 100% de retenção. Na fase de baixa concentração WL2 obteve retenção mínima, e na fase de alta concentração WL3 obteve mínima retenção com TDH de 2 dias, e WL1 com TDH de 4 dias. A maior média de retenção de carga ocorreu em WL3, e a *wetland* com menor média de retenção de LNG foi WL1.

A análise de variância de cargas de LNG na fase de baixa concentração obteve um R^2 ótimo de 75,3% explicando os resultados obtidos, o TDH de 4 dias foi o mais eficiente com 5% de significância e WL2 foi a *wetland* menos eficiente; assim, a interação de TDH de 4 dias com WLC, WL1 ou WL3 produziram resultados eficientes de retenção deste composto na fase de baixa concentração. Na fase de alta concentração apenas o TDH de 4 dias mostrou ter influência sobre os resultados de retenção, com nível de 5% de significância.

— Análises cromatográficas

O método analítico desenvolvido e validado para quantificação de BPA, EE2 e LNG em amostra de esgoto sintético proveniente de *wetlands* construídas (simulando esgoto municipal após tratamento secundário) se mostrou ser eficiente, sensível e adequado, atendendo à todos os requisitos estabelecidos pelo INMETRO (2007) e SANCO (2009): especificidade e seletividade, linearidade e faixa linear de trabalho, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária) e robustez. O método analítico desenvolvido e validado para quantificação de BPA e EE2 em amostras de *Cyperus isocladius* e *Eichhornia crassipes* também foi eficiente e atendeu à todos os requisitos citados anteriormente.

— Toxicidade

Os resultados de toxicidade no esgoto sintético foram inconclusivos pois não houve um padrão de toxicidade nas amostras, apesar dos compostos do esgoto sintético serem adicionados sempre na mesma concentração; houveram amostras de entrada não tóxica, moderadamente tóxica, tóxica e muito tóxica – não houve padrão. A análise estatística mostrou com 95% de significância que o tipo de *wetland*, as variações de TDH, e de fases de concentração não influenciaram no aumento ou diminuição da toxicidade nas *wetlands*.

Não houve correlação de *Pearson* significativa à 95% de confiança (p -valor $< 0,05$), mas houve média correlação entre as concentrações de EE2 e toxicidade na fase de

baixa concentração, média correlação entre as concentrações de nitrogênio amoniacal e toxicidade na fase de alta concentração, e média correlação entre as concentrações de LNG e toxicidade em ambas faixas de concentração – o LNG foi o composto químico que pareceu ter mais influência sobre a toxicidade das amostras.

— **Macrófitas**

Apesar de WLC ter sido estatisticamente a *wetland* mais eficiente na retenção de concentração de BPA e EE2, as concentrações destes foram maiores em WL1 e WL3 do que em WLC, indicando que a eficiência de retenção destes interferentes endócrinos se deu por outras maneiras e não por absorção nas macrófitas. A maior concentração de BPA foi encontrada em WL1, seguido de WLC e WL3; a maior concentração de EE2 foi encontrada em WL3, seguido de WL1 e WLC.

A contagem total de bactérias na raiz da macrófita de WLC gerou um valor de $1,2 \times 10^8$ UFC por grama de planta, com 14 diferentes tipos de colônias de bactérias, e em WL1 foi $1,0 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ e 10 diferentes tipos de colônias isoladas. A contagem e isolamento de colônias de fungos também foi maior em WLC com $3,4 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ e 6 tipos diferentes de colônias isoladas, do que em WL1 com $1,5 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ e 4 tipos de colônias de fungos isoladas. Observou-se que WLC apresentou maior quantidade e diversidade tanto de colônias de bactérias quanto de colônias de fungos, o que possivelmente ocasionou as maiores taxas de retenção de BPA e EE2 nesta *wetland*. Pode ter ocorrido degradação de BPA e EE2 por alguns destes micro-organismos, tendo em vista que não foi por absorção na planta.

— **Meio suporte**

No meio suporte WLC não obteve maior quantidade de micro-organismos como nas raízes das macrófitas, com $2,5 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ e 10 tipos de colônias de bactérias. A brita da *wetland* WL1 foi a que apresentou maior quantidade de bactérias, enquanto WL3 e WLC obtiveram maior diversidade, com 10 tipos de colônias diferentes. Sendo assim, apesar de WLC ter obtido a menor quantidade de micro-organismos, este meio suporte obteve novamente maior diversidade de colônias – da mesma maneira que o ensaio nas raízes das macrófitas. Já no caso dos fungos a diversidade em WLC não foi muita (6 diferentes tipos de colônias), igualmente na análise da raiz do mini-papiro de WLC. Em questão de quantidade de fungos, WLC foi o segundo maior com apenas $0,5$ UFC.g⁻¹ de diferença de WL2 que

obteve $1,6 \times 10^4 \text{ UFC.g}^{-1}$.

Com os resultados da área de superfície (S_{BET}) e largura média dos poros (L_0), concluiu-se que o carvão de bambu do meio suporte de WLC (sem ativação) não possuía porosidade, e por isso não poderia haver adsorção física de EE2 e BPA neste carvão. Foram realizados testes de adsorção com EE2 e BPA neste carvão com o intuito de verificar se poderia haver algum tipo de interação química entre eles, mas as concentrações finais dos compostos em solução após quatro dias de agitação com o carvão foram praticamente iguais às iniciais. Portanto, não houve nenhum tipo de adsorção de EE2 e BPA no carvão de bambu sem ativação, o que indica que as melhores retenções destes compostos em WLC não ocorreram por adsorção no meio suporte.

7. CONCLUSÕES

Com os dados apresentados neste trabalho foi possível concluir que:

- Os métodos analíticos que foram desenvolvidos e validados para quantificação de BPA, EE2 e LNG em amostra de esgoto sintético proveniente de *wetlands*, e para quantificação de BPA e EE2 em amostras de *Cyperus isocladius* e *Eichhornia crassipes* foram eficientes e atenderam aos requisitos estabelecidos nos guias de validação;
- A hipótese da pesquisa foi comprovada, uma vez que as *wetlands* estudadas foram capazes de reter os interferentes endócrinos bisfenol A, etinilestradiol e levonorgestrel nas concentrações avaliadas em maiores ou menores taxas;
- A *wetland* que apresentou maior eficiência na retenção dos interferentes endócrinos foi a *wetland* WLC, cultivada com mini-papiro e contendo carvão de bambu como meio suporte. O melhor desempenho desta *wetland* pode ser justificado pelas seguintes constatações:
 - WLC foi mais eficiente na retenção de BPA na fase de alta concentração (concentração e carga), BPA na fase de baixa concentração (concentração e carga), EE2 na fase de baixa concentração (concentração), EE2 nas fases de baixa e alta concentração (carga), e de EE2 na fase de alta concentração (concentração);
 - Com os resultados dos ensaios físico-químicos realizados no carvão de bambu do meio suporte de WLC concluiu-se que este não possuía porosidade necessária para que ocorresse adsorção química de BPA e EE2, e após os ensaios de adsorção realizados, observou-se também que não ocorreu adsorção química. Portanto, não houve nenhum tipo de adsorção de EE2 e BPA no carvão de bambu sem ativação, o que indica que as melhores retenções destes compostos em WLC não ocorreram por adsorção neste meio suporte;
 - Apesar de WLC ter sido estatisticamente a *wetland* mais eficiente na retenção de concentração de BPA e EE2 no esgoto sintético, as concentrações destes nas macrófitas foram maiores em WL1 e WL3 do que em WLC, indicando que a eficiência de retenção destes interferentes endócrinos se deu por outras maneiras e não por absorção nas macrófitas;
 - A *wetland* WLC apresentou maior quantidade e diversidade tanto de colônias de bactérias quanto de colônias de fungos, o que possivelmente ocasionou as maiores taxas de retenção de BPA e EE2 nesta *wetland*. Pode ter ocorrido degradação de BPA e EE2

por alguns destes micro-organismos, tendo em vista que não houve absorção na macrófita e nem adsorção no meio suporte;

- No meio suporte WLC não obteve maior quantidade de micro-organismos como nas raízes das macrófitas, mas obteve maior diversidade de bactérias juntamente com WL3, e a segunda maior quantidade de fungos, depois de WL2;
- A utilização de macrófita aumenta a eficiência de retenção de interferentes endócrinos, tendo em vista que a *wetland* WL2 (sem macrófita) foi a menos eficiente na retenção de todos interferentes endócrinos estudados;
- O TDH de 2 dias foi estatisticamente mais eficiente na retenção de concentração de EE2 na fase de alta concentração (p-valor < 0,05), mas para os demais parâmetros não apresentou diferença significativa;
- O TDH de 4 dias foi estatisticamente mais eficiente na retenção de carga de EE2 na fase de alta concentração, e de concentração e carga de LNG em ambas faixas de concentração;
- O tipo de *wetland*, as variações de TDH, e de fases de concentração não influenciaram no aumento ou diminuição da toxicidade nas *wetlands*, além disso, não houve correlação significativa entre as concentrações de BPA, EE2 e LNG presentes na água residuária com a toxicidade das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEPHC-NHMRC–NRMMC (2008). Natural Resources Management Ministerial Council, Environment Protection and Heritage Council, National Health and Medical Research Council. **Australian guidelines for water recycling: Managing health and environmental risks (Phase 2)**. Augmentation of drinking water supplies. National Water Quality Management Strategy, 2008.

ALVAREZ, D. A.; SHAPPELL, N. W.; BILLEY, L. O.; BERMUDEZ, J. L.; WILSON, V. S.; KOLPIN, D. W.; PERKINS, S. D.; EVANS, N.; FOREMAN, W. T.; GRAY, J. L.; SHIPITALO, M. J.; MEYER, M. T. Bioassay of estrogenicity and chemical analyses of estrogens in streams across the United States associated with livestock operations. **Water Research**. v. 47, p. 3347 – 3363, 2013.

ÁLVAREZ-MERINO, M. A.; FONTECHA-CÁMARA, M. A.; LÓPEZ-RAMÓN, M. V.; MORENO-CASTILLA, C. Temperature dependence of the point of zero charge of oxidized and non-oxidized activated carbons. **Carbon**. v. 46, p. 778 – 787, 2008.

ANDERSON, J. C.; JOUDAN, S.; SHOICHET, E.; CUSCITO, L. D.; ALIPIO, A. E. C.; DONALDSON, C. S.; KHAN, S.; GOLTZ, D. M.; RUDY, M. D.; FRANK, R. A.; KNAPP, C. W.; HANSON, M. L.; WONG, C. S. Reducing nutrients, organic micropollutants, antibiotic resistance, and toxicity in rural wastewater effluent with subsurface filtration treatment technology. **Ecological Engineering**. v. 84, p. 375 – 385, 2015.

ANDRÁSI, N.; MÓLNAR, B.; DOBOS, B.; VASANITS-ZSIGRAI, A.; ZÁRAY, G.; MOLNÁR-PERL, I. Determination of steroids in the dissolved and in the suspended phases of wastewater and Danube River samples by gas chromatography, tandem mass spectrometry. **Talanta**. v. 115, p. 367 – 373, 2013.

AOAC Official Method 990.03 Protein (crude) in animal feed combustion method. **In: Horwitz, W. (Ed.), Official Methods of Analysis AOAC International**. , 17th edn. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, pp. 26–27, 2002.

APHA. American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environmental Federation; Eaton, A. D.; *et al.* **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21^a ed. Washington: APHA/AWWA/WEF, 2005.

ARAÚJO, J. C.. **Estudo da eficiência do tratamento de efluentes domésticos da cidade de Araraquara-SP na remoção de hormônios sexuais**. 83p. Dissertação (Mestre em Ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo. São Carlos. 2006.

ARBOLEDA, C.; CABANA, H.; DE PRIL, E.; JONES, J. P.; JIMÉNEZ, G. A.; MEJÍA, A. I.; AGATHOS, S. N.; PENNINCKX, M. J. Elimination of Bisphenol A and Triclosan Using the Enzymatic System of Autochthonous Colombian Forest Fungi. **ISRN Biotechnology**. v. 2013, 12p, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 7217:1987.
Agregados - Determinação da composição granulométrica - Método de ensaio - 3p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 15469:2007.
Ecotoxicologia aquática – Preservação e preparo de amostras – 7p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 15411-3:2012.
Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de bioluminescência de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente). Parte 3: método utilizando bactérias liofilizadas – 23p.

ASTM D 3174-73. **Ash in the Analysis Sample of Coal and Coke.** Annual Book of ASTM Standards. v. 05.50, Philadelphia, American Society for Testing and Materials.

ATKINSON, S. K.; MARLATT, V. L.; KIMPE, L. E.; LEAN, D. R. S.; TRUDEAU, V. L.; BLAIS, J. M. The occurrence of steroidal estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**. n. 430, p. 119 – 125, may. 2012.

ÁVILA, C.; BAYONA, J. M.; MARTÍN, I.; SALAS, J. J.; GARCÍA, J. Emerging organic contaminant removal in a full-scale hybrid constructed wetland system for wastewater treatment and reuse. **Ecological Engineering**. v. 80, p. 108 – 116, 2015.

ÁVILA, C.; MATAMOROS, V.; REYES-CONTRERAS, C.; PIÑA, B.; CASADO, M.; MITA, L.; RIVETTI, C.; BARATA, C.; GARCÍA, J.; BAYONA, J. M. Attenuation of emerging organic contaminants in a hybrid constructed wetland system under different hydraulic loading rates and their associated toxicological effects in wastewater. **Science of the Total Environment**. n. 470 – 471, p. 1272 – 1280, 2014a.

ÁVILA, C.; NIVALA, J.; OLSSON, L.; KASSA, K.; HEADLEY, T.; MUELLER, R. A.; BAYONA, J. M.; GARCÍA, J. Emerging organic contaminants in vertical subsurface flow constructed wetlands: Influence of media size, loading frequency and use of active aeration. **Science of the Total Environment**. n. 494 – 495, p. 211 – 217, 2014b.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2.^a ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BARBOSA, C. D.; SANTANA, S. A. A.; BEZERRA, C. W. B.; SILVA, H. A. S. Remoção de compostos fenólicos de soluções aquosas utilizando carvão ativado preparado a partir do aguapé (*Eichhornia crassipes*): estudo cinético e de equilíbrio termodinâmico. **Química Nova**. v. 37, n. 3, p. 447 – 453, 2014.

BERNADELLI, J. K. B. **Biodegradação de estrona, 17b-estradiol e 17a-etinilestradiol em sistemas aeróbios de tratamento**. 197p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2014.

BOARETTO, A. E.; VAN RAIJ, B.; SILVA, F. C.; CHITOLINA, J. C.; TEDESCO, M. J.; CARMO, C. A. F. S. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2.^a ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. **Diário da União**, Brasília, maio/2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE n.º 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, junho de 2003.

BRIX, H. Functions of macrophytes in constructed wetlands. **Water Science and Technology**. v. 29, n. 4, p. 71 – 78, 1994.

BROTA, G.; A. **Ensaio ecotoxicológico em organismos-teste *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* na avaliação de efluentes sanitários aplicados na cultura de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*)**. 2012, 73f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Engenharia Agrícola. Universidade estadual de Campinas, Campinas.

BRUCH, I.; FRITSCH, J.; BÄNNINGER, D.; ALEWELL, U.; SENDELOV, M.; HÜRLIMANN, H.; HASSELBACH, R.; ALEWELL, C. Improving the treatment efficiency of constructed wetlands with zeolite-containing filter sands. **Bioresource Technology**. v. 102, p. 937 – 941, 2011.

BULICH, A.A. **A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic**. Process Biochemistry. p. 45-47.1992.

BUSTAMANTE, M. A. O.; MIER, M. V.; ESTRADA, J. A. E.; DOMÍGUEZ, C. D. Nitrogen and potassium variation on contaminant removal for a vertical subsurface flow lab scale constructed wetland. **Bioresource Technology**. v. 102, p. 7745 – 7754, 2011.

CAI, K.; ELLIOT, C. T.; PHILLIPS, D. H.; SCIPPO, M. L.; MULLER, M.; CONOLLY, L. Treatment of estrogens and androgens in dairy wastewater by a constructed wetland system. **Water Research**. n. 46, p. 2333-2343, 2012.

CALDERÓN-PRECIADO, D.; JIMÉNEZ-CARTAGENA, C.; PEÑUELA, G.; BAYONA, J. M. Development of an analytical procedure for the determination of emerging and priority organic pollutants in leafy vegetables by pressurized solvent extraction followed by GC-MS determination. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v. 394, p. 1319 – 1327, 2009.

CALHEIROS, C. S. C.; DUQUE, A. F.; MOURA, A.; HENRIQUES, I. S.; CORREIA, A.; RANGEL, A. O. S. S.; CASTRO, P. M. L. Substrate effect on bacterial communities from constructed wetlands planted with *Typha latifolia* treating industrial wastewater. **Ecological Engineering**. v. 35, p. 744 – 753, 2009a.

CALHEIROS, C. S. C.; DUQUE, A. F.; MOURA, A.; HENRIQUES, I. S.; CORREIA, A.; RANGEL, A. O. S. S.; CASTRO, P. M. L. Changes in the bacterial community structure in two-stage constructed wetlands with different plants for industrial wastewater treatment. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 3228 – 3235, 2009.

CAMPOS, J. M. **Eficiência de sistemas de leitos cultivados com *Eichhornia crassipes* na retenção de poluentes convencionais e o emergente 17- α -etinilestradiol**. 257p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2014.

CAMPOS, J. M.; QUEIROZ, S. C. N.; ROSTON, D. M. Validação de método analítico para quantificação de interferentes endócrinos em águas residuárias após tratamento secundário. In: **29º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 2017.

CARRANZA-DIAZ, O.; SCHULTZE-NOBRE, L.; MOEDER, M.; NIVALA, J.; KUSCHK, P.; KOESER, H. Removal of selected organic micropollutants in planted and unplanted pilot-scale horizontal flow constructed wetlands under conditions of high organic load. **Ecological Engineering**. v. 71, p. 234 – 245, 2014.

CASELLES-OSORIO, A.; GARCÍA, J. Performance of experimental horizontal subsurface flow constructed wetlands fed with dissolved or particulate organic matter. **Water Research**. v. 40, p. 3603 – 3611, 2006.

CASTELLANI, A. The “Water Cultivation” of Pathogenic Fungi. **Annales Des Societes Belges De Medecine Tropicale, De Parasitologie, Et De Mycologie**. v. 44, n. 2, p. 217 – 220, 1964.

CHAMBEL, J. H. M. **Contribuição para o estudo da remoção em ETAR de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol no tratamento biológico**. 105p. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. Lisboa. 2011.

CHANG, Y.; WU, S.; ZHANG, T.; MAZUR, M.; PANG, C.; DONG, R. Dynamics of nitrogen transformation depending on different operational strategies in laboratory-scale tidal flow constructed wetlands. **Science of the Total Environment**. v. 487, p. 49 – 56, 2014.

CHEN, T-C.; YEH, K-J. C.; KUO, W-C.; CHAO, H-R.; SHEU, S-C. Estrogen degradation and sorption onto colloids in a constructed wetland with different hydraulic retention times. **Journal of Hazardous Materials**. n. 277, p. 62 – 68, 2014.

CHEN, T. S.; CHEN, T. C.; YEH, K. J. C.; CHAO, H. R.; LIAW, E. T.; HSIEH, C. Y.; CHEN, K. C.; HSIEH, L. T.; YEH, Y. L. High estrogen concentrations in receiving river discharge from a concentrated livestock feedlot . **Science of the Total Environment**. v. 408, p. 3223 – 3230, 2010.

COMISSÃO EUROPÉIA. **Community strategy for endocrine disrupter – a range of substances suspected of interfering with hormone systems of humans and wildlife**. Communication from the Commission to the Council and the European Parliament – COM, 1999.

COMISSÃO EUROPÉIA. **European Union Risk Assessment Report 4,4'-ISOPROPYLIDENEDIPHENOL (BISPHENOL-A)**. Risk assessment. Final Report. United Kingdom, 2003.

DAI, Y.-N.; TAO, R.; TAI, Y.-P.; TAM, N. F.-Y.; DAN, A.; YANG, Y. Application of a full-scale newly developed stacked constructed wetland and an assembled bio-filter for reducing phenolic endocrine disrupting chemicals from secondary effluent. **Ecological Engineering**. v. 99, p. 496 – 503, 2017

DIAS, R. V. A. **Avaliação da ocorrência de microcontaminantes emergentes em sistemas de abastecimento de água e da atividade estrogênica do etinilestradiol**. 177p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2014.

DINIZ, M. S.; MAURÍCIO, R.; PETROVIC, M.; DE ALDA, M. J. L.; AMARAL, L.; PERES, I.; BARCELÓ, D.; SANTANA, F. Assessing the estrogenic potency in a Portuguese wastewater treatment plant using an integrated approach. **Journal of Environmental Sciences**. v. 22, n. 10, p. 1613 – 1622, 2010.

ELSAYED, O. F.; MAILLARD, E.; VUILLEUMIER, S.; IMFELD, G. Bacterial communities in batch and continuous-flow wetlands treating the herbicide S-metolachlor. **Science of Total Environment**. v. 499, p. 327 – 335, 2014.

EFSA. **Opinion of the scientific panel on food additives , flavourings , processing aids and materials in contact with food on a request from the Commission related to 2,2-bi(s4-hydroxyphenyl)propane (Bisphenol A)**. European Food Safety Authority. p. 1–75, 2006.

EUROPEAN UNION RISK ASSESSMENT REPORT. **4,4'-isopropylidenediphenol (bisphenol-A)**. European Commission Joint Research Centre. 2003.

FDA. **FDA continuous to study BPA**. Consumer health information. United States Food and Drug Administration, U. S. FDA, USA. 2012.

FERNANDES, R.; JUNIOR, R. B. 17 β - Ethinylestradiol Removal from Supplying Water, using diferente Physicist-chemistry Treatment Technologies. **Revista DAE**. p. 20 – 27, Campinas, setembro, 2011.

FONTECHA-CÁMARA, M. A. **Purificación de aguas contaminadas con herbicidas usados en el olivar (diurón y aminotriazol) mediante adsorción sobre nuevos materiales de carbón activado**. 209f. Tese (Doutorado em Química) – Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén, Jaén, Espanha. 2006.

FROEHNER, S.; PICCIONI, W.; MACHADO, K. S.; AISSE, M. M. Removal Capacity of Caffeine, Hormones, and Bisphenol by Aerobic and Anaerobic Sewage Treatment. **Water Air Soil Pollut**. v. 216, p. 463 – 471, 2011.

GADD, J. B.; NORTHCOTT, G. L.; TREMBLAY, L. A. Passive Secondary Biological Treatment Systems Reduce Estrogens in Dairy Shed Effluent. **Environment Science Technology**. v. 44, p. 7601 – 7606, ago. 2010.

GAGNON, V.; CHAZARENC, F.; COMEAU, Y.; BRISSON, J. Influence of macrophyte species on microbial density and activity in constructed wetlands. **Water Science & Technology**. v. 56, p. 249 – 254, 2007.

GIBSON, R.; SMITH, M. D.; SPARY, C. J.; TYLER, C. R.; HILL, E. M. Mixtures of estrogenic contaminants in bile of fish exposed to wastewater treatment works effluents. **Environmental Science Technology**. v. 39, n. 8, p. 2461–2471. 2005.

GIZ - Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit GmbH. **Technology review of constructed wetlands: Subsurface flow constructed wetlands for greywater and domestic wastewater treatment.** Sustainable sanitation – ecosan program. 36p. Eschborn, 2011.

GRAFIAS, P.; XEKOUKOULOTAKIS, N. P.; MANTZAVINOS, D.; DIAMADOPOULOS, E. Pilot treatment of olive pomace leachate by vertical-flow constructed wetland and electrochemical oxidation: An efficient hybrid process. **Water Research.** v. 44, p. 2773 – 2780, 2010.

GRAY, J. L.; SEDLAK, D. L. The fate of Estrogenic Hormones in an Engineered Treatment Wetland with Dense Macrophytes. **Water Environment Research.** v. 77, n. 01, p. 24-31, jan/fev, 2005.

GROVER, D. P.; ZHANG, Z. L.; READMAN, J. W.; ZHOU, J. L. A comparison of three analytical techniques for the measurement of steroidal estrogens in environmental water samples. **Talanta.** v. 78, p. 1204 – 1210, 2009.

GROVER, D. P.; ZHOU, J. L.; FRICKERS, P. E.; READMAN, J. W. Improved removal of estrogenic and pharmaceutical compounds in sewage effluent by full scale granular activated carbon: Impact on receiving river water. **Journal of Hazardous Materials.** v. 185, p. 1005 – 1011, 2011a.

GROVER, D. P.; BALAAM, J.; PACITTO, S.; READMAN, J. W.; WHITE, S.; ZHOU, J. L. Endocrine disrupting activities in sewage effluent and river water determined by chemical analysis and in vitro assay in the context of granular activated carbon upgrade. **Chemosphere.** v. 84, p. 1512 – 1520, 2011b.

GUIMARÃES, T. S. **Detecção e quantificação dos hormônios sexuais 17 β -estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) e 17 α -etinilestradiol (EE2) em água de abastecimento: estudo de caso da cidade de São Carlos, com vistas ao saneamento ambiental.** 81f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

HE, G.; YI, F.; ZHOU, S.; LIN, J. Microbial activity and community structure in two terrace-type wetlands constructed for the treatment of domestic wastewater. **Ecological Engineering.** v. 67, p. 198 – 205, 2014.

HE, Y.; NURUL, S.; SCHMITT, H.; SUTTON, N. B.; MURK, T. A. J.; BLOKLAND, M. H.; RIJNAARTS, H. H. M.; LANGENHOFF, A. A. M. Evaluation of attenuation of pharmaceuticals, toxic potency, and antibiotic resistance genes in constructed wetlands treating wastewater effluents. **Science of the Total Environment.** v. 631–632, p. 1572–1581, 2018a.

HE, Y.; SUTTON, N. B.; RIJNAARTS, H. H. M.; LANGENHOFF, A. A. M. Pharmaceutical biodegradation under three anaerobic redox conditions evaluated by chemical and toxicological analyses. **Science of the Total Environment**. v. 618, p. 658 – 664, 2018b.

HERRERA-MELIÁN, J. A.; GUEDES-ALONSO, R.; BORREGUERO-FABELO, A.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J.; SOSA-FERRERA, Z. Study on the removal of hormones from domestic wastewaters with lab-scale constructed wetlands with different substrates and flow directions. **Environmental Science and Pollution Research**. 2017.

HIJOSA-VALSERO, M.; MATAMOROS, V.; SIDRACH-CARDONA, R.; MARTÍN-VILLACORTA, J.; BÉCARES, E.; BAYONA, J. M. Comprehensive assessment of the design configuration of constructed wetlands for the removal of pharmaceuticals and personal care products from urban wastewaters. **Water Research**. v. 44, p. 3669 – 3678, abr., 2010.

HIJOSA-VALSERO, M.; REYES-CONTRERAS, C.; DOMÍNGUEZ, C. Behaviour of pharmaceuticals and personal care products in constructed wetland compartments : Influent, effluent, pore water, substrate and plant roots. **Chemosphere**. v. 145, p. 2–6, 2016.

HINTEMANN, T.; SCHNEIDER, C.; SCHÖLER, H. F.; SCHNEIDER, R. J. Field study using two immunoassays for the determination of estradiol and ethinylestradiol in the aquatic environment. **Water Research**. n. 40, p. 2287-2294, abr., 2006.

HIRANO, T.; HONDA, Y.; WATANABE, T.; KUWAHARA, M. Degradation of Bisphenol A by the Lignin-Degrading Enzyme, Manganese Peroxidase, Produced by the *White-rot Basidiomycete, Pleurotus ostreatus*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. v. 64, n. 9, 1958 – 1962, 2000.

HIRUNPRADITKOON, S.; TUNTHONG, N.; RUANGCHAI, A.; NUTHITIKUL, K. Adsorption Capacities of Activated Carbons Prepared from Bamboo by KOH Activation. **World Academy of Science, Engineering and Technology**. v. 5, p. 591 – 595, 2011.

HODGSON, Ernest. **A textbook of modern toxicology**. 3.^a ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 2004.

HOM-DIAZ, A.; LLORCA, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; VICENT, T.; BARCELÓ, D.; BLÁNQUEZ, P. Microalgae cultivation on wastewater digestate: b-estradiol and 17a-ethinylestradiol degradation and transformation products identification. **Journal of Environmental Management**, v. 155, p. 106 - 113, 2015.

HUANG, P. H.; WEN, J. T. Study on Thorny Bamboo Activated Carbon for Capturing Heavy Metals in Groundwater. **Applied Mechanics and Materials**. v. 535, p. 427 – 431, 2014.

HURTADO, C.; DOMÍNGUEZ, C.; PÉREZ-BABACE, L.; CAÑAMERAS, N.; COMAS, J.; BAYONA, J. M. Estimate of uptake and translocation of emerging organic contaminants from irrigation water concentration in lettuce grown under controlled conditions. **Journal of Hazardous Materials**. v. 305, p. 139 – 148, 2016.

IJAOLA, O.O; OGEDENGBE, K; SANGODOYIN, A.Y. On The Efficacy of Activated Carbon Derived From Bamboo in the Adsorption of Water Contaminants. **International Journal of Engineering Inventions**. v. 2, n. 4, p. 22 – 34, 2013.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008. Revisão 2 – junho, 2007.

IOMC - INTER-ORGANIZATION PROGRAMME FOR THE SOUND MANAGEMENT OF CHEMICALS. **State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012: Summary for Decision-Makers**. United Nations Environment Programme and the World Health Organization. Switzerland, 2012.

ITRC - INTERSTATE TECHNOLOGY & REGULATORY COUNCIL. **Technical and Regulatory Guidance Document for Constructed Treatment Wetlands**. Washington, D. C., U.S.A. 128p. 2003.

JARDIM, W. F.; MONTAGNER, C. C.; PESCARA, I. C.; UMBUZEIRO, G. A.; BERGAMASCO, A. M. D. D.; ELDRIDGE, M. L.; SODRÉ, F. F. An integrated approach to evaluate emerging contaminants in drinking water. **Separation and Purification Technology**. v. 84, p. 3 – 8, 2012.

JARDIM, W. F.; GHISELLI, G. Interferentes Endócrinos no Ambiente. **Química nova**. v. 30, n. 03, p. 695-706, fev., 2007.

JOHNSON, A. C.; WILLIAMS, R. J., MATTHIESSEN, P. The potential steroid hormone contribution of farm animals to freshwaters, the United Kingdom as a case study. **Science of the Total Environment**. n. 362, p. 166 - 178, 2006.

JU, X.; WU, S.; HUANG, X.; ZHANG, Y.; DONG, R. How the novel integration of electrolysis in tidal flow constructed wetlands intensifies nutrient removal and odor control. **Bioresource Technology**. v. 169, p. 605 – 613, 2014.

JUGAN, M. L.; OZIOL, L.; BIMBOT, M.; HUTEAU, V.; TAMISIER-KAROLAK, S.; BLONDEAU, J. P.; LÉVI, Y. In vitro assessment of thyroid and estrogenic endocrine disruptors in wastewater treatment plants, rivers and drinking water supplies in the greater

Paris area (France). **Science of the Total Environment**. v. 407, p. 3579 – 3587, 2009.

KARNJANAPIBOONWONG, A.; CHASE, D. A.; CAÑAS, J. E.; JACKSON, W. A.; MAUL, J. D.; MORSE, A. N.; ANDERSON, T. A. Uptake of 17 α -ethynylestradiol and triclosan in pinto bean, *Phaseolus vulgaris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 74, p. 1336 – 1342, 2011.

KHANDAKER, S.; TOYOHARA, Y.; KAMIDA, S.; KUBA, T. Adsorptive removal of cesium from aqueous solution using oxidized bamboo charcoal. **Water Resources and Industry**. v. 19, p. 35 – 46, 2018.

KANG, J-H.; KATAYAMA, Y.; KONDO, F. Biodegradation or metabolism of bisphenol A: from microorganisms to mammal. **Toxicology**. v. 217, 81 – 90, 2006.

KIM, S. D.; CHO, J.; KIM, I. S.; VANDERFORD, B. J.; SNYDER, S. A. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. **Water Research**. v. 41, p. 1013 – 1021, 2007.

KIM, Y.; YEO, S.; SONG, H-G.; CHOI, H. T. Enhanced Expression of Laccase during the Degradation of Endocrine Disrupting Chemicals in *Trametes Versicolor*. **The Journal of Microbiology**. v. 46, n. 4, p. 402 – 407, 2008.

KIM, B. C.; KIM, Y. H.; YAMAMOTO, T. Adsorption characteristics of bamboo activated carbon. **Korean Journal of Chemical Engineering**. v. 25, p. 1140 – 1144, 2008.

KING, O. C.; VAN DE MERWE, J. P.; McDONALD, J. A.; LEUSCH, F. D. L. Concentrations of levonorgestrel and ethinylestradiol in wastewater effluents: Is the progestin also cause for concern? **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 35, p. 1378 – 1385, 2016.

KOOKANA, R.; WILLIAMS, M.; WALLER, N. **Endocrine-disrupting chemicals in the Australian environment: Background and current research in Australia**. Land & Water Australia, Canberra, 2007.

KUMAR, A. K.; CHIRANJEEVI, P.; MOHANAKRISHNA, G.; MOHAN, S. V. Natural attenuation of endocrine-disrupting estrogens in an ecologically engineered treatment system (EETS) designed with floating, submerged and emergent macrophytes. **Ecological Engineering**. v. 37, p. 1555 – 1562, jul. 2011.

KYAMBADDE, J.; KANSIIME, F.; GUMAELIUS, L.; DALHAMMAR, G. A comparative study of *Cyperus papyrus* and *Miscanthidium violaceum*-based constructed wetlands for wastewater treatment in a tropical climate. **Water Research**. v. 38, p. 475 – 485, 2004.

LANGE, I.G.; DAXENBERER, A.; SCHIFFER, B.; WITTERS, H.; IBARRETA, D.; MEYER, H.H.D. Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment. **Analytical Chemical Acta**. n. 473, p. 27 - 37, 2002.

LARCHER, S.; DELBÈS, G.; ROBAIRE, B.; YARGEAU, V. Degradation of 17 α -ethinyloestradiol by ozonation — Identification of the by-products and assessment of their estrogenicity and toxicity. **Environment International**. n. 39, p. 66 – 72, 2012.

LARSSON, D. G. J.; ADOLFSSON-ERICI, M.; PARKKONEN, J.; PETTERSON, M.; BERG, A. H.; OLSSON, P. E., FORLIN, L. Ethinyloestradiol - an undesired fish contraceptive? **Aquatic Toxicology**. v. 45, n. 2, p. 91–97. 1999.

LEET, J. K.; SASSMAN, S.; AMBERG, J. J.; OLMSTEAD, A. W.; LEE, L. S.; ANKLEY, G. T.; SEPÚLVEDA, M. S. Environmental hormones and their impacts on sex differentiation in fathead minnows. **Aquatic Toxicology**. n. 158, p. 98 – 107, 2015.

LI, G.; ZHAI, J.; HE, Q.; ZHI, Y.; XIAO, H.; RONG, J. Phytoremediation of levonorgestrel in aquatic environment by hydrophytes. **Journal of Environmental Sciences**. v. 26, 1869 – 1873, 2014.

LIN, H. C.; LIU, L-T.; FUJIMOTO, N. Source Water Purification of Bamboo Activated Carbon Prepared from Bamboo Charcoal by Using the Multi-layer Filtration Method. **Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University**. v. 62, n. 2, p. 459 – 467, 2017.

LIN, H. C.; WENG, Y. C.; HWANG, G. S.; FUJIMOTO, N. Adsorption and preliminary safety evaluation of activated carbons refined from charcoals. **Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University**. v. 59, p. 117 – 125, 2014.

LIU, M.; WU, S.; CHEN, L.; DONG, R. How substrate influences nitrogen transformations in tidal flow constructed wetlands treating high ammonium wastewater? **Ecological Engineering**. v. 73, p. 478 – 486, 2014.

LÓPEZ-RAMÓN, M. V.; STOECKLI, F.; MORENO-CASTILLA, C.; CARRASCO-MARIN, F. On the characterization of acid and basic surface sites on carbons by various techniques. **Carbon**. v. 37, p. 1215 – 1221, 1999.

LUNDSTRÖM, E.; ADOLFSSON-ERICI, M.; ALSBERG, T.; BJÖRLENIUS, B.; EKLUND, B.; LAVÉN, M.; BREITHOLTZ, M. Characterization of additional sewage treatment technologies: Ecotoxicological effects and levels of selected pharmaceuticals, hormones and endocrine disruptors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. n. 73, p. 1612 – 1619, 2010.

LUO, Y.; GUO, W.; NGO, H.H.; NGHIEM, L.D.; HAI, F.I.; ZHANG, J.; LIANG, S.; WANG, X.C. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**. v. 473 – 474, p. 619 – 641, 2014.

LV, T.; WU, S.; HONG, H.; CHEN, L.; DONG, R. Dynamics of nitrobenzene degradation and interactions with nitrogen transformations in laboratory-scale constructed wetlands. **Bioresource Technology**. v. 133, p. 529 – 536, 2013.

LV, T.; ZHANG, Y.; CARVALHO, P. N.; ZHANG, L.; BUTTON, M.; ARIAS, C. A.; WEBER, K. P.; BRIX, H. Microbial community metabolic function in constructed wetland mesocosms treating the pesticides imazalil and tebuconazole. **Ecological Engineering**. v. 98, 378 – 387, 2017.

LYU, T. **Removal of emerging organic pollutants in constructed wetlands: imazalil and tebuconazole as model pesticides**. 156f. PhD in Aquatic Biology. Department of Bioscience, Aarhus University, Aarhus, Denmark. 2016.

MARTÍN, C. A. **Effect of design and operational factors on the removal efficiency of emerging organic contaminants in constructed wetlands for wastewater treatment**. 262f. Thesis (PhD in Environmental Engineering) – Institute of Environmental Assessment and Water Research, Universitat Politècnica de Catalunya – Barcelona Tech. Barcelona, 2013.

MARTÍN-GONZÁLEZ, M. A.; GONZÁLEZ-DÍAZ, O.; SUSIAL, P.; ARAÑA, J.; HERRERA-MELIÁN, J. A.; DOÑA-RODRÍGUEZ, J. M.; PÉREZ-PEÑA, J. Reuse of *Phoenix canariensis* palm frond mulch as biosorbent and as precursor of activated carbons for the adsorption of Imazalil in aqueous phase. **Chemical Engineering Journal**. v. 245, p. 348 – 358, 2014.

MATAMOROS, V.; CASELLES-OSORIO, A.; GARCÍA, J.; BAYONA, J. M. Behaviour of pharmaceutical products and biodegradation intermediates in horizontal subsurface flow constructed wetland. A microcosm experiment. **Science of the total environment**. v. 394, p. 171 – 176, 2008.

MENDONÇA, E.; PICADO, A.; CUNHA, M. A.; CATARINO, J. Environmental Management of Wastewater Treatment Plants – the Added Value of the Ecotoxicological

Approach. **Environmental Management in Practice**. Dr. Elzbieta Broniewicz (Ed.), ISBN: 978-953-307-358-3, InTech, Disponível em:

<http://www.intechopen.com/books/environmental-management-in-practice/environmental-management-ofwastewater-treatment-plants-the-added-value-of-the-ecotoxicological-appr.>, 2011.

MENDONÇA, E.; PICADO, A.; PAIXÃO, S. M.; SILVA, L.; BARBOSA, M.; CUNHA, M. A. Ecotoxicological evaluation of wastewater in a municipal WWTP in Lisbon area (Portugal). **Desalination and Water Treatment**. n. 51, p. 4162 – 4170, 2013.

MENDONÇA, E.; PICADO, A.; PAIXÃO, S. M.; SILVA, L.; CUNHA, M. A.; LEITÃO, S.; MOURA, I.; CORTEZ, C.; BRITO, F. Ecotoxicity tests in the environmental analysis of wastewater treatment plants: Case study in Portugal. **Journal of Hazardous Materials**. n. 163, p. 665 – 670, 2009.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. 3.^a ed. McGraw-Hill Series in Water Resources and Environmental Engineering. 1991.

MIGEOT, V.; DUPUIS, A.; CARIOT, A., ALBOUY-LLATY, M.; PIERRE, F.; RABOUAN, S. Bisphenol A and its chlorinated derivatives in human colostrum. **Environmental Science & Technology**. v. 47, p. 13791 – 13797, 2013.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal Brazilian chemistry society**. v. 22, n.8, p. 1452 – 1462, 2011.

MONTEIRO, A. B.; DINIZ, J. A. O.; CORREIA FILHO, F. L. Regressão e validação do modelo de correlação entre CE e STD: uma contribuição ao estudo do aquífero cabeças. Sudeste da bacia sedimentar do Parnaíba – PI. **Revista Águas Subterrâneas**. Suplemento - Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. 2014.

MORENO-CASTILLA, C.; LÓPEZ-RAMÓN, M. V.; CARRASCO-MARÍN, F. Changes in surface chemistry of activated carbons by wet oxidation. **Carbon**. v. 38, p. 1995 – 2001, 2000.

MORENO-CASTILLA, C.; CARRASCO-MARÍN, F.; LÓPEZ-RAMÓN, M. V.; ÁLVAREZ-MERINO, M. A. Chemical and physical activation of olive-mill waste water to produce activated carbons. **Carbon**. v. 39, p. 1415 – 1420, 2001.

NIETO-GARCÍA, A. J.; GONZÁLEZ, R. R.; FRENICH, A. G. Multi-pesticide residue analysis in nutraceuticals from grape seed extracts by gas chromatography coupled to triple

quadrupole mass spectrometry. **Food Control**. v. 41, p. 369 – 380, 2015.

OLIVEIRA, C. L. B. **Dinâmica da Retenção de Fósforo de Águas Residuárias em Sistemas de Alagados Construídos**. 189f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2006.

OVERTURF, M. D.; HUGGETT, D. B. 2015. Responses to various exposure durations of levonorgestrel during early-life stages of fathead minnows (*Pimephales promelas*). **Aquatic Toxicology**. v. 161, 33 – 40, 2015.

OVERTURF, M. D.; OVERTURF, C. L.; CARTY, D. R.; HALA, D.; HUGGETT, D. B. Levonorgestrel exposure to fathead minnows (*Pimephales promelas*) alters survival, growth, steroidogenic gene expression and hormone production. **Aquatic Toxicology**. v. 148, p. 152 – 161, 2014.

PAPAEVANGELOU, V. A.; GIKAS, G. D.; TSIHRINTZIS, V. A.; ANTONOPOULOU, M.; KONSTANTINOU, I. K. Removal of Endocrine Disrupting Chemicals in HSF and VF pilot-scale constructed wetlands. **Chemical Engineering Journal**. v. 294, p. 146 – 156, 2016.

PENG, X.; HU, F.; ZHANG, T.; QIU, F.; DAI, H. Amine-functionalized magnetic bamboo-based activated carbon adsorptive removal of ciprofloxacin and norfloxacin : A batch and fixed-bed column study. **Bioresource Technology**. v. 249, p. 924 – 934, 2018.

PENG, F. Q.; YING, G. G.; YANG, B.; LIU, S.; LAI, H. J.; LIU, Y. S.; CHEN, Z. F.; ZHOU, G. J. Biotransformation of progesterone and norgestrel by two freshwater microalgae (*Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*): Transformation kinetics and products identification. **Chemosphere**. v. 95, p. 581 – 588, 2014.

PERILLI, T. A. G.; SICUPIRA, D. C.; MANSUR, M. B.; LADEIRA, A. C. Q. Avaliação da capacidade adsorptiva de carvão ativado para a remoção de manganês. **Holos**. v. 3, p. 264 – 271, 2014.

PERES, M. P. **Remoção dos interferentes endócrinos 17 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol e 4-nonilfenol por adsorção em carvão ativado em pó em água de abastecimento público**. 151p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2011.

PESSOA, G. P.; SOUZA, N. C.; VIDAL, C. B.; ALVES, J. A. C.; FIRMINO, P. I. M.; NASCIMENTO, R. F.; SANTOS, A. B. Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**. v. 490, p. 288 – 295, 2014.

PHILIPS. **Horticulture LED solutions** – GreenPower TLED. 8p, 2015.

PIEPER, C.; ROTARD, W. Investigation on the removal of natural and synthetic estrogens using biofilms in continuous flow biofilm reactors and batch experiments analyzed by gas chromatography/mass spectrometry. **Water Research**. v. 45, p. 1105 – 1114, 2011.

PETRIE, B.; SMITH, B. D. B. D.; YOUDAN, J.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Multi-residue determination of micropollutants in *Phragmites australis* from constructed wetlands using microwave assisted extraction and ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**. v. 959, p. 91 – 101, 2017.

PROCHASKA, C. A.; ZOUBOULIS, A. I. Removal of phosphates by pilot vertical-flow constructed wetlands using a mixture of sand and dolomite as substrate. **Ecological Engineering**. v. 26, p. 293 – 303, 2006.

POJANA, G.; GOMIERO, A.; JONKERS, N.; MARCOMINI, A. Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon. **Environment International**. v. 33, p. 929 – 936, 2007.

RA, J. S.; OH, S-Y.; LEE, B. C.; KIM, S. D. The effect of suspended particles coated by humic acid on the toxicity of pharmaceuticals, estrogens, and phenolic compounds. **Environment International**. n. 34, p. 184 – 192, 2008.

RAHMAN, K. Z.; WIESSNER, A.; KUSCHK, P.; AFFERDEN, M. V.; MATTUSCH, J.; MÜLLER, R. A. Removal and fate of arsenic in the rhizosphere of *Juncus effuses* treating artificial wastewater in laboratory-scale constructed wetlands. **Ecological Engineering**. v. 69, p. 93 – 105, 2014.

RAHMAN, K. Z.; WIESSNER, A.; KUSCHK, P.; AFFERDEN, M. V.; MATTUSCH, J.; MÜLLER, R. A. Fate and distribution of arsenic in laboratory-scale subsurface horizontal-flow constructed wetlands treating an artificial wastewater. **Ecological Engineering**. v. 37, p. 1214 – 1224, 2011.

REINHARD, Martin; GROSS, Birgit; MONTGOMERY-BROWN, John; NAUMANN, Anneke. Occurrence and fate of pharmaceuticals and alkylphenol ethoxylate metabolites in an effluent-dominated river and wetland. **Environmental Toxicology and Chemistry**. USA, v. 23, n. 09, p. 2074 – 2083, 2004.

RUNNALLS, T. J.; BERESFORD, N.; KUGATHAS, S.; MARGIOTTA-CASALUCI, L.; SCHOLZE, M.; SCOTT, A. P.; SUMPTER, J. P. From single chemicals to mixtures -

Reproductive effects of levonorgestrel and ethinylestradiol on the fathead minnow. **Aquatic Toxicology**. v. 169, 152 – 167, 2015.

SANCO/10684/2009. **Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. Implemented by 01/01/2010.

SARAVANABHAVAN, G.; HELLEUR, R.; HELLOU, J. GC–MS/MS measurement of natural and synthetic estrogens in receiving waters and mussels close to a raw sewage ocean outfall. **Chemosphere**. v. 76, p. 1156 – 1162, 2009.

SARMAH, A.; NORTHCOTT, G. L.; LEUSCH, F.D.L.; TREMBLAY, L.A. A survey of endocrine disrupting chemicals (EDCs) in municipal sewage and animal wastewaters in the Waikato region of New Zealand. **Science of the Total Environment**. n. 355, p. 135 - 144, 2006.

SAIYOOD, S.; VANGNAI, A. S.; THIRAVETYAN, P.; INTHORN, D. Bisphenol A removal by the *Dracaena* plant and the role of plant-associating bacteria. **Journal of Hazardous Materials**. v. 178, p. 777 – 785, 2010.

SCHULTZE-NOBRE, L.; WIESSNER, A.; WANG, D.; BARTSCH, C.; KAPPELMEYER, U.; PASCHKE, H.; MATTUSCH, J.; KUSCHK, P. Removal of dimethylphenols from an artificial wastewater in a laboratory-scale wetland system planted with *Juncus effusus*. **Ecological Engineering**. v. 80, p. 151 – 155, 2015.

SHAPPELL, N. W.; BILLEY, L. O.; FORBES, D.; MATHENY, T. A.; POACH, M. E.; REDDY, G. B.; HUNT, P. G. Estrogenic Activity and Steroid Hormones in Swine Wastewater through a Lagoon Constructed-Wetland System. **Environmental Science & Technology**. v. 41, n. 02, p. 444-450, 2007.

SHORE, L. S.; BAREL-COHEN, K.; SHEMESH, M.; WENZEL, A.; MUELLER, J.; KRONFELD-SCHOR, N. Monitoring of natural and synthetic hormones in a polluted river. **Journal of Environmental Management**. v. 78, p. 16 – 23, ago., 2005.

SILVA, G. A. **Caracterização de microfauna aeróbia e redução de toxicidade em sistema combinado de tratamento de efluente sanitário**. 130p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) -Faculdade de Engenharia Civil Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2014.

SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**. v. 96, p. 92 – 98, 2010.

SONG, H. L.; NAKANO, K.; TANIGUCHI, T.; NOMURA, M.; NISHIMURA, O.. Estrogen removal from treated municipal effluent in small-scale constructed wetland with different depth. **Bioresource Technology**. v. 100, p. 2945 – 2951, fev., 2009.

SOPHIA, A. C.; LIMA, E. C. Removal of emerging contaminants from the environment by adsorption. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 150, p. 1–17, 2018.

SPINA, F.; CORDERO, C.; SCHILIRÒ, T.; SGORBINI, B.; PIGNATA, C.; GILLI, G.; BICCHI, C.; VARESE, G. C. Removal of micropollutants by fungal laccases in model solution and municipal wastewater: evaluation of estrogenic activity and ecotoxicity. **Journal of Cleaner Production**. n. 100, p. 185 – 194, 2015.

SUMANATRAKUL, P.; KONGSUNE, P.; CHOTITHAM, L.; SUKTO, U. Utilization of *Dendrocalamus Asper* Backer Bamboo Charcoal and Pyroligneous Acid. **Energy Procedia**. v. 79, p. 691 – 696, 2015.

SUMPTER, J. P.; JHONSON, A. C. Lessons from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. **Environmental Science Technology**. v. 39, n. 12, p. 4321–4332, 2005.

SVENSSON, J.; FICK, J.; BRANDT, I.; BRUNSTRÖM, B. Environmental concentrations of an androgenic progestin disrupts the seasonal breeding cycle in male three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). **Aquatic Toxicology**. v. 147, 84 – 91, 2014.

SVENSSON, J.; FICK, J.; BRANDT, I.; BRUNSTRÖM, B. The synthetic progestin levonorgestrel is a potent androgen in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). **Environmental Science and Technology**. v. 47, p. 2043 – 2051, 2013.

TANG, J. Y. M.; ARYAL, R.; DELETIC, A.; GERNJAK, W.; GLENN, E.; McCARTHY, D.; ESCHER, B. I. Toxicity characterization of urban stormwater with bioanalytical tools. **Water Research**. n. 47, p. 5594 – 5606, 2013.

TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R. D.; SERVOS, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. **The Science of the Total Environment**. v. 225, p. 81 – 90, 1999a.

TERNES, T.A.; KRECKEL, P.; MUELLER, J. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - II. Aerobic batch experiments with activated sludge. **The Science of the Total Environment**. V. 225, p. 91 – 99, 1999b.

TERNES, T. A.; ANDERSEN, H.; GILBERG, D.; BONERZ, M. Determination of Estrogens in Sludge and Sediments by Liquid Extraction and GC/MS/MS. **Analytical Chemistry**. v. 74, p. 3498 – 3504, 2002.

TIWARI, B.; SELLAMUTHU, B.; OUARDA, Y.; DROGUI, P.; TYAGI, R. D.; BUELNA, G. Review on fate and mechanism of removal of pharmaceutical pollutants from wastewater using biological approach. **Bioresource Technology**. v. 224, p. 1 – 12, 2017.

TORO-VÉLEZ, A. F.; MADERA-PARRA, C. A.; PEÑA-VARÓN, M. R.; LEE, W. Y.; BEZARES-CRUZ, J. C.; WALKER, W. S.; CÁRDENAS-HENAO, H.; QUESADA-CALDERÓN, S.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, H.; LENS, P. N. L. BPA and NP removal from municipal wastewater by tropical horizontal subsurface constructed wetlands. **Science of the Total Environment**. v. 542, p. 93 – 101, 2016.

TORRES, N. H. **Monitoramento de resíduos dos hormônios 12 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol e estriol em águas de abastecimento urbano da cidade de Piracicaba, SP**. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2009.

TORRES, N. H. **Determinação de hormônios e antimicrobianos no Rio Piracicaba e testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna***. 102p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2014.

TRAN, N. H.; GIN, K. Y. H. Occurrence and removal of pharmaceuticals, hormones, personal care products, and endocrine disrupters in a full-scale water reclamation plant. **Science of the Total Environment**. v. 599 – 600, p. 1503–1516, 2017.

TRINH, T.; HARDEN, N. B.; COLEMAN, H. M.; KHAN, S. J. Simultaneous determination of estrogenic and androgenic hormones in water by isotope dilution gas chromatography – tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. v. 1218, p. 1668 – 1676, 2011.

USEPA. **Design manual on constructed wetlands and aquatic plant systems for municipal wastewater treatment**. United States Environmental Protection Agency. EPA/625/1-88/022, CERL, Cincinnati – OH/USA, 1988. 83p.

USEPA. **Bisphenol A Action**. United States Environmental Protection Agency, USEPA, USA, 2010.

USEPA. **The third unregulated contaminant monitoring rule (UCMR3)**. United States Environmental Protection Agency. EPA 815-F-12-004, may 2012.

USEPA. The Third Unregulated Contaminant Monitoring Rule (UCMR 3). United States Environmental Protection Agency. p. 1 – 12, june 2015.

VON SPERLING, M.; CORAUCCI FILHO, B.; MONTEGGIA, L. O.; PIVELLI, R. P. PROSAB, Edital 5, tema 2, **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Coordenadores: Francisco Suetônio Bastos Mota e Marcos von Sperling. Capítulo 9, 430 p, Fortaleza, 2009.

VULLIET, E.; WIEST, L.; BAUDOT, R.; GRENIER-LOUSTALOT, M. F. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. v. 1210, p. 84 – 91, 2008.

VYMAZAL, J.; BŘEZINOVÁ, T. D.; KOŽELUH, M.; KULE, L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in four full-scale constructed wetlands in the Czech Republic – the first year of monitoring. **Ecological Engineering**. v. 98, p. 354 – 364, 2017.

VYMAZAL, J.; BŘEZINOVÁ, T.; KOŽELUH, M. Occurrence and removal of estrogens, progesterone and testosterone in three constructed wetlands treating municipal sewage in the Czech Republic. **Science of the Total Environment**. v. 536, p. 625 – 631, 2015.

VYMAZAL, J.; KRÖPFELOVÁ, L. **Wastewater Treatment in Constructed Wetlands with Horizontal Sub-Surface Flow**. 579p. Springer Science + Business Media B. V. 2008.

VYMAZAL, J. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. **Science of the Total Environment**. v. 380, p. 48 - 65, 2007.

WEE, S. Y. & ARIS, A. Z. Endocrine disrupting compounds in drinking water supply system and human health risk implication. **Environment International**. v. 06, p. 207 – 233, 2017.

WIESSNER, A.; KAPPELMEYER, U.; KAESTNER, M.; SCHULTZE-NOBRE, L.; KUSCHK, P. Response of ammonium removal to growth and transpiration of *Juncus effusus* during the treatment of artificial sewage in laboratory-scale wetlands. **Water Research**. v. 47, p. 4265 – 4273, 2013.

WIESSNER, A.; KUSCHK, P.; JECHOREK, M.; SEIDEL, H.; KÄSTNER, M. Sulphur transformation and deposition in the rhizosphere of *Juncus effusus* in a laboratory-scale constructed wetland. **Environmental Pollution**. v. 155, p. 125 – 131, 2007.

XIA, T.; GAO, X.; WANG, C.; XU, X.; ZHU, L. An enhanced anaerobic membrane

bioreactor treating bamboo industry wastewater by bamboo charcoal addition: Performance and microbial community analysis. **Bioresource Technology**. v. 220, p. 26 – 33, 2016.

XIONG, J. Q.; KURADE, M. B.; JEON, B. H. Can Microalgae Remove Pharmaceutical Contaminants from Water? **Trends in Biotechnology**. v. 36, p. 30 – 44, 2018.

YAN, Q.; MIN, J.; YU, Y.; ZHU, Z. FENG, G. Microbial community response during the treatment of pharmaceutically active compounds (PhACs) in constructed wetland mesocosms. **Chemosphere**. v. 186, p. 823 – 831, 2017.

ZEILINGER, J. ; STEGER-HARTMANN, T.; MASER, E.; GOLLER, S.; VONK, R.; LANGE, R. Effects of synthetic gestagens on fish reproduction. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 28, n. 12, p. 2663 – 2670, 2009.

ZHAO, S.; ZHANG, P.; MELCER, M. E.; MOLINA, J. F. Estrogens in streams associated with a concentrated animal feeding operation in upstate New York, USA. **Chemosphere**. v. 79, p. 420 – 425, 2010.

ZHANG, Y.; ZHOU, J. L. Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater. **Chemosphere**. v. 73, p. 848 – 853, 2008.

APÊNDICE 1. Dados de vazão média diária de entrada e saída no período monitorado.

Tabela A1. 1. Dados de vazão média diária de entrada e saída no período monitorado (1/2).

Vazão					
Réplica	TDH	Wetland	Data Coleta	Vazão entrada (L/dia)	Vazão saída (L/dia)
1	2 dias	WLC	10/ago	8,35	6,91
1	2 dias	WL2	10/ago	9,22	8,64
1	2 dias	WL3	10/ago	8,50	9,22
2	2 dias	WLC	14/ago	8,06	7,92
2	2 dias	WL1	14/ago	8,93	8,93
2	2 dias	WL2	14/ago	7,20	8,35
2	2 dias	WL3	14/ago	10,94	10,51
3	2 dias	WLC	13/fev	9,22	8,35
3	2 dias	WL1	13/fev	8,35	7,34
3	2 dias	WL2	13/fev	8,26	8,21
3	2 dias	WL3	13/fev	8,54	7,20
4	2 dias	WLC	14/fev	8,16	6,62
4	2 dias	WL1	14/fev	8,16	7,49
4	2 dias	WL2	14/fev	8,26	8,35
4	2 dias	WL3	14/fev	8,35	7,49
5	2 dias	WLC	15/fev	8,64	7,63
5	2 dias	WL1	15/fev	8,93	4,90
5	2 dias	WL2	15/fev	8,64	6,48
5	2 dias	WL3	15/fev	9,22	7,49
1	4 dias	WLC	18/ago	4,99	4,61
1	4 dias	WL1	18/ago	4,66	4,13
1	4 dias	WL2	18/ago	4,99	4,70
1	4 dias	WL3	18/ago	4,32	3,55
2	4 dias	WLC	22/ago	3,12	4,99
2	4 dias	WL1	22/ago	4,90	4,99
2	4 dias	WL2	22/ago	3,65	7,10
2	4 dias	WL3	22/ago	4,32	4,03
3	4 dias	WLC	24/ago	12,53	6,77
3	4 dias	WL1	24/ago	8,50	0,72
3	4 dias	WL2	24/ago	2,09	2,52
3	4 dias	WL3	24/ago	11,02	10,80
4	4 dias	WLC	18/fev	4,82	4,75
4	4 dias	WL1	18/fev	3,31	3,02
4	4 dias	WL2	18/fev	3,67	3,74
4	4 dias	WL3	18/fev	4,32	3,17
5	4 dias	WLC	19/fev	4,38	4,61
5	4 dias	WL1	19/fev	3,82	3,24
5	4 dias	WL2	19/fev	4,25	3,46
5	4 dias	WL3	19/fev	4,38	3,07
6	4 dias	WLC	20/fev	4,61	4,38
6	4 dias	WL1	20/fev	4,32	2,88
6	4 dias	WL2	20/fev	4,18	2,42
6	4 dias	WL3	20/fev	4,32	3,12

Tabela A1. 1. Dados de vazão média diária de entrada e saída no período monitorado (2/2).

Vazão					
Réplica	TDH	Wetland	Data Coleta	Vazão entrada (L/dia)	Vazão saída (L/dia)
1	2 dias	WLC	30/ago	7,78	6,77
1	2 dias	WL1	30/ago	0,29	4,75
1	2 dias	WL2	30/ago	6,05	22,46
1	2 dias	WL3	30/ago	8,35	8,64
2	2 dias	WLC	31/ago	8,64	8,93
2	2 dias	WL1	31/ago	8,06	9,79
2	2 dias	WL2	31/ago	8,93	8,64
2	2 dias	WL3	31/ago	8,35	4,03
3	2 dias	WLC	01/set	8,71	7,99
3	2 dias	WL1	01/set	8,35	4,32
3	2 dias	WL2	01/set	8,14	7,85
3	2 dias	WL3	01/set	9,00	7,85
4	2 dias	WLC	08/mar	9,36	8,06
4	2 dias	WL1	08/mar	7,92	5,76
4	2 dias	WL2	08/mar	8,64	6,48
4	2 dias	WL3	08/mar	9,07	6,24
5	2 dias	WLC	09/mar	8,83	8,06
5	2 dias	WL1	09/mar	8,26	6,34
5	2 dias	WL2	09/mar	8,26	8,06
5	2 dias	WL3	09/mar	8,64	8,06
6	2 dias	WLC	10/mar	9,22	8,35
6	2 dias	WL1	10/mar	8,06	5,76
6	2 dias	WL2	10/mar	7,49	6,34
6	2 dias	WL3	10/mar	8,64	7,49
1	4 dias	WLC	05/set	5,90	3,89
1	4 dias	WL1	05/set	3,17	5,18
1	4 dias	WL2	05/set	3,31	3,17
1	4 dias	WL3	05/set	3,74	3,74
2	4 dias	WLC	06/set	5,18	1,30
2	4 dias	WL1	06/set	8,64	0,72
2	4 dias	WL2	06/set	5,76	1,94
2	4 dias	WL3	06/set	5,04	1,15
3	4 dias	WLC	07/set	3,74	5,76
3	4 dias	WL1	07/set	4,32	4,32
3	4 dias	WL3	07/set	4,61	4,32
4	4 dias	WLC	13/mar	4,61	3,46
4	4 dias	WL3	13/mar	4,46	3,84
5	4 dias	WLC	14/mar	4,03	3,46
5	4 dias	WL1	14/mar	4,03	2,71
5	4 dias	WL2	14/mar	3,46	2,53
5	4 dias	WL3	14/mar	5,18	4,03
6	4 dias	WLC	15/mar	4,03	2,75
6	4 dias	WL1	15/mar	4,32	2,48
6	4 dias	WL2	15/mar	2,02	2,03
6	4 dias	WL3	15/mar	5,18	4,25

APÊNDICE 2. Resultados de concentrações, cargas, e taxas de retenção de interferentes endócrinos nas *wetlands*

Tabela A2. 1. Resultados de concentração e retenção de BPA nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (1/2).

Bisfenol A								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Entrada (µg/L)	Saída (µg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	Baixa	WLC	10/ago	26,43	3,00	88,65
2	1	2 dias	Baixa	WL1	10/ago	26,43	4,82	81,76
3	1	2 dias	Baixa	WL2	10/ago	26,43	10,03	62,06
4	1	2 dias	Baixa	WL3	10/ago	26,43	9,42	64,36
5	2	2 dias	Baixa	WLC	14/ago	18,67	3,42	81,69
6	2	2 dias	Baixa	WL1	14/ago	18,67	14,13	24,33
7	2	2 dias	Baixa	WL2	14/ago	18,67	17,70	5,22
8	2	2 dias	Baixa	WL3	14/ago	18,67	11,24	39,79
9	3	2 dias	Baixa	WLC	13/fev	18,33	9,78	46,66
10	3	2 dias	Baixa	WL1	13/fev	18,33	23,77	-29,71
11	3	2 dias	Baixa	WL2	13/fev	18,33	24,12	-31,59
12	3	2 dias	Baixa	WL3	13/fev	18,33	14,07	23,21
13	4	2 dias	Baixa	WLC	14/fev	13,43	5,66	57,89
14	4	2 dias	Baixa	WL1	14/fev	13,43	17,44	-29,80
15	4	2 dias	Baixa	WL2	14/fev	13,43	22,65	-68,62
16	4	2 dias	Baixa	WL3	14/fev	13,43	11,87	11,66
17	5	2 dias	Baixa	WLC	15/fev	19,55	6,13	68,63
18	5	2 dias	Baixa	WL1	15/fev	19,55	16,91	13,47
19	5	2 dias	Baixa	WL2	15/fev	19,55	18,78	3,94
20	5	2 dias	Baixa	WL3	15/fev	19,55	11,59	40,72
1	1	4 dias	Baixa	WLC	18/ago	25,64	1,16	95,49
2	1	4 dias	Baixa	WL1	18/ago	25,64	3,62	85,88
3	1	4 dias	Baixa	WL2	18/ago	25,64	3,23	87,41
4	1	4 dias	Baixa	WL3	18/ago	25,64	3,16	87,69
5	2	4 dias	Baixa	WLC	22/ago	24,07	2,95	87,76
6	2	4 dias	Baixa	WL1	22/ago	24,07	11,19	53,52
7	2	4 dias	Baixa	WL2	22/ago	24,07	24,04	0,14
8	2	4 dias	Baixa	WL3	22/ago	24,07	17,56	27,07
9	3	4 dias	Baixa	WLC	24/ago	22,61	2,41	89,35
10	3	4 dias	Baixa	WL1	24/ago	22,61	17,98	20,50
11	3	4 dias	Baixa	WL2	24/ago	22,61	22,43	0,81
12	3	4 dias	Baixa	WL3	24/ago	22,61	18,72	17,20
13	4	4 dias	Baixa	WLC	18/fev	27,26	3,58	86,86
14	4	4 dias	Baixa	WL1	18/fev	27,26	14,08	48,36
15	4	4 dias	Baixa	WL2	18/fev	27,26	14,63	46,32
16	4	4 dias	Baixa	WL3	18/fev	27,26	1,60	94,12
17	5	4 dias	Baixa	WLC	19/fev	8,69	4,55	47,58
18	5	4 dias	Baixa	WL1	19/fev	8,69	14,37	-65,44
19	5	4 dias	Baixa	WL2	19/fev	8,69	15,28	-75,89
20	5	4 dias	Baixa	WL3	19/fev	8,69	8,26	4,95
21	6	4 dias	Baixa	WLC	20/fev	25,98	3,94	84,85
22	6	4 dias	Baixa	WL1	20/fev	25,98	14,87	42,77
23	6	4 dias	Baixa	WL2	20/fev	25,98	13,98	46,18
24	6	4 dias	Baixa	WL3	20/fev	25,98	8,49	67,32
1	1	2 dias	Alta	WLC	30/ago	160,48	11,15	93,06
2	1	2 dias	Alta	WL1	30/ago	160,48	47,26	70,55
3	1	2 dias	Alta	WL2	30/ago	160,48	56,83	64,59
4	1	2 dias	Alta	WL3	30/ago	160,48	62,69	60,94

Tabela A2. 1. Resultados de concentração e retenção de BPA nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (2/2).

Bisfenol A								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Entrada (µg/L)	Saída (µg/L)	Retenção (%)
5	2	2 dias	Alta	WLC	31/ago	94,95	8,83	90,70
6	2	2 dias	Alta	WL1	31/ago	94,95	44,12	53,54
7	2	2 dias	Alta	WL2	31/ago	94,95	56,50	40,50
8	2	2 dias	Alta	WL3	31/ago	94,95	57,47	39,47
9	3	2 dias	Alta	WLC	01/set	99,93	10,11	89,88
10	3	2 dias	Alta	WL1	01/set	99,93	50,94	49,02
11	3	2 dias	Alta	WL2	01/set	99,93	54,77	45,18
12	3	2 dias	Alta	WL3	01/set	99,93	79,46	20,48
13	4	2 dias	Alta	WLC	08/mar	143,18	48,02	66,46
14	4	2 dias	Alta	WL1	08/mar	143,18	30,50	78,70
15	4	2 dias	Alta	WL2	08/mar	143,18	32,42	77,36
16	4	2 dias	Alta	WL3	08/mar	143,18	45,26	68,39
17	5	2 dias	Alta	WLC	09/mar	101,69	24,06	76,34
18	5	2 dias	Alta	WL1	09/mar	101,69	51,60	49,26
19	5	2 dias	Alta	WL2	09/mar	101,69	51,31	49,54
20	5	2 dias	Alta	WL3	09/mar	101,69	48,53	52,27
21	6	2 dias	Alta	WLC	10/mar	124,77	29,44	76,41
22	6	2 dias	Alta	WL1	10/mar	124,77	57,80	53,68
23	6	2 dias	Alta	WL2	10/mar	124,77	55,45	55,56
24	6	2 dias	Alta	WL3	10/mar	124,77	53,58	57,06
1	1	4 dias	Alta	WLC	05/set	117,80	11,50	90,23
2	1	4 dias	Alta	WL1	05/set	117,80	54,59	53,66
3	1	4 dias	Alta	WL2	05/set	117,80	72,57	38,40
4	1	4 dias	Alta	WL3	05/set	117,80	86,17	26,85
5	2	4 dias	Alta	WLC	06/set	119,91	15,34	87,21
6	2	4 dias	Alta	WL1	06/set	119,91	63,12	47,36
7	2	4 dias	Alta	WL2	06/set	119,91	76,71	36,03
8	2	4 dias	Alta	WL3	06/set	119,91	84,11	29,86
9	3	4 dias	Alta	WLC	07/set	126,46	18,37	85,47
10	3	4 dias	Alta	WL1	07/set	126,46	68,72	45,66
11	3	4 dias	Alta	WL3	07/set	126,46	78,11	38,23
12	4	4 dias	Alta	WLC	13/mar	355,56	46,11	87,03
13	4	4 dias	Alta	WL1	13/mar	355,56	83,97	76,38
14	4	4 dias	Alta	WL2	13/mar	355,56	142,47	59,93
15	4	4 dias	Alta	WL3	13/mar	355,56	99,11	72,13
16	5	4 dias	Alta	WLC	14/mar	323,10	36,20	88,80
17	5	4 dias	Alta	WL1	14/mar	323,10	88,72	72,54
18	5	4 dias	Alta	WL2	14/mar	323,10	137,29	57,51
19	5	4 dias	Alta	WL3	14/mar	323,10	98,95	69,37
20	6	4 dias	Alta	WLC	15/mar	371,15	39,97	89,23
21	6	4 dias	Alta	WL1	15/mar	371,15	82,00	77,91
22	6	4 dias	Alta	WL2	15/mar	371,15	130,59	64,81
23	6	4 dias	Alta	WL3	15/mar	371,15	111,09	70,07

Tabela A2. 2. Resultados de carga e retenção de carga de BPA nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (1/2).

Bisfenol A									
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Carga Entrada (µg/dia)	Carga Saída (µg/dia)	Retenção (%)	
1	1	2 dias	Baixa	WLC	10/ago	220,71	20,73	90,61	
2	1	2 dias	Baixa	WL2	10/ago	243,54	86,63	64,43	
3	1	2 dias	Baixa	WL3	10/ago	224,51	86,81	61,34	
4	2	2 dias	Baixa	WLC	14/ago	150,56	27,08	82,02	
5	2	2 dias	Baixa	WL1	14/ago	166,70	126,14	24,33	
6	2	2 dias	Baixa	WL2	14/ago	134,43	147,81	-9,95	
7	2	2 dias	Baixa	WL3	14/ago	204,34	118,18	42,17	
8	3	2 dias	Baixa	WLC	13/fev	168,91	81,65	51,66	
9	3	2 dias	Baixa	WL1	13/fev	153,07	174,58	-14,05	
10	3	2 dias	Baixa	WL2	13/fev	151,31	197,95	-30,82	
11	3	2 dias	Baixa	WL3	13/fev	156,59	101,33	35,29	
12	4	2 dias	Baixa	WLC	14/fev	109,61	37,47	65,82	
13	4	2 dias	Baixa	WL1	14/fev	109,61	130,56	-19,11	
14	4	2 dias	Baixa	WL2	14/fev	110,90	189,18	-70,58	
15	4	2 dias	Baixa	WL3	14/fev	112,19	88,85	20,80	
16	5	2 dias	Baixa	WLC	15/fev	168,88	46,79	72,29	
17	5	2 dias	Baixa	WL1	15/fev	174,51	82,81	52,55	
18	5	2 dias	Baixa	WL2	15/fev	168,88	121,67	27,96	
19	5	2 dias	Baixa	WL3	15/fev	180,14	86,76	51,84	
1	1	4 dias	Baixa	WLC	18/ago	128,00	5,33	95,84	
2	1	4 dias	Baixa	WL1	18/ago	119,39	14,95	87,48	
3	1	4 dias	Baixa	WL2	18/ago	128,00	15,19	88,14	
4	1	4 dias	Baixa	WL3	18/ago	110,77	11,21	89,88	
5	2	4 dias	Baixa	WLC	22/ago	75,11	14,71	80,41	
6	2	4 dias	Baixa	WL1	22/ago	117,87	55,86	52,61	
7	2	4 dias	Baixa	WL2	22/ago	87,82	170,77	-94,45	
8	2	4 dias	Baixa	WL3	22/ago	104,00	70,79	31,93	
9	3	4 dias	Baixa	WLC	24/ago	283,30	16,29	94,25	
10	3	4 dias	Baixa	WL1	24/ago	192,12	12,94	93,26	
11	3	4 dias	Baixa	WL2	24/ago	47,22	56,52	-19,71	
12	3	4 dias	Baixa	WL3	24/ago	249,10	202,21	18,83	
13	4	4 dias	Baixa	WLC	18/fev	131,51	17,03	87,05	
14	4	4 dias	Baixa	WL1	18/fev	90,29	42,57	52,85	
15	4	4 dias	Baixa	WL2	18/fev	100,10	54,78	45,27	
16	4	4 dias	Baixa	WL3	18/fev	117,77	5,08	95,69	
17	5	4 dias	Baixa	WLC	19/fev	38,03	20,98	44,82	
18	5	4 dias	Baixa	WL1	19/fev	33,15	46,56	-40,47	
19	5	4 dias	Baixa	WL2	19/fev	36,90	52,81	-43,10	
20	5	4 dias	Baixa	WL3	19/fev	38,03	25,37	33,30	
21	6	4 dias	Baixa	WLC	20/fev	119,71	17,26	85,58	
22	6	4 dias	Baixa	WL1	20/fev	112,23	42,81	61,85	
23	6	4 dias	Baixa	WL2	20/fev	108,48	33,82	68,82	
24	6	4 dias	Baixa	WL3	20/fev	112,23	26,49	76,40	
1	1	2 dias	Alta	WLC	30/ago	1247,89	75,43	93,96	
2	1	2 dias	Alta	WL1	30/ago	46,22	224,58	-385,92	
3	1	2 dias	Alta	WL2	30/ago	970,58	1276,57	-31,53	
4	1	2 dias	Alta	WL3	30/ago	1340,32	541,63	59,59	

Tabela A2. 2. Resultados de carga e retenção de carga de BPA nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (2/2).

Bisfenol A									
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Carga Entrada (µg/dia)	Carga Saída (µg/dia)	Retenção (%)	
5	2	2 dias	Alta	WLC	31/ago	820,34	78,81	90,39	
6	2	2 dias	Alta	WL1	31/ago	765,65	431,98	43,58	
7	2	2 dias	Alta	WL2	31/ago	847,69	488,13	42,42	
8	2	2 dias	Alta	WL3	31/ago	793,00	231,73	70,78	
9	3	2 dias	Alta	WLC	01/set	870,56	80,84	90,71	
10	3	2 dias	Alta	WL1	01/set	834,58	220,08	73,63	
11	3	2 dias	Alta	WL2	01/set	813,00	429,87	47,13	
12	3	2 dias	Alta	WL3	01/set	899,34	623,60	30,66	
13	4	2 dias	Alta	WLC	08/mar	1340,20	387,21	71,11	
14	4	2 dias	Alta	WL1	08/mar	1134,01	175,67	84,51	
15	4	2 dias	Alta	WL2	08/mar	1237,11	210,10	83,02	
16	4	2 dias	Alta	WL3	08/mar	1298,96	282,42	78,26	
17	5	2 dias	Alta	WLC	09/mar	898,10	194,03	78,40	
18	5	2 dias	Alta	WL1	09/mar	839,53	326,93	61,06	
19	5	2 dias	Alta	WL2	09/mar	839,53	413,74	50,72	
20	5	2 dias	Alta	WL3	09/mar	878,58	391,38	55,45	
21	6	2 dias	Alta	WLC	10/mar	1149,88	245,86	78,62	
22	6	2 dias	Alta	WL1	10/mar	1006,14	332,90	66,91	
23	6	2 dias	Alta	WL2	10/mar	934,27	351,33	62,40	
24	6	2 dias	Alta	WL3	10/mar	1078,01	401,19	62,78	
1	1	4 dias	Alta	WLC	05/set	695,46	44,72	93,57	
2	1	4 dias	Alta	WL1	05/set	373,18	282,99	24,17	
3	1	4 dias	Alta	WL2	05/set	390,14	229,89	41,08	
4	1	4 dias	Alta	WL3	05/set	441,03	322,61	26,85	
5	2	4 dias	Alta	WLC	06/set	621,62	19,88	96,80	
6	2	4 dias	Alta	WL1	06/set	1036,03	45,45	95,61	
7	2	4 dias	Alta	WL2	06/set	690,68	149,13	78,41	
8	2	4 dias	Alta	WL3	06/set	604,35	96,89	83,97	
9	3	4 dias	Alta	WLC	07/set	473,47	105,82	77,65	
10	3	4 dias	Alta	WL1	07/set	546,32	296,86	45,66	
11	3	4 dias	Alta	WL3	07/set	582,74	337,45	42,09	
12	4	4 dias	Alta	WLC	13/mar	1638,40	159,37	90,27	
13	4	4 dias	Alta	WL3	13/mar	1587,20	380,58	76,02	
14	5	4 dias	Alta	WLC	14/mar	1302,74	125,11	90,40	
15	5	4 dias	Alta	WL1	14/mar	1302,74	240,18	81,56	
16	5	4 dias	Alta	WL2	14/mar	1116,63	347,95	68,84	
17	5	4 dias	Alta	WL3	14/mar	1674,95	398,97	76,18	
18	6	4 dias	Alta	WLC	15/mar	1496,49	110,07	92,64	
19	6	4 dias	Alta	WL1	15/mar	1603,39	203,68	87,30	
20	6	4 dias	Alta	WL2	15/mar	748,25	265,63	64,50	
21	6	4 dias	Alta	WL3	15/mar	1924,06	471,91	75,47	

Tabela A2. 3. Resultados de concentração e retenção de EE2 nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (1/2).

Ethinilestradiol								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Entrada (µg/L)	Saída (µg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	Baixa	WLC	10/ago	18,22	0,00	100,00
2	1	2 dias	Baixa	WL1	10/ago	18,22	3,40	81,36
3	1	2 dias	Baixa	WL2	10/ago	18,22	8,12	55,45
4	1	2 dias	Baixa	WL3	10/ago	18,22	5,87	67,77
5	2	2 dias	Baixa	WLC	14/ago	12,91	1,14	91,21
6	2	2 dias	Baixa	WL1	14/ago	12,91	10,57	18,16
7	2	2 dias	Baixa	WL2	14/ago	12,91	13,22	-2,38
8	2	2 dias	Baixa	WL3	14/ago	12,91	10,70	17,13
9	3	2 dias	Baixa	WLC	13/fev	20,16	3,12	84,52
10	3	2 dias	Baixa	WL1	13/fev	20,16	5,58	72,30
11	3	2 dias	Baixa	WL2	13/fev	20,16	6,50	67,73
12	3	2 dias	Baixa	WL3	13/fev	20,16	2,80	86,11
13	4	2 dias	Baixa	WLC	14/fev	16,10	1,55	90,38
14	4	2 dias	Baixa	WL1	14/fev	16,10	6,02	62,61
15	4	2 dias	Baixa	WL2	14/fev	16,10	8,74	45,72
16	4	2 dias	Baixa	WL3	14/fev	16,10	4,45	72,35
17	5	2 dias	Baixa	WLC	15/fev	12,86	2,21	82,81
18	5	2 dias	Baixa	WL1	15/fev	12,86	5,44	57,70
19	5	2 dias	Baixa	WL2	15/fev	12,86	10,97	14,70
20	5	2 dias	Baixa	WL3	15/fev	12,86	5,68	55,87
1	1	4 dias	Baixa	WLC	18/ago	18,83	3,72	80,22
2	1	4 dias	Baixa	WL1	18/ago	18,83	12,20	35,17
3	1	4 dias	Baixa	WL2	18/ago	18,83	16,51	12,29
4	1	4 dias	Baixa	WL3	18/ago	18,83	11,21	40,43
5	2	4 dias	Baixa	WLC	22/ago	14,76	3,33	77,46
6	2	4 dias	Baixa	WL1	22/ago	14,76	7,32	50,38
7	2	4 dias	Baixa	WL2	22/ago	14,76	15,86	-7,46
8	2	4 dias	Baixa	WL3	22/ago	14,76	10,95	25,79
9	3	4 dias	Baixa	WLC	24/ago	19,32	3,01	84,43
10	3	4 dias	Baixa	WL1	24/ago	19,32	10,81	44,04
11	3	4 dias	Baixa	WL2	24/ago	19,32	15,05	22,11
12	3	4 dias	Baixa	WL3	24/ago	19,32	11,35	41,26
13	4	4 dias	Baixa	WLC	18/fev	1,34	1,03	22,98
14	4	4 dias	Baixa	WL1	18/fev	1,34	3,33	-149,37
15	4	4 dias	Baixa	WL2	18/fev	1,34	5,64	-321,67
16	4	4 dias	Baixa	WL3	18/fev	1,34	0,80	40,10
17	5	4 dias	Baixa	WLC	19/fev	3,60	1,52	57,77
18	5	4 dias	Baixa	WL1	19/fev	3,60	2,15	40,12
19	5	4 dias	Baixa	WL2	19/fev	3,60	4,55	-26,55
20	5	4 dias	Baixa	WL3	19/fev	3,60	2,87	20,14
21	6	4 dias	Baixa	WLC	20/fev	20,95	0,33	98,43
22	6	4 dias	Baixa	WL1	20/fev	20,95	2,99	85,72
23	6	4 dias	Baixa	WL2	20/fev	20,95	3,58	82,90
24	6	4 dias	Baixa	WL3	20/fev	20,95	3,24	84,53
1	1	2 dias	Alta	WLC	30/ago	86,06	12,78	85,15
2	1	2 dias	Alta	WL1	30/ago	86,06	33,37	61,22
3	1	2 dias	Alta	WL2	30/ago	86,06	48,60	43,53
4	1	2 dias	Alta	WL3	30/ago	86,06	41,39	51,90

Tabela A2. 3. Resultados de concentração e retenção de EE2 nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (2/2).

Etinilestradiol								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Entrada (µg/L)	Saída (µg/L)	Retenção (%)
5	2	2 dias	Alta	WLC	31/ago	103,62	9,60	90,74
6	2	2 dias	Alta	WL1	31/ago	103,62	33,25	67,91
7	2	2 dias	Alta	WL2	31/ago	103,62	51,84	49,97
8	2	2 dias	Alta	WL3	31/ago	103,62	38,77	62,59
9	3	2 dias	Alta	WLC	01/set	92,25	10,62	88,49
10	3	2 dias	Alta	WL1	01/set	92,25	41,41	55,11
11	3	2 dias	Alta	WL2	01/set	92,25	53,17	42,36
12	3	2 dias	Alta	WL3	01/set	92,25	46,41	49,69
13	4	2 dias	Alta	WLC	08/mar	91,93	18,08	80,33
14	4	2 dias	Alta	WL1	08/mar	91,93	5,11	94,44
15	4	2 dias	Alta	WL2	08/mar	91,93	8,64	90,60
16	4	2 dias	Alta	WL3	08/mar	91,93	11,45	87,54
17	5	2 dias	Alta	WLC	09/mar	105,66	5,26	95,02
18	5	2 dias	Alta	WL1	09/mar	105,66	28,44	73,08
19	5	2 dias	Alta	WL2	09/mar	105,66	18,48	82,51
20	5	2 dias	Alta	WL3	09/mar	105,66	28,99	72,56
21	6	2 dias	Alta	WLC	10/mar	103,14	8,33	91,93
22	6	2 dias	Alta	WL1	10/mar	103,14	35,95	65,14
23	6	2 dias	Alta	WL2	10/mar	103,14	25,07	75,69
24	6	2 dias	Alta	WL3	10/mar	103,14	38,77	62,41
1	1	4 dias	Alta	WLC	05/set	98,02	10,45	89,33
2	1	4 dias	Alta	WL1	05/set	98,02	37,45	61,80
3	1	4 dias	Alta	WL2	05/set	98,02	68,93	29,68
4	1	4 dias	Alta	WL3	05/set	98,02	62,56	36,18
5	2	4 dias	Alta	WLC	06/set	104,63	12,69	87,87
6	2	4 dias	Alta	WL1	06/set	104,63	42,01	59,85
7	2	4 dias	Alta	WL2	06/set	104,63	71,76	31,41
8	2	4 dias	Alta	WL3	06/set	104,63	64,62	38,24
9	3	4 dias	Alta	WLC	07/set	126,29	17,45	86,18
10	3	4 dias	Alta	WL1	07/set	126,29	59,62	52,79
11	3	4 dias	Alta	WL3	07/set	126,29	64,32	49,07
12	4	4 dias	Alta	WLC	13/mar	97,12	5,33	94,51
13	4	4 dias	Alta	WL1	13/mar	97,12	36,87	62,04
14	4	4 dias	Alta	WL2	13/mar	97,12	57,71	40,58
15	4	4 dias	Alta	WL3	13/mar	97,12	28,66	70,49
16	5	4 dias	Alta	WLC	14/mar	85,98	0,00	100,00
17	5	4 dias	Alta	WL1	14/mar	85,98	32,67	62,01
18	5	4 dias	Alta	WL2	14/mar	85,98	54,65	36,44
19	5	4 dias	Alta	WL3	14/mar	85,98	26,63	69,03
20	6	4 dias	Alta	WLC	15/mar	100,59	1,21	98,80
21	6	4 dias	Alta	WL1	15/mar	100,59	32,13	68,06
22	6	4 dias	Alta	WL2	15/mar	100,59	52,44	47,87
23	6	4 dias	Alta	WL3	15/mar	100,59	26,85	73,31

Tabela A2. 4. Resultados de carga e retenção de carga EE2 nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (1/2).

Ethinilestradiol								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Amostra	Data Coleta	Carga Entrada (µg/dia)	Carga Saída (µg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	Baixa	WLC	10/ago	152,18	0,00	100,00
2	1	2 dias	Baixa	WL2	10/ago	167,92	70,13	58,24
3	1	2 dias	Baixa	WL3	10/ago	154,80	54,13	65,04
4	2	2 dias	Baixa	WLC	14/ago	104,11	8,99	91,36
5	2	2 dias	Baixa	WL1	14/ago	115,26	94,33	18,16
6	2	2 dias	Baixa	WL2	14/ago	92,95	110,39	-18,76
7	2	2 dias	Baixa	WL3	14/ago	141,29	112,47	20,40
8	3	2 dias	Baixa	WLC	13/fev	185,80	26,07	85,97
9	3	2 dias	Baixa	WL1	13/fev	168,38	41,01	75,65
10	3	2 dias	Baixa	WL2	13/fev	166,45	53,39	67,92
11	3	2 dias	Baixa	WL3	13/fev	172,25	20,17	88,29
12	4	2 dias	Baixa	WLC	14/fev	131,36	10,26	92,19
13	4	2 dias	Baixa	WL1	14/fev	131,36	45,07	65,69
14	4	2 dias	Baixa	WL2	14/fev	132,91	72,99	45,08
15	4	2 dias	Baixa	WL3	14/fev	134,45	33,33	75,21
16	5	2 dias	Baixa	WLC	15/fev	111,12	16,87	84,82
17	5	2 dias	Baixa	WL1	15/fev	114,82	26,64	76,80
18	5	2 dias	Baixa	WL2	15/fev	111,12	71,09	36,02
19	5	2 dias	Baixa	WL3	15/fev	118,53	42,50	64,14
1	1	4 dias	Baixa	WLC	18/ago	93,97	17,16	81,74
2	1	4 dias	Baixa	WL1	18/ago	87,65	50,38	42,52
3	1	4 dias	Baixa	WL2	18/ago	93,97	77,67	17,35
4	1	4 dias	Baixa	WL3	18/ago	81,32	39,83	51,02
5	2	4 dias	Baixa	WLC	22/ago	46,05	16,61	63,94
6	2	4 dias	Baixa	WL1	22/ago	72,27	36,57	49,40
7	2	4 dias	Baixa	WL2	22/ago	53,85	112,69	-109,27
8	2	4 dias	Baixa	WL3	22/ago	63,77	44,17	30,74
9	3	4 dias	Baixa	WLC	24/ago	242,09	20,36	91,59
10	3	4 dias	Baixa	WL1	24/ago	164,18	7,79	95,26
11	3	4 dias	Baixa	WL2	24/ago	40,35	37,93	6,00
12	3	4 dias	Baixa	WL3	24/ago	212,87	122,59	42,41
13	4	4 dias	Baixa	WLC	18/fev	6,45	4,89	24,13
14	4	4 dias	Baixa	WL1	18/fev	4,43	10,08	-127,69
15	4	4 dias	Baixa	WL2	18/fev	4,91	21,10	-329,94
16	4	4 dias	Baixa	WL3	18/fev	5,77	2,54	56,07
17	5	4 dias	Baixa	WLC	19/fev	15,75	7,00	55,55
18	5	4 dias	Baixa	WL1	19/fev	13,73	6,98	49,15
19	5	4 dias	Baixa	WL2	19/fev	15,28	15,74	-2,96
20	5	4 dias	Baixa	WL3	19/fev	15,75	8,83	43,96
21	6	4 dias	Baixa	WLC	20/fev	96,55	1,44	98,51
22	6	4 dias	Baixa	WL1	20/fev	90,52	8,62	90,48
23	6	4 dias	Baixa	WL2	20/fev	87,50	8,67	90,10
24	6	4 dias	Baixa	WL3	20/fev	90,52	10,12	88,82
1	1	2 dias	Alta	WLC	30/ago	669,18	86,49	87,08
2	1	2 dias	Alta	WL1	30/ago	24,78	158,57	-539,80
3	1	2 dias	Alta	WL2	30/ago	520,48	1091,64	-109,74
4	1	2 dias	Alta	WL3	30/ago	718,75	357,61	50,25

Tabela A2. 4. Resultados de carga e retenção de carga EE2 nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (2/2).

Ethinilestradiol								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Amostra	Data Coleta	Carga Entrada (µg/dia)	Carga Saída (µg/dia)	Retenção (%)
5	2	2 dias	Alta	WLC	31/ago	895,26	85,69	90,43
6	2	2 dias	Alta	WL1	31/ago	835,58	325,62	61,03
7	2	2 dias	Alta	WL2	31/ago	925,11	447,94	51,58
8	2	2 dias	Alta	WL3	31/ago	865,42	156,30	81,94
9	3	2 dias	Alta	WLC	01/set	803,65	84,88	89,44
10	3	2 dias	Alta	WL1	01/set	770,44	178,88	76,78
11	3	2 dias	Alta	WL2	01/set	750,51	417,25	44,40
12	3	2 dias	Alta	WL3	01/set	830,22	364,24	56,13
13	4	2 dias	Alta	WLC	08/mar	860,43	145,83	83,05
14	4	2 dias	Alta	WL1	08/mar	728,05	29,42	95,96
15	4	2 dias	Alta	WL2	08/mar	794,24	56,00	92,95
16	4	2 dias	Alta	WL3	08/mar	833,95	71,46	91,43
17	5	2 dias	Alta	WLC	09/mar	933,22	42,45	95,45
18	5	2 dias	Alta	WL1	09/mar	872,36	180,21	79,34
19	5	2 dias	Alta	WL2	09/mar	872,36	149,00	82,92
20	5	2 dias	Alta	WL3	09/mar	912,94	233,80	74,39
21	6	2 dias	Alta	WLC	10/mar	950,50	69,54	92,68
22	6	2 dias	Alta	WL1	10/mar	831,69	207,08	75,10
23	6	2 dias	Alta	WL2	10/mar	772,28	158,84	79,43
24	6	2 dias	Alta	WL3	10/mar	891,09	290,33	67,42
1	1	4 dias	Alta	WLC	05/set	578,72	40,65	92,98
2	1	4 dias	Alta	WL1	05/set	310,53	194,12	37,49
3	1	4 dias	Alta	WL2	05/set	324,65	218,36	32,74
4	1	4 dias	Alta	WL3	05/set	366,99	234,23	36,18
5	2	4 dias	Alta	WLC	06/set	542,38	16,45	96,97
6	2	4 dias	Alta	WL1	06/set	903,96	30,25	96,65
7	2	4 dias	Alta	WL2	06/set	602,64	139,50	76,85
8	2	4 dias	Alta	WL3	06/set	527,31	74,44	85,88
9	3	4 dias	Alta	WLC	07/set	472,83	100,54	78,74
10	3	4 dias	Alta	WL1	07/set	545,57	257,56	52,79
11	3	4 dias	Alta	WL3	07/set	581,94	277,84	52,26
12	4	4 dias	Alta	WLC	13/mar	447,53	18,41	95,89
13	4	4 dias	Alta	WL3	13/mar	433,54	110,06	74,61
14	5	4 dias	Alta	WLC	14/mar	346,69	0,00	100,00
15	5	4 dias	Alta	WL1	14/mar	346,69	88,44	74,49
16	5	4 dias	Alta	WL2	14/mar	297,16	138,50	53,39
17	5	4 dias	Alta	WL3	14/mar	445,74	107,39	75,91
18	6	4 dias	Alta	WLC	15/mar	405,59	3,32	99,18
19	6	4 dias	Alta	WL1	15/mar	434,56	79,81	81,63
20	6	4 dias	Alta	WL2	15/mar	202,79	106,66	47,40
21	6	4 dias	Alta	WL3	15/mar	521,47	114,05	78,13

Tabela A2. 5. Resultados de concentração e retenção de LNG nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (1/2).

Levonorgestrel								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Entrada (µg/L)	Saída (µg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	Baixa	WLC	10/ago	62,70	5,51	91,21
2	1	2 dias	Baixa	WL1	10/ago	62,70	6,33	89,91
3	1	2 dias	Baixa	WL2	10/ago	62,70	21,95	64,99
4	1	2 dias	Baixa	WL3	10/ago	62,70	7,01	88,81
5	2	2 dias	Baixa	WLC	14/ago	86,70	8,47	90,23
6	2	2 dias	Baixa	WL1	14/ago	86,70	5,85	93,26
7	2	2 dias	Baixa	WL2	14/ago	86,70	8,82	89,83
8	2	2 dias	Baixa	WL3	14/ago	86,70	24,68	71,53
9	3	2 dias	Baixa	WLC	13/fev	31,57	4,91	84,45
10	3	2 dias	Baixa	WL1	13/fev	31,57	6,68	78,84
11	3	2 dias	Baixa	WL2	13/fev	31,57	15,38	51,27
12	3	2 dias	Baixa	WL3	13/fev	31,57	2,34	92,57
13	4	2 dias	Baixa	WLC	14/fev	31,30	4,41	85,92
14	4	2 dias	Baixa	WL1	14/fev	31,30	8,95	71,39
15	4	2 dias	Baixa	WL2	14/fev	31,30	13,02	58,40
16	4	2 dias	Baixa	WL3	14/fev	31,30	4,54	85,48
17	5	2 dias	Baixa	WLC	15/fev	11,08	0,96	91,35
18	5	2 dias	Baixa	WL1	15/fev	11,08	1,21	89,04
19	5	2 dias	Baixa	WL2	15/fev	11,08	5,60	49,48
20	5	2 dias	Baixa	WL3	15/fev	11,08	0,71	93,55
1	1	4 dias	Baixa	WLC	18/ago	38,31	1,24	96,76
2	1	4 dias	Baixa	WL1	18/ago	38,31	-0,04	100,00
3	1	4 dias	Baixa	WL2	18/ago	38,31	0,01	99,97
4	1	4 dias	Baixa	WL3	18/ago	38,31	0,07	99,81
5	2	4 dias	Baixa	WLC	22/ago	49,96	0,47	99,06
6	2	4 dias	Baixa	WL1	22/ago	49,96	0,17	99,66
7	2	4 dias	Baixa	WL2	22/ago	49,96	0,00	99,99
8	2	4 dias	Baixa	WL3	22/ago	49,96	0,18	99,64
9	3	4 dias	Baixa	WLC	24/ago	83,25	0,14	99,84
10	3	4 dias	Baixa	WL1	24/ago	83,25	0,00	100,00
11	3	4 dias	Baixa	WL2	24/ago	83,25	0,00	100,00
12	3	4 dias	Baixa	WL3	24/ago	83,25	5,99	92,81
13	4	4 dias	Baixa	WLC	18/fev	12,39	0,16	98,73
14	4	4 dias	Baixa	WL1	18/fev	12,39	0,00	100,00
15	4	4 dias	Baixa	WL2	18/fev	12,39	1,28	89,64
16	4	4 dias	Baixa	WL3	18/fev	12,39	0,00	100,00
17	5	4 dias	Baixa	WLC	19/fev	6,93	0,12	98,21
18	5	4 dias	Baixa	WL1	19/fev	6,93	0,00	100,00
19	5	4 dias	Baixa	WL2	19/fev	6,93	0,32	95,35
20	5	4 dias	Baixa	WL3	19/fev	6,93	0,00	100,00
21	6	4 dias	Baixa	WLC	20/fev	21,54	1,29	94,01
22	6	4 dias	Baixa	WL1	20/fev	21,54	0,85	96,06
23	6	4 dias	Baixa	WL2	20/fev	21,54	0,20	99,06
24	6	4 dias	Baixa	WL3	20/fev	21,54	0,39	98,19
1	1	2 dias	Alta	WLC	30/ago	252,27	28,36	88,76
2	1	2 dias	Alta	WL1	30/ago	252,27	7,66	96,96
3	1	2 dias	Alta	WL2	30/ago	252,27	9,42	96,26
4	1	2 dias	Alta	WL3	30/ago	252,27	1,01	99,60

Tabela A2. 5. Resultados de concentração e retenção de LNG nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (2/2).

Levonorgestrel								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Wetland	Data Coleta	Entrada (µg/L)	Saída (µg/L)	Retenção (%)
5	2	2 dias	Alta	WLC	31/ago	366,50	5,21	98,58
6	2	2 dias	Alta	WL1	31/ago	366,50	4,55	98,76
7	2	2 dias	Alta	WL2	31/ago	366,50	16,92	95,38
8	2	2 dias	Alta	WL3	31/ago	366,50	0,00	100,00
9	3	2 dias	Alta	WLC	01/set	94,96	7,52	92,09
10	3	2 dias	Alta	WL1	01/set	94,96	27,69	70,84
11	3	2 dias	Alta	WL2	01/set	94,96	9,73	89,75
12	3	2 dias	Alta	WL3	01/set	94,96	24,52	74,17
13	4	2 dias	Alta	WLC	08/mar	6,32	6,24	1,26
14	4	2 dias	Alta	WL1	08/mar	6,32	4,70	25,53
15	4	2 dias	Alta	WL2	08/mar	6,32	4,12	34,73
16	4	2 dias	Alta	WL3	08/mar	6,32	4,15	34,36
17	5	2 dias	Alta	WLC	09/mar	73,68	30,75	58,27
18	5	2 dias	Alta	WL1	09/mar	73,68	39,91	45,83
19	5	2 dias	Alta	WL2	09/mar	73,68	14,18	80,76
20	5	2 dias	Alta	WL3	09/mar	73,68	30,68	58,37
21	6	2 dias	Alta	WLC	10/mar	11,93	6,98	41,50
22	6	2 dias	Alta	WL1	10/mar	11,93	14,49	-21,50
23	6	2 dias	Alta	WL2	10/mar	11,93	9,38	21,35
24	6	2 dias	Alta	WL3	10/mar	11,93	17,95	-50,48
1	1	4 dias	Alta	WLC	05/set	12,18	0,79	93,51
2	1	4 dias	Alta	WL1	05/set	12,18	0,00	100,00
3	1	4 dias	Alta	WL2	05/set	12,18	0,00	100,00
4	1	4 dias	Alta	WL3	05/set	12,18	0,00	100,00
5	2	4 dias	Alta	WLC	06/set	10,05	0,57	94,32
6	2	4 dias	Alta	WL1	06/set	10,05	0,00	100,00
7	2	4 dias	Alta	WL2	06/set	10,05	0,00	100,00
8	2	4 dias	Alta	WL3	06/set	10,05	0,00	100,00
9	3	4 dias	Alta	WLC	07/set	37,35	21,51	42,40
10	3	4 dias	Alta	WL1	07/set	37,35	68,24	-82,70
11	3	4 dias	Alta	WL3	07/set	37,35	0,00	100,00
12	4	4 dias	Alta	WLC	13/mar	41,32	5,40	86,94
13	4	4 dias	Alta	WL1	13/mar	41,32	6,17	85,08
14	4	4 dias	Alta	WL2	13/mar	41,32	4,19	89,86
15	4	4 dias	Alta	WL3	13/mar	41,32	4,69	88,66
16	5	4 dias	Alta	WLC	14/mar	33,47	4,15	87,61
17	5	4 dias	Alta	WL1	14/mar	33,47	5,47	83,67
18	5	4 dias	Alta	WL2	14/mar	33,47	3,35	90,00
19	5	4 dias	Alta	WL3	14/mar	33,47	3,92	88,28
20	6	4 dias	Alta	WLC	15/mar	30,21	4,19	86,12
21	6	4 dias	Alta	WL1	15/mar	30,21	4,50	85,11
22	6	4 dias	Alta	WL2	15/mar	30,21	3,23	89,31
23	6	4 dias	Alta	WL3	15/mar	30,21	4,20	86,09

Tabela A2. 6. Resultados de carga e retenção de carga de LNG nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (1/2).

Levonorgestrel								
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Amostra	Data Coleta	Carga Entrada (µg/dia)	Carga Saída (µg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	Baixa	WLC	10/ago	523,68	38,09	92,73
2	1	2 dias	Baixa	WL2	10/ago	577,86	189,66	67,18
3	1	2 dias	Baixa	WL3	10/ago	532,71	64,64	87,87
4	2	2 dias	Baixa	WLC	14/ago	699,15	67,06	90,41
5	2	2 dias	Baixa	WL1	14/ago	774,06	52,21	93,26
6	2	2 dias	Baixa	WL2	14/ago	624,24	73,63	88,21
7	2	2 dias	Baixa	WL3	14/ago	948,85	259,45	72,66
8	3	2 dias	Baixa	WLC	13/fev	290,93	41,00	85,91
9	3	2 dias	Baixa	WL1	13/fev	263,65	49,06	81,39
10	3	2 dias	Baixa	WL2	13/fev	260,62	126,26	51,56
11	3	2 dias	Baixa	WL3	13/fev	269,71	16,88	93,74
12	4	2 dias	Baixa	WLC	14/fev	255,38	29,18	88,57
13	4	2 dias	Baixa	WL1	14/fev	255,38	67,04	73,75
14	4	2 dias	Baixa	WL2	14/fev	258,38	108,75	57,91
15	4	2 dias	Baixa	WL3	14/fev	261,39	34,03	86,98
16	5	2 dias	Baixa	WLC	15/fev	95,72	7,32	92,36
17	5	2 dias	Baixa	WL1	15/fev	98,91	5,95	93,99
18	5	2 dias	Baixa	WL2	15/fev	95,72	36,27	62,11
19	5	2 dias	Baixa	WL3	15/fev	102,10	5,35	94,76
1	1	4 dias	Baixa	WLC	18/ago	191,24	5,73	97,01
2	1	4 dias	Baixa	WL1	18/ago	178,37	0,00	100,00
3	1	4 dias	Baixa	WL2	18/ago	191,24	0,06	99,97
4	1	4 dias	Baixa	WL3	18/ago	165,49	0,25	99,85
5	2	4 dias	Baixa	WLC	22/ago	155,87	2,34	98,50
6	2	4 dias	Baixa	WL1	22/ago	244,60	0,84	99,66
7	2	4 dias	Baixa	WL2	22/ago	182,25	0,02	99,99
8	2	4 dias	Baixa	WL3	22/ago	215,82	0,73	99,66
9	3	4 dias	Baixa	WLC	24/ago	1043,01	0,92	99,91
10	3	4 dias	Baixa	WL1	24/ago	707,33	0,00	100,00
11	3	4 dias	Baixa	WL2	24/ago	173,83	0,00	100,00
12	3	4 dias	Baixa	WL3	24/ago	917,13	64,64	92,95
13	4	4 dias	Baixa	WLC	18/fev	59,76	0,75	98,75
14	4	4 dias	Baixa	WL1	18/fev	41,03	0,00	100,00
15	4	4 dias	Baixa	WL2	18/fev	45,49	4,80	89,44
16	4	4 dias	Baixa	WL3	18/fev	53,52	0,00	100,00
17	5	4 dias	Baixa	WLC	19/fev	30,34	0,57	98,11
18	5	4 dias	Baixa	WL1	19/fev	26,45	0,00	100,00
19	5	4 dias	Baixa	WL2	19/fev	29,44	1,11	96,22
20	5	4 dias	Baixa	WL3	19/fev	30,34	0,00	100,00
21	6	4 dias	Baixa	WLC	20/fev	99,26	5,66	94,30
22	6	4 dias	Baixa	WL1	20/fev	93,05	2,44	97,38
23	6	4 dias	Baixa	WL2	20/fev	89,95	0,49	99,46
24	6	4 dias	Baixa	WL3	20/fev	93,05	1,21	98,70
1	1	2 dias	Alta	WLC	30/ago	1961,69	191,96	90,21
2	1	2 dias	Alta	WL1	30/ago	72,66	36,40	49,90
3	1	2 dias	Alta	WL2	30/ago	1525,76	211,68	86,13
4	1	2 dias	Alta	WL3	30/ago	2107,00	8,69	99,59

Tabela A2. 6. Resultados de carga e retenção de carga de LNG nas *wetlands* em ambas as fases de concentração e TDH (2/2).

Levonorgestrel									
Amostra	Réplica	TDH	Concentração	Amostra	Data Coleta	Carga Entrada (µg/dia)	Carga Saída (µg/dia)	Retenção (%)	
5	2	2 dias	Alta	WLC	31/ago	3166,55	46,47	98,53	
6	2	2 dias	Alta	WL1	31/ago	2955,45	44,56	98,49	
7	2	2 dias	Alta	WL2	31/ago	3272,10	146,22	95,53	
8	2	2 dias	Alta	WL3	31/ago	3061,00	0,00	100,00	
9	3	2 dias	Alta	WLC	01/set	827,33	60,06	92,74	
10	3	2 dias	Alta	WL1	01/set	793,14	119,61	84,92	
11	3	2 dias	Alta	WL2	01/set	772,63	76,36	90,12	
12	3	2 dias	Alta	WL3	01/set	854,68	192,47	77,48	
13	4	2 dias	Alta	WLC	08/mar	59,13	50,30	14,93	
14	4	2 dias	Alta	WL1	08/mar	50,03	27,10	45,84	
15	4	2 dias	Alta	WL2	08/mar	54,58	26,72	51,05	
16	4	2 dias	Alta	WL3	08/mar	57,31	25,88	54,85	
17	5	2 dias	Alta	WLC	09/mar	650,78	247,94	61,90	
18	5	2 dias	Alta	WL1	09/mar	608,34	252,88	58,43	
19	5	2 dias	Alta	WL2	09/mar	608,34	114,33	81,21	
20	5	2 dias	Alta	WL3	09/mar	636,64	247,38	61,14	
21	6	2 dias	Alta	WLC	10/mar	109,92	58,28	46,98	
22	6	2 dias	Alta	WL1	10/mar	96,18	83,47	13,21	
23	6	2 dias	Alta	WL2	10/mar	89,31	59,44	33,45	
24	6	2 dias	Alta	WL3	10/mar	103,05	134,40	-30,42	
1	1	4 dias	Alta	WLC	05/set	71,91	3,07	95,73	
2	1	4 dias	Alta	WL1	05/set	38,59	0,00	100,00	
3	1	4 dias	Alta	WL2	05/set	40,34	0,00	100,00	
4	1	4 dias	Alta	WL3	05/set	45,60	0,00	100,00	
5	2	4 dias	Alta	WLC	06/set	52,12	0,74	98,58	
6	2	4 dias	Alta	WL1	06/set	86,87	0,00	100,00	
7	2	4 dias	Alta	WL2	06/set	57,92	0,00	100,00	
8	2	4 dias	Alta	WL3	06/set	50,68	0,00	100,00	
9	3	4 dias	Alta	WLC	07/set	139,84	123,92	11,39	
10	3	4 dias	Alta	WL1	07/set	161,36	294,80	-82,70	
11	3	4 dias	Alta	WL3	07/set	172,11	0,00	100,00	
12	4	4 dias	Alta	WLC	13/mar	190,42	18,65	90,21	
13	4	4 dias	Alta	WL3	13/mar	184,47	18,00	90,24	
14	5	4 dias	Alta	WLC	14/mar	134,97	14,33	89,38	
15	5	4 dias	Alta	WL1	14/mar	134,97	14,80	89,04	
16	5	4 dias	Alta	WL2	14/mar	115,69	8,48	92,67	
17	5	4 dias	Alta	WL3	14/mar	173,53	15,82	90,88	
18	6	4 dias	Alta	WLC	15/mar	121,81	11,54	90,52	
19	6	4 dias	Alta	WL1	15/mar	130,51	11,18	91,44	
20	6	4 dias	Alta	WL2	15/mar	60,90	6,57	89,22	
21	6	4 dias	Alta	WL3	15/mar	156,61	17,85	88,60	

APÊNDICE 3. Parâmetros físico-químicos analisados no esgoto sintético

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS ANALISADOS NO ESGOTO SINTÉTICO

— MATERIAIS E MÉTODOS

As análises físico-químicas tiveram como referência o “*Standard Methods – for Examination of Water and Wastewater*” (2005). Os parâmetros para avaliação da qualidade de esgoto foram definidos com base nos parâmetros mínimos que especificam a Resolução CONAMA 430/2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n.º 357/2005 do CONAMA.

O objetivo da realização das análises físico-químicas foi observar se as *wetlands* dentro do laboratório funcionariam de maneira igual ou próxima às *wetlands* construídas instaladas no campo, à luz solar. As análises de carbono orgânico dissolvido (COD) pelo método NPOC (do inglês, *Non-Purgeable Organic Carbon*, ou carbono orgânico não purgável) foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Águas (LQA) e no LRC, ambos na Embrapa Meio Ambiente. As demais análises foram realizadas no Laboratório de Saneamento da FEAGRI/UNICAMP. Na Tabela A3.1 estão descritas as metodologias que foram utilizadas para as análises.

Tabela A3.1. Parâmetros físico-químicos avaliados, metodologias e equipamentos utilizados.

PARÂMETRO	MÉTODO UTILIZADO	EQUIPAMENTO
Cor aparente	2120C – Espectrofotométrico (comprimento de onda único)	<i>Hach</i> DR-2010
Demanda química de oxigênio	5220D – Método Colorimétrico do Refluxo Fechado	Digestão: <i>Hach COD Reactor</i> Leitura: <i>Hach</i> DR-2010 ou DR-4000U
Fósforo total	4500 – PE, Método Oficial do Ácido Ascórbico	Digestão: bloco <i>Marconi</i> Micro – MA 850/16 Leitura: <i>Hach</i> DR-4000U
Nitrato	Método 8039 (<i>Powder Pillows or AccuVac® Ampuls</i>)	<i>Hach</i> DR-2010 ou DR-4000U
Nitrito	Método 8153 (<i>Powder Pillows</i>)	<i>Hach</i> DR-2010 ou DR-4000U
Nitrogênio amoniacal	Método 4500 – <i>Nitrogen (Organic)</i>	Destilador <i>Marconi</i> (MA-036)
Nitrogênio total Kjeldahl	Método 4500 – <i>Nitrogen (Organic)</i>	Digestão: bloco <i>Marconi</i> Macro – MA 850/16 Destilador <i>Marconi</i> (MA-036)
Oxigênio dissolvido	4500-O G - Método do Eletrodo com Membrana	Oxímetro <i>Starter 300D</i>
pH	4500-H ⁺ B - Método Eletrométrico	pHmetro <i>Digimed</i> DM 20 ou DM22
Sólidos totais, fixos e voláteis	2540 - Sólidos	Estufa <i>Fanem</i> 515A Mufla <i>COEL</i> Banho-maria <i>Quimis</i> ou <i>Nova ética</i> 314/6
Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis	2540 - Sólidos	Estufa <i>Fanem</i> 515A Mufla <i>COEL</i> Bomba a vácuo <i>Primatec</i> M131
Temperatura	2550B – Laboratórios e métodos de campo	Oxímetro <i>Starter 300D</i>
Turbidez	-----	Turbidímetro <i>Hach</i> 2100AN
Carbono orgânico dissolvido (COD)	NPOC - <i>Non-Purgeable Organic Carbon</i>	TOC-L CPN e TOC-V CPN, ambos da <i>Shimadzu</i> .

▪ RESULTADOS E DISCUSSÃO

— pH

Na Tabela A3.2. estão apresentados os pHs médios de entrada e saída no sistema durante o período de monitoramento, onde observa-se que todos pHs de saída ficaram entre 7,0 e 8,0. É possível observar também que as *wetlands* agiram como um tampão no pH, levando o pH levemente ácido da entrada para a neutralidade.

O padrão de lançamento de efluentes de acordo com a Resolução CONAMA 430/2011 é pH de 5,0 à 9,0, sendo assim o esgoto de saída das *wetlands* atende este padrão.

Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.2. pH médios, mínimos e máximos no esgoto sintético.

Entrada (mg.L⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	6,3	3,8	7,6
	4	7,0	6,6	7,6
Saída (mg.L⁻¹)				
WLC	2	7,6	7,4	7,7
	4	7,7	7,6	7,8
WL1	2	7,6	7,5	7,7
	4	7,6	7,4	7,8
WL2	2	7,4	6,9	7,7
	4	7,6	7,3	8,0
WL3	2	7,4	7,1	7,6
	4	7,7	7,6	7,8

Tratando esgoto proveniente de tratamento secundário de ETE por diferentes configurações de *wetlands*, He *et al.* (2018a) obtiveram pH variando de 6,4 à 7,1. Lv *et al.* (2017) relataram pH variando de 8,1 à 9,0 em *wetlands* saturadas e não saturadas, com e sem macrófitas (diferentes das utilizadas neste estudo), tratando esgoto sintético em escala de bancada.

A análise de variância utilizou resultados de diferença de pH, para verificar se o aumento do pH na saída do sistema tinha influência dos fatores. O delineamento fatorial obteve R² de 7,04% e p-valores não significantes a nível 5% (> 0,05), sendo assim o aumento de pH não sofreu influência do TDH e *wetlands* em seus resultados.

— Oxigênio dissolvido (OD)

Os resultados de oxigênio dissolvido foram muito bons, pois é possível observar na Tabela A3.3. que as concentrações médias de saída do sistema são maiores que as concentrações médias da entrada. Além disso, as concentrações médias da *wetland* controle são menores do que nas *wetlands* plantadas, o que sugere que o aumento do OD na saída do sistema pode ser ocasionado pela transferência de oxigênio da atmosfera para os rizomas das macrófitas. Lv *et al.* (2017) também observaram maiores concentrações de OD nas *wetlands* plantadas do que nas não plantadas.

A concentração média de OD na entrada com TDH de 2 dias foi 2,8 mg.L⁻¹, e com

TDH de 4 dias foi 0,7 mg.L⁻¹. A maior média de saída ocorreu para WL1 com TDH de 2 dias (5,7 mg.L⁻¹), enquanto o valor mínimo de saída ocorreu em WL2 e TDH de 4 dias (0,1 mg.L⁻¹). O valor máximo de saída aconteceu em WLC com TDH de 2 dias, 6,6 mg.L⁻¹. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.3. Concentrações médias, mínimas e máximas de OD com suas respectivas temperaturas.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.L ⁻¹)			Temperatura (°C)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	2,8	0,03	6,55	24,5	22,50	25,80
	4	0,7	0,02	2,81	26,7	24,20	29,40
		Saída (mg.L ⁻¹)			Temperatura (°C)		
WLC	2	5,2	4,7	6,6	25,7	22,5	29,0
	4	4,5	3,6	5,4	26,2	23,4	29,9
WL1	2	5,7	5,0	6,6	26,0	23,5	28,8
	4	4,7	3,6	5,3	26,7	24,1	28,9
WL2	2	3,2	0,2	5,2	26,8	23,5	29,2
	4	4,4	0,1	6,2	26,6	22,6	30,2
WL3	2	4,2	2,8	5,4	27,9	25,9	29,1
	4	4,5	3,3	5,7	26,9	23,1	30,2

He *et al.* (2018a) relataram concentrações de oxigênio dissolvido variando de 1,2 à 16,2 mg.L⁻¹ no tratamento por *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis*. Lv *et al.* (2017) obtiveram maiores concentrações de OD do que neste estudo, variando de 2,4 mg.L⁻¹ no afluente à 7,5 mg.L⁻¹ no efluente de uma *wetland* cultivada com *Juncus*.

A análise de variância utilizou resultados de diferença de OD, para verificar se o aumento do oxigênio dissolvido na saída do sistema sofria influência dos fatores. O oxigênio dissolvido também não foi influenciado pela ação do TDH e das *wetlands* nos resultados da coleta de dados com nível de significância 5%, pois os p-valores são maiores do que 0,05. O R² mostra que o modelo explicou 10,83% dos resultados.

— Cor aparente

Na Tabela A3.4. estão apresentados os resultados médios, mínimos e máximos de cor aparente na entrada e saída das *wetlands*, onde é possível observar que a menor média de saída ocorreu para WLC com TDH de 4 dias (96 mg.L⁻¹ PtCo). As maiores médias de saída de cor ocorreram para a *wetland* não plantada, com 114 mg.L⁻¹ PtCo no TDH de 4 dias e 172 mg.L⁻¹ PtCo no TDH de 2 dias; a menor média de saída também ocorreu para WL2 com 56

mg.L⁻¹ PtCo e TDH de 4 dias, assim como o maior resultado de saída com TDH de 4 dias e concentração de 264 mg.L⁻¹ PtCo. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.4. Valores médios, máximos e mínimos de entrada e saída de cor aparente.

Entrada (mg.L ⁻¹ PtCo)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	743	539	935
	4	1028	685	1340
Saída (mg.L ⁻¹ PtCo)				
WLC	2	144	89	185
	4	96	58	153
WL1	2	131	99	161
	4	109	76	173
WL2	2	172	68	258
	4	114	56	264
WL3	2	131	92	164
	4	97	78	143

Na Tabela A3.5. estão apresentadas as retenções mínimas, médias e máximas de cor aparente pelas *wetlands*, onde observa-se que a maior média de retenção ocorreu para WLC com TDH de 4 dias (90,5%), ressaltando mais uma vez a influência positiva do carvão como meio suporte; a máxima retenção ocorreu para as mesmas condições com 94,2% de retenção de cor aparente. A mínima retenção foi mais uma vez em WL2 com TDH de 2 dias (55,7%), evidenciando a influência positiva das macrófitas na retenção de alguns poluentes.

Tabela A3.5. Retenções médias, mínimas e máximas de cor aparente pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	80,0	70,1	88,8
	4	90,5	87,0	94,2
WL1	2	81,8	77,2	87,3
	4	89,3	84,2	93,2
WL2	2	74,0	55,7	92,7
	4	89,5	80,3	93,1
WL3	2	81,3	71,9	87,5
	4	90,0	85,8	93,8

A análise estatística para taxas de retenção de concentração de cor aparente mostrou que a ANOVA tem modelo de retenção significativa (p-valor < 0,001), considerando

principalmente o fator TDH a nível 5% (p-valor < 0,001). As *wetlands* foram consideradas semelhantes (p-valor = 0,908). O modelo explicou 47,23% (R²) das retenções de cor aparente. A maior eficiência de retenção ocorreu com o TDH de 4 dias com nível 5% no teste de Tukey (p-valor < 0,001).

Na Tabela A3.6. estão apresentadas as cargas médias de entrada e saída de cor aparente nas quatro *wetlands* com TDH de 2 e 4 dias, onde observa-se que a média de entrada variou de 4242 mg.dia⁻¹ (WL2 com TDH = 4 dias) à 6856 mg.dia⁻¹ (WL3 com TDH = 2 dias), as mínimas variaram de 1381 mg.dia⁻¹ (WL2 com TDH = 4 dias) à 4851 mg.dia⁻¹ (WL3 com TDH = 2 dias), e as máximas foram 5789 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias, à 9461 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias.

Tabela A3.6. Cargas médias, mínimas e máximas de cor aparente no período de estudo.

<i>Wetland</i>	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹ PtCo)			Saída (mg.dia ⁻¹ PtCo)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	6406	4696	8752	1094	711	1419
	4	5108	2762	6689	311	158	529
WL1	2	6298	4502	8080	783	531	1011
	4	5087	2959	9461	298	125	557
WL2	2	5970	4205	8078	1283	441	2229
	4	4242	1381	6689	394	124	1242
WL3	2	6856	4851	8482	1080	786	1724
	4	4592	3197	5789	299	124	412

Quanto aos valores de saída, a menor média e os menores valores mínimos e máximos ocorreram para WL3 com 299, 124 e 412 mg.dia⁻¹, respectivamente, e WL2 obteve valor mínimo idêntico ao de WL3. A maior média e o maior valor máximo foram para a *wetland* não plantada, com 1283 e 2229 mg.dia⁻¹, respectivamente.

As retenções médias, mínimas e máximas para carga de cor aparente nas *wetlands* com TDH de 2 e 4 dias estão apresentadas na Tabela A3.7. Como no caso de outros parâmetros estudados, a maior média de retenção de carga de cor aparente ocorreu em WLC (93,6%) e a menor média de retenção em WL2 (74,3%). A mínima retenção foi 58,4% para WL2 com TDH de 2 dias, e a máxima foi 98,7% com TDH de 4 dias.

Tabela A3.7. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção de cor aparente pelas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	82,2	75,3	90,1
	4	93,6	90,3	97,2
WL1	2	87,1	83,0	93,0
	4	93,1	88,8	98,7
WL2	2	74,3	58,4	94,5
	4	91,4	81,4	97,7
WL3	2	83,2	73,0	90,7
	4	93,0	88,4	97,0

A análise de variância das médias de retenção de carga de cor aparente resultou em um modelo significativo (p -valor = 0,001), sendo que o TDH foi o fator que mais contribuiu para os resultados (p -valor < 0,001), e o R^2 explicou 46,48% dos resultados de retenção de cor aparente. O teste de Tukey mostrou que o TDH de 4 dias foi mais eficiente na retenção de cor aparente (p -valor < 0,001).

— Turbidez

Os valores médios, mínimos e máximos obtidos de entrada e saída de turbidez com TDH de 2 e 4 dias, estão apresentados na Tabela A3.8., onde é possível observar que a turbidez na entrada variou de 28,1 à 74,9 NTU. Na saída do sistema a média de turbidez variou de 6,6 NTU em WL3 com TDH de 4 dias, à 14,3 NTU em WLC também com TDH de 4 dias. Pela primeira vez WL2 apresentou o mínimo valor de saída, com 3,4 NTU no TDH de 4 dias, o que pode indicar que as raízes das macrófitas podem aumentar os valores de turbidez do sistema. Também pela primeira vez o valor máximo de saída ocorreu para WLC com TDH de 4 dias (50,9 NTU), o que pode significar que o carvão de bambu aumentou os resultados de turbidez no esgoto sintético na saída do sistema. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.8. Valores médios, máximos e mínimos de entrada e saída de turbidez.

Entrada (NTU)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	41,1	28,1	74,9
	4	57,8	39,6	71,1
Saída (NTU)				
WLC	2	8,4	4,9	11,5
	4	14,3	4,2	50,9
WL1	2	9,2	5,6	13,4
	4	7,3	4,3	13,4
WL2	2	9,5	5,1	13,2
	4	7,1	3,4	14,6
WL3	2	9,0	5,8	19,7
	4	6,6	3,9	9,5

Na Tabela A3.9. observam-se as retenções médias, mínimas e máximas de turbidez no período de monitoramento. A maior e menor média de retenção ocorreu em WL2 (72,8 e 88,1%), enquanto a mínima aconteceu em WLC (18,9%) e a máxima em WL3 (94,0%).

Tabela A3.9. Retenções médias, mínimas e máximas de turbidez pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	77,4	65,0	87,4
	4	76,4	18,9	91,1
WL1	2	76,0	67,0	85,4
	4	87,4	78,7	91,1
WL2	2	72,8	55,9	92,3
	4	88,1	79,5	93,7
WL3	2	74,1	29,9	90,3
	4	87,6	79,2	94,0

A análise estatística para turbidez não resultou em um modelo significativo (p-valor = 0,051), mas sofreu influência do TDH em seus resultados com nível 5% de confiança (p-valor = 0,001). As *wetlands* possuíam desempenho parecido a nível 5% (p-valor = 0,912), e o modelo explicou apenas 28,12% (R^2) dos resultados. A maior eficiência de retenção ocorreu com o TDH de 4 dias com nível 5% no teste de Tukey (p-valor < 0,001).

— Carbono orgânico dissolvido (COD)

Na Tabela A3.10. estão apresentadas as concentrações médias, mínimas e

máximas de entrada e saída de carbono orgânico dissolvido nas *wetlands* no período de monitoramento, com TDH de 2 e 4 dias. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.10. Concentrações médias, máximas e mínimas de entrada e saída de carbono orgânico dissolvido.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	92,8	23,5	193,8
	4	79,6	53,4	135,2
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	23,0	8,7	45,3
	4	24,9	9,5	37,7
WL1	2	28,9	8,6	66,9
	4	26,7	10,3	41,0
WL2	2	31,0	10,2	68,3
	4	32,5	27,0	39,4
WL3	2	35,7	12,0	67,4
	4	26,9	11,3	34,1

É possível observar na tabela acima que a média de entrada no sistema foi maior que na saída, e que o menor valor médio obtido na saída foi para WLC com TDH de 2 dias (23,0 mg.L⁻¹). Observa-se também que o mínimo valor obtido na saída foi para WL1 com TDH de 2 dias (8,6 mg.L⁻¹), bem próximo ao mínimo valor de saída para WLC (8,7 mg.L⁻¹) que como nos resultados de interferentes endócrinos, WLC também tem se mostrado eficiente na retenção de COD, provavelmente pela maior quantidade de micro-organismos e macrófitas. O máximo valor na saída ocorreu para WL2 com 68,3 mg.L⁻¹, assim como os valores mínimos de saída foram maiores em WL2 do que nas demais *wetlands*, evidenciando a influência positiva das macrófitas neste tipo de sistema.

Os valores médios, máximos e mínimos de retenção de carbono orgânico dissolvido são apresentados na Tabela A3.11., onde é possível observar que a maior média de retenção ocorreu em WLC (65,6%) com TDH de 2 dias, assim como a máxima retenção com 94,1% (TDH = 2 dias), ressaltando a influência positiva do carvão de bambu na eficiência. Como era esperado, a retenção mínima ocorreu para a *wetland* sem macrófita (20,1%) também com TDH de 2 dias, porém a menor média de retenção foi obtida por WL3 (49,9%) e TDH de 2 dias, a *wetland* cultivada com *Eichhornia crassipes*.

Tabela A3.11. Retenções médias, mínimas e máximas de COD pelas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	65,6	47,0	94,1
	4	63,2	29,5	87,8
WL1	2	57,6	21,7	93,5
	4	60,7	23,3	90,2
WL2	2	58,3	20,1	87,1
	4	53,5	26,2	78,0
WL3	2	49,9	21,2	93,8
	4	62,0	36,3	82,5

Melhor remoção de matéria orgânica em um biorreator de membrana anaeróbia com adição de carvão de bambu (comparado a um reator sem carvão de bambu) foi relatada por Xia *et al.* (2016).

A ANOVA do delineamento fatorial de COD obteve R^2 muito baixo (4,4%), o que resultou em um modelo não significativo a nível 5%. Os fatores TDH e tipos de *wetlands*, bem como sua interação também não foram significantes pois todos obtiveram p-valor $> 0,05$, não havendo diferença entre os tratamentos e fatores estudados. Sendo assim, o TDH e tipo de *wetlands* não tiveram influência sobre a retenção de COD.

As cargas de carbono orgânico dissolvido também foram calculadas e analisadas, na Tabela A3.12. estão apresentadas as cargas de entrada e de saída máximas, médias e mínimas. Observa-se que a maior média de entrada ocorreu para WL1 com TDH de 2 dias (894 mg.dia^{-1}), enquanto o valor mínimo de entrada ocorreu para WL2 com TDH de 4 dias (117 mg.dia^{-1}). A carga máxima de entrada aconteceu em WL3 com TDH de 2 dias (1744 mg.dia^{-1}). Quanto às cargas de saída é possível observar que a menor média ocorreu em WL1 com TDH de 4 dias (74 mg.dia^{-1}), no entanto o menor valor de saída ocorreu em WLC com TDH 4 dias (27 mg.dia^{-1}). Já a carga máxima de saída se deu para WL3 com TDH de 2 dias (533 mg.dia^{-1}).

Tabela A3.12. Cargas médias, mínimas e máximas de carbono orgânico dissolvido no período de estudo.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	795	196	1688	177	60	346
	4	390	234	798	83	27	146
WL1	2	894	402	1619	186	59	328
	4	343	251	428	74	43	112
WL2	2	806	216	1577	212	88	443
	4	316	117	448	92	69	127
WL3	2	880	199	1744	295	94	533
	4	344	239	506	100	40	134

Na Tabela A3.13. pode-se observar que a maior média de retenção ocorreu para WL1 com TDH de 4 dias (77,9%), e que a mínima retenção foi encontrada também para WL1 com TDH de 2 dias (31,8%). A máxima retenção foi mais uma vez para WL1 e TDH de 2 dias, com 96,4%. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.13. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção de carbono orgânico dissolvido pelas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	69,9	53,2	94,6
	4	75,9	47,1	91,9
WL1	2	68,0	31,8	96,4
	4	77,9	70,1	85,2
WL2	2	68,7	40,1	87,6
	4	64,7	41,2	79,9
WL3	2	55,6	33,5	94,6
	4	68,4	45,2	84,9

Analisando estatisticamente as cargas, como no caso da concentração, o COD não possuiu modelo ou fatores significantes a nível 5% (p-valor > 0,05), e os resultados foram explicados apenas 10,1% (R²) pelos fatores. Não foram encontrados dados na literatura analisando cargas de carbono orgânico dissolvido, por isso não foi possível realizar comparações.

– Demanda química de oxigênio (DQO)

As concentrações médias, máximas e mínimas de demanda química de oxigênio estão apresentadas na Tabela A3.14., onde observa-se que as concentrações de entrada variaram de 317 à 865 mg.L⁻¹, e as médias de saída variaram de 93 mg.L⁻¹ (WL1, TDH = 4 dias) à 170 mg.L⁻¹ (WL2, TDH = 2 dias). A mínima concentração observada foi 27 mg.L⁻¹ em WL2 e TDH de 2 dias, e a máxima foi de 295 mg.L⁻¹ e TDH de 2 dias. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.14. Concentrações médias, máximas e mínimas de entrada e saída de demanda química de oxigênio.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	582	406	835
	4	566	317	865
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	122	59	210
	4	104	59	155
WL1	2	114	62	230
	4	93	45	141
WL2	2	170	27	265
	4	145	89	185
WL3	2	141	50	295
	4	105	40	175

Na Tabela A3.15. são apresentadas as retenções mínimas, médias e máximas de concentração de DQO no período de monitoramento, com TDH de 2 e 4 dias. Observa-se que a melhor eficiência média de retenção ocorreu para WL1 com TDH de 4 dias (82,4%), e a menor média em WL2 com 71,3% (TDH de 2 dias). A mínima retenção ocorreu para WL2 nas mesmas condições citadas anteriormente com 45,5%, e a melhor eficiência de retenção foi em WL3 com TDH de 4 dias (93,5%). A ANOVA do delineamento fatorial para retenção de concentração de DQO não obteve modelo e nenhum outro fator significativo a nível 5% de confiança, e o R² de apenas 10,61% foi muito baixo, significando que a retenção de DQO não foi afetada pelo tipo de *wetland* ou TDH.

Tabela A3.15. Retenções médias, mínimas e máximas de DQO pelas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	78,1	52,4	86,3
	4	79,9	66,9	88,6
WL1	2	78,7	47,8	89,9
	4	82,4	69,8	92,7
WL2	2	71,3	45,5	93,3
	4	72,8	62,1	81,5
WL3	2	75,7	56,9	87,8
	4	81,4	76,2	93,5

He *et al.* (2018a) em diferentes configurações de *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis*, realizando tratamento terciário de esgoto proveniente de ETE, obtiveram remoções de DQO variando de -11% (acúmulo) à 26%, inferiores às obtidas neste estudo. As concentrações de DQO nos sistemas variaram de 14.7 (± 4.1 mg.L⁻¹) à 35.3 (± 0.8 mg.L⁻¹), consideravelmente inferiores às trabalhadas neste estudo.

As cargas médias, mínimas e máximas de entrada e saída de DQO são apresentadas na Tabela A3.16., onde observa-se que a média de entrada variou de 2474 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias, à 5422 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias. A mínima carga na entrada ocorreu em WL2 com TDH de 4 dias (764 mg.dia⁻¹) e a máxima ocorreu em WL3 com TDH de 2 dias (7551 mg.dia⁻¹). Na saída as médias variaram de 242 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias à 1250 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 2 dias. As mínimas cargas na saída ocorreram para WL1 e WL3, ambas com TDH de 4 dias, ambas com 86 mg.dia⁻¹, enquanto a máxima também ocorreu para WL3 de 3101 mg.dia⁻¹, porém com TDH de 2 dias.

Tabela A3.16. Cargas médias, mínimas e máximas de demanda química de oxigênio no período estudado.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	4968	3681	7275	939	479	1572
	4	2872	1460	5107	335	164	460
WL1	2	4710	3046	6974	721	357	1490
	4	3026	1369	6523	242	86	570
WL2	2	5065	3508	6794	1250	176	2213
	4	2474	764	4349	438	181	870
WL3	2	5422	3684	7551	1238	309	3101
	4	2520	1369	3805	316	86	636

Como no caso da ANOVA aplicada para concentração de DQO, a retenção de cargas de DQO não foi influenciada pelo TDH ou *wetlands* a nível 5%, e o modelo explicou apenas 13,95% (R^2) dos resultados coletados.

As retenções médias, mínimas e máximas de carga de DQO são apresentadas na Tabela A3.17., onde é possível observar que a maior média e máxima retenção observada ocorreram para WL1 com TDH de 4 dias, com 89,5 e 98,7%, respectivamente. A mínima retenção encontrada foi para WL1 com TDH de 2 dias (51,1%) e a menor média ocorreu para WL2 com TDH de 2 dias (77,0%).

Tabela A3.17. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção de demanda química de oxigênio pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	80,2	57,3	88,6
	4	85,6	68,5	94,9
WL1	2	81,8	51,1	90,4
	4	89,5	79,2	98,7
WL2	2	77,0	55,4	95,0
	4	80,1	71,7	92,2
WL3	2	78,2	58,9	91,6
	4	86,7	79,5	94,7

— Sólidos totais, fixos e voláteis

As concentrações médias de sólidos totais, fixos e voláteis estão apresentadas na Tabela A3.18. São apresentados apenas os valores médios desses parâmetros porque não houve grande diferença entre os valores médios, máximos e mínimos. Observa-se que as médias de concentração de entrada só diferiram para sólidos voláteis, sendo que com TDH de 4 dias a concentração foi $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ menor, provavelmente pela matéria orgânica ter degradado no reservatório antes de entrar na *wetland*, ou por parte destes sólidos voláteis serem sedimentáveis e com TDH de 4 dias terem sedimentado no reservatório.

Tabela A3.18. Concentrações médias de entrada e saída de sólidos totais, fixos e voláteis nas *wetlands*.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Sólidos totais	Sólidos fixos	Sólidos voláteis
Todas	2	0,4	0,2	0,3
	4	0,4	0,2	0,2
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	0,3	0,2	0,1
	4	0,3	0,2	0,1
WL1	2	0,4	0,2	0,1
	4	0,3	0,2	0,1
WL2	2	0,3	0,2	0,1
	4	0,3	0,2	0,1
WL3	2	0,3	0,2	0,1
	4	0,3	0,2	0,1

Quanto aos valores de saída só houve diferença em WL1 (sólidos totais), também no TDH de 4 dias com concentração 0,1 mg.L⁻¹ menor que no TDH de 2 dias (Tabela A3.18.) – os fatores que causaram esta diminuição na concentração de saída provavelmente são os mesmos citados anteriormente. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Na Tabela A3.19. estão apresentadas as retenções médias de sólidos totais, fixos e voláteis, onde observa-se que as maiores retenções foram de sólidos voláteis, o que significa que o esgoto sintético possuía maior fração orgânica. A máxima retenção de sólidos voláteis ocorreu para WLC com TDH de 4 dias, e a mínima em WL2 com TDH de 2 dias, destacando a influência positiva na retenção proporcionada pelo carvão de bambu, pelas macrófitas e pelo TDH de 4 dias no aumento da retenção de matéria orgânica no esgoto.

Quanto aos sólidos fixos a maior média de retenção ocorreu para WL2 com TDH de 4 dias, com apenas 0,6% de retenção; todos os demais resultados foram negativos gerando um acúmulo de sólidos fixo na saída do sistema, sendo o menor deles de -33,2% em WL1 com TDH de 2 dias. Provavelmente o aumento de sólidos fixos na saída pode ter sido ocasionado por um arraste de impurezas dos meios suporte. A taxa máxima de retenção de sólidos totais também ocorreu em WLC com TDH de 4 dias (39,8%) e a mínima em WL1 com TDH de 2 dias (12,6%), como a mínima retenção de sólidos fixos.

Tabela A3.19. Retenções médias de sólidos totais, fixos e voláteis pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Sólidos totais	Sólidos fixos	Sólidos voláteis
WLC	2	31,0	-20,0	66,8
	4	39,8	-3,0	75,2
WL1	2	12,6	-33,2	52,0
	4	35,2	-8,2	69,8
WL2	2	17,9	-31,1	46,6
	4	35,7	0,6	63,6
WL3	2	23,4	-20,1	52,7
	4	32,7	-4,6	61,6

Analisando estatisticamente, a retenção de sólidos totais foi explicada por apenas 15,95% (R^2) e a de sólidos voláteis por 15,69% (R^2) pelos fatores TDH e *wetlands*, não obtendo em ambos parâmetros modelo nem fatores significativos a nível 5% de confiança. O modelo estatístico para retenção de sólidos fixos foi significativo (p -valor = 0,041) sendo o TDH o fator significativo no modelo (p -valor = 0,001) a nível 5% de significância, e os fatores explicaram 32,4% dos resultados. No teste de Tukey o TDH de 4 dias foi o mais eficiente na retenção, com p -valor < 0,001 a nível 5% de confiança.

Analisando as cargas de sólidos totais, fixos e voláteis observa-se na Tabela 71 que as menores médias de retenção ocorreram para WL2 com TDH de 4 dias na entrada para sólidos totais ($1,80 \text{ mg.dia}^{-1}$), sólidos fixos ($0,83 \text{ mg.dia}^{-1}$) e sólidos voláteis ($0,97 \text{ mg.dia}^{-1}$), e na saída do sistema para sólidos totais ($0,82 \text{ mg.dia}^{-1}$, igual em WL1 e TDH de 4 dias) e sólidos fixos ($0,55 \text{ mg.dia}^{-1}$).

As maiores cargas na entrada ocorreram para WL3 com TDH de 2 dias para sólidos totais ($4,23 \text{ mg.dia}^{-1}$) e sólidos fixos ($1,63 \text{ mg.dia}^{-1}$), e na saída para sólidos totais ($2,97 \text{ mg.dia}^{-1}$) e sólidos fixos ($1,74 \text{ mg.dia}^{-1}$). A maior média de retenção na entrada para sólidos voláteis foi de $2,60 \text{ mg.dia}^{-1}$ em WL1 com TDH de 2 dias, e na saída para WL2 e TDH de 2 dias ($1,13 \text{ mg.dia}^{-1}$), de acordo com Tabela A3.20.

Tabela A3.20. Cargas médias, mínimas e máximas de sólidos totais, fixos e voláteis no período estudado.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		S. totais	S. fixos	S. voláteis	S. totais	S. fixos	S. voláteis
WLC	2	3,65	1,50	2,15	2,19	1,60	0,58
	4	2,13	0,94	1,18	0,84	0,66	0,18
WL1	2	4,07	1,47	2,60	2,13	1,37	0,66
	4	2,29	1,03	1,26	0,82	0,62	0,20
WL2	2	3,50	1,46	2,05	2,64	1,72	1,13
	4	1,80	0,83	0,97	0,82	0,55	0,27
WL3	2	4,23	1,63	2,44	2,97	1,74	0,90
	4	1,96	0,87	1,08	0,91	0,65	0,26

As retenções médias para sólidos totais, fixos e voláteis estão apresentadas na Tabela A3.21. onde, como no caso das retenções de concentração, as maiores taxas ocorreram para sólidos voláteis variando da média mínima de 39,3% em WL2 com TDH de 2 dias, até a média máxima de 83,0% em WLC com TDH de 4 dias. As médias mais baixas de retenções ocorreram em WL2 com TDH de 2 dias com 23,9% para sólidos totais, e acúmulo de 21,6% (-21,6%) de sólidos fixos. Da mesma maneira as médias máximas de retenções foram em WLC com TDH de 4 dias com 56,8% para sólidos totais, e 27,0% para sólidos fixos. As retenções de cargas de sólidos fixos foram mais elevadas que as de concentração, pois se observa menores valores negativos.

Tabela A3.21. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção de sólidos totais, fixos e voláteis pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Sólidos totais	Sólidos fixos	Sólidos voláteis
WLC	2	38,8	-7,9	70,6
	4	56,8	27,0	83,0
WL1	2	49,9	4,4	78,0
	4	51,8	22,4	77,5
WL2	2	23,9	-21,6	39,3
	4	48,2	24,7	68,7
WL3	2	24,4	-6,3	62,2
	4	50,2	22,3	72,0

A análise estatística resultou que os sólidos totais foram retidos sob influência do TDH principalmente (p-valor = 0,045), enquanto o modelo não foi significativo a nível 5% (p-valor = 0,342) e explicou apenas 21,07% (R²) das retenções obtidas. Pelo teste de Tukey o

TDH de 4 dias foi mais significativa na retenção do parâmetro (p-valor = 0,028), a nível 5% de significância.

O mesmo aconteceu para sólidos fixos, que não obteve modelo significativo (p-valor = 0,249) explicando apenas 23,14% (R^2) dos dados coletados. O TDH foi significativo a nível 5% na análise de variância realizada (p-valor 0,010), e o teste de Tukey mostrou que o TDH de 4 dias foi o mais eficiente (p-valor = 0,006). Para sólidos voláteis nem o modelo (p-valor = 0,662), nem o TDH (p-valor = 0,166), nem as *wetlands* (p-valor = 0,486) foram significantes a nível 5% de confiança, e o R^2 obtido foi de apenas 14,25%.

— Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis

Estão descritas na Tabela A3.22. as concentrações médias de entrada e saída de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis nas *wetlands*, onde observa-se que a maior concentração média de saída de sólidos suspensos totais (SST) ocorreu para a *wetland* não plantada com TDH de 2 dias (0,03 mg.L⁻¹). A menor concentração média de saída foi 0,01 mg.L⁻¹ e ocorreu para todas as *wetlands* com TDH de 4 dias; é possível observar que as concentrações de SST são bem maiores que dos demais sólidos.

Para sólidos suspensos fixos (SSF) a menor concentração de saída foi 0,00 mg.L⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias, e a maior em WL1 com TDH de 2 dias (0,008 mg.L⁻¹). Nos sólidos suspensos voláteis (SSV) as menores concentrações médias de saída ocorreram para WL1 e WL3 com TDH de 4 dias (0,007 mg.L⁻¹) e a maior média em WL2 com TDH de 2 dias (0,022 mg.L⁻¹). É possível observar que após SST, as maiores concentrações de sólidos ocorreram para SSV. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.22. Concentrações médias de entrada e saída de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis nas *wetlands*.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	SST*	SSF*	SSV*
Todas	2	0,07	0,02	0,06
	4	0,14	0,01	0,13
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	0,02	0,005	0,012
	4	0,01	0,004	0,009
WL1	2	0,02	0,008	0,009
	4	0,01	0,000	0,007
WL2	2	0,03	0,005	0,022
	4	0,01	0,004	0,011
WL3	2	0,02	0,005	0,011
	4	0,01	0,003	0,007

*SST = sólidos suspensos totais; SSF = sólidos suspensos fixos e SSV = sólidos suspensos voláteis

Analisando estatisticamente, os sólidos suspensos totais produziram um modelo significativo a nível 5% (p-valor < 0,001) com dois fatores significativos: TDH (p-valor < 0,001) e *wetlands* (p-valor = 0,030), que explicaram 76,03% (R²) dos resultados de retenção. Não houve interação entre os fatores. Nas comparações múltiplas de Tukey o TDH de 4 dias gerou resultados com maior eficiência (p-valor < 0,001), enquanto WL1 foi mais eficiente na retenção do que WL2 (p-valor = 0,034), contudo, WL1 foi semelhante em desempenho em relação a WL3 e WLC.

Os sólidos suspensos fixos apresentaram o TDH como fator significativo (p-valor = 0,032), contudo o modelo por inteiro não tem p-valor significativo (p-valor = 0,364). O R² foi de 24,41%, e o TDH de 4 dias foi o mais eficiente (p-valor = 0,030) de acordo com o teste de Tukey. Para sólidos suspensos voláteis o modelo foi significativo (p-valor = 0,04) e o TDH (p-valor < 0,01), sendo o de 4 dias mais eficiente (p-valor < 0,001) no teste de Tukey. O modelo explicou 53,46% (R²) dos resultados de retenção obtidos.

Na Tabela A3.23. pode-se observar as retenções médias de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis para as *wetlands* com TDH de 2 e 4 dias. As retenções médias dos três diferentes sólidos suspensos foram altas e positivas, quando comparado aos sólidos totais, fixos e voláteis, o que reforça o fato das *wetlands* funcionarem como um filtro biológico. A mínima média de retenção para SST foi de 58,7% em WL2 com TDH de 2 dias, e a máxima foi 95,8% em WL1 com TDH de 4 dias. A mínima retenção de SSF foi em WL2 com TDH de 2 dias (28,9%) e a média máxima ocorreu em WL1 com TDH de 4 dias (98,0%). Já para SSV

a menor média de retenção ocorreu também para WL2 com TDH de 2 dias (62,5%) e a máxima em WL3 com TDH de 4 dias (95,6%).

Tabela A3.23. Retenções médias de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	SST*	SSF*	SSV*
WLC	2	75,8	45,3	76,9
	4	89,9	53,1	92,5
WL1	2	78,6	34,1	84,6
	4	95,8	98,0	95,2
WL2	2	58,7	28,9	62,5
	4	89,6	66,0	91,4
WL3	2	77,8	41,3	79,2
	4	94,2	62,0	95,6

*SST = sólidos suspensos totais; SSF = sólidos suspensos fixos e SSV = sólidos suspensos voláteis

Na Tabela A3.24. observam-se as cargas médias de entrada e saída de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis no período de monitoramento. A média de entrada de sólidos suspensos totais (SST) variou de 0,55 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 2 dias, à 0,80 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias, e na saída variou de 0,02 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias à 0,80 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias – média igual da entrada do sistema. Para sólidos suspensos fixos (SSF) a média de entrada variou de 0,05 mg.dia⁻¹ (em WLC, WL1 e WL3 com TDH de 4 dias) à 0,23 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 2 dias, e na saída de 0,01 mg.dia⁻¹ também em WLC, WL1 e WL3 com TDH de 4 dias, à 0,07 em WL1 com TDH de 4 dias. Para sólidos suspensos voláteis a média de entrada variou de 0,46 mg.dia⁻¹ em WLC com TDH de 2 dias à 0,73 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias (sendo este mesmo valor também a maior média de saída obtida), e na saída o menor valor foi 0,02 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias.

Tabela A3.24. Cargas médias, máximas e mínimas de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis nas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		SST	SSF	SSV	SST	SSF	SSV
WLC	2	0,64	0,19	0,46	0,13	0,04	0,09
	4	0,74	0,05	0,68	0,04	0,01	0,03
WL1	2	0,71	0,23	0,49	0,08	0,06	0,04
	4	0,80	0,07	0,73	0,80	0,07	0,73
WL2	2	0,55	0,07	0,49	0,23	0,04	0,18
	4	0,64	0,05	0,58	0,05	0,01	0,04
WL3	2	0,71	0,21	0,51	0,14	0,05	0,09
	4	0,65	0,05	0,60	0,02	0,01	0,02

As retenções médias de entrada e saída de SST, SSF e SSV estão apresentadas na Tabela A3.25. onde observa-se que a média mínima de retenção de SST ocorreu para WL2 com TDH de 2 dias (58,7%), e a máxima para WL1 com TDH de 4 dias (98,0%). Como em SST, as médias mínimas e máximas de retenção para SSF e SSV ocorreram para as mesmas *wetlands* e TDH. As mínimas ocorreram em WL2 com TDH de 2 dias e foram 24,3% (SSF) e 63,7% (SSV), já as máximas ocorreram para WL1 com TDH de 4 dias sendo 99,8% (SSF) e 97,1% (SSV).

Tabela A3.25. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção de sólidos suspensos totais, fixos e voláteis.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		SST	SSF	SSV
WLC	2	78,5	47,5	79,9
	4	93,5	65,7	95,5
WL1	2	88,1	37,9	92,9
	4	98,0	99,8	97,1
WL2	2	58,7	24,3	63,7
	4	91,0	72,2	92,5
WL3	2	79,1	41,3	81,1
	4	96,3	72,0	97,0

Os sólidos suspensos totais obtiveram modelo significante a nível 5% (p-valor < 0,001) na ANOVA, com R² denotando a boa previsibilidade do modelo se usado com outros dados, pois explicou 80,75% dos resultados. Os fatores TDH (p-valor < 0,001) e *wetlands* (p-valor = 0,003) foram significantes, contudo a interação não (p-valor = 0,480). No teste de Tukey, o TDH de 4 dias novamente produziu a melhor eficiência de retenção de SST (p-valor

< 0,001), e a WL1 foi mais eficiente do que a *wetland* de controle (p-valor = 0,002). No entanto, WL1 obteve desempenho semelhante a WL3 e a WLC a nível 5%, por essa razão não foi possível eleger uma única *wetland* com eficiência que tivesse rendimento máximo em relação às demais.

Na ANOVA para sólidos suspensos fixos o modelo não foi significativo (p-valor = 0,263), porém sua retenção foi influenciada pelo TDH (p-valor = 0,011), e o R² foi de apenas 29,47%. O teste de Tukey mostrou que o TDH de 4 dias foi melhor em eficiência de retenção, com p-valor = 0,010.

Já para sólidos suspensos voláteis o modelo foi significativo (p-valor <0,001) com R² de 66,46% explicando os resultados obtidos, assim como os fatores TDH (p-valor <0,001) e *wetlands* (p-valor = 0,032). O teste de Tukey indicou que o TDH de 4 dias foi o mais eficiente (p-valor < 0,001) e a WL1 foi melhor em eficiência se comparada a WL2 (p-valor = 0,032), no entanto WL1 continua com desempenho semelhante às outras duas *wetlands*, e por essa razão não foi adequado estabelecer interações sendo que os p-valores das comparações foram todos superiores a 0,05.

— Fósforo total (TP)

Na Tabela A3.26. são apresentadas as concentrações mínimas, médias e máximas de entrada e saída de fósforo total no período estudado, onde a entrada variou de 3,7 mg.L⁻¹ no TDH de 2 dias à 26,2 mg.L⁻¹ no TDH de 4 dias. A média de saída variou de 12,2 mg.L⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias à 15,1 mg.L⁻¹ em WLC com TDH de 4 dias, diferente dos resultados de todos os outros parâmetros onde WLC sempre possui concentrações menores que WL2. O valor mínimo de saída foi 2,7 mg.L⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias, e o máximo 19,4 mg.L⁻¹ em WL2 com TDH de 2 dias. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.26. Concentrações médias de entrada e saída de fósforo total nas *wetlands*.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	12,7	3,7	19,6
	4	17,0	11,8	26,2
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	14,4	7,4	19,0
	4	15,1	11,9	19,3
WL1	2	14,1	8,1	19,3
	4	12,9	7,9	16,3
WL2	2	14,0	7,6	19,4
	4	12,2	9,0	16,5
WL3	2	12,7	5,7	18,7
	4	12,5	2,7	18,9

As retenções mínimas, médias e máximas de fósforo total no TDH de 2 e 4 dias, estão apresentadas na Tabela A3.27. onde observa-se que a maioria das taxas de retenção foram negativas, ou seja, não houve retenção de fósforo total e sim um acúmulo do nutriente na saída do sistema. A retenção máxima ocorreu para WL3 com TDH de 4 dias com 84,8%, e a maior média de retenção foi em WL2 com TDH de 4 dias (25,7%), e observa-se que o aguapé teve maior retenção de fósforo total do que o mini-papiro. O maior acúmulo (248,5%) e maior média de acúmulo (42,9%) de fósforo total na saída do sistema ocorreu em WLC com TDH de 2 dias, o que indica que o meio suporte de carvão de bambu não teve influência positiva sobre a retenção de fósforo total.

Tabela A3.27. Retenções e acúmulos médios, mínimos e máximos de fósforo total pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	-42,9	-248,5	26,2
	4	6,2	-27,9	32,4
WL1	2	-32,3	-177,5	19,7
	4	18,5	-31,2	55,3
WL2	2	-21,5	-103,2	17,1
	4	25,7	-1,9	37,2
WL3	2	-6,9	-52,5	27,5
	4	22,2	-29,7	84,8

He *et al.* (2018a) relataram remoções médias de fósforo total de -50% (acúmulo) à 21%, semelhantes ao deste estudo. Os autores trataram esgoto após tratamento secundário em ETE por diferentes configurações de *wetlands* cultivadas com *Phragmites australis*, e as concentrações de fósforo total nos sistemas de tratamento variaram de 0,08 à 0,40 mg.L⁻¹ –

inferiores às trabalhadas neste estudo.

Lv *et al.* (2017) obtiveram melhores eficiências de retenção de concentração de fósforo total em *wetlands* com e sem macrófitas, em condições saturadas e insaturadas, tratando esgoto sintético em escala de bancada. Os autores relataram remoção mínima de 35% na *wetland* não plantada e máxima de 98% nas *wetlands* cultivadas com *Juncus*, tanto em condições saturadas como não saturadas – remoções muito maiores que as obtidas neste estudo.

A análise de variância das retenções de concentração de fósforo total não gerou modelo significativo a 5% de significância (p-valor = 0,109), com R² explicando 34,58% dos dados, no entanto o TDH foi significativo a 5% de significância (p-valor = 0,005). No teste do Tukey o TDH de 4 dias foi o mais eficiente, com p-valor = 0,004.

Os resultados de cargas de entrada e saída de fósforo total estão apresentados na Tabela A3.28., onde se observa que a entrada média variou de 77 mg.dia⁻¹ em WL2 e WL3 com TDH de 4 dias, à 113 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias. A carga mínima de entrada foi 27 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 2 dias, e a máxima foi 175 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 2 dias. Já a média de saída variou de 34 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias à 110 mg.dia⁻¹ em WLC com TDH de 2 dias, indicando mais uma vez que o carvão de bambu e as macrófitas podem não ter interferido na retenção de fósforo total. As cargas mínimas de saída ocorreram para WL1 e WL3 com TDH de 4 dias (10 mg.dia⁻¹), e a máxima em WL3 com TDH de 2 dias com 172 mg.dia⁻¹.

Tabela A3.28. Cargas médias, máximas e mínimas de entrada e saída de fósforo total nas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	109	30	169	110	60	136
	4	84	54	136	50	25	71
WL1	2	97	33	175	82	46	106
	4	97	56	227	35	10	56
WL2	2	106	27	169	104	54	167
	4	77	31	151	34	22	52
WL3	2	113	41	169	104	45	172
	4	77	53	132	38	10	57

Na análise de variância para retenção de carga de fósforo total estimou-se a nível 5% que os fatores TDH (p-valor = 0,264) e *wetlands* (p-valor = 0,598) não interferiram na retenção do nutriente. O modelo não foi significativo (p-valor = 0,784) e o R² calculado foi de

apenas 13,48%.

As retenções de carga de fósforo total estão apresentadas na Tabela A3.29. onde observa-se que, como no caso das retenções de concentração, na retenção de carga também ocorreram vários valores negativos (acúmulos). A maior média de retenção ocorreu para WL1 com TDH de 4 dias (48,6%) e a menor média ocorreu em WLC com TDH de 2 dias, um acúmulo de 31,6% (-31,6%). A mínima retenção, ou maior acúmulo, também ocorreu para WLC com TDH de 2 dias com 242,2%, enquanto a máxima retenção ocorreu em WL1 com TDH de 4 dias (95,4%).

Tabela A3.29. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção ou acúmulo de fósforo total no período monitorado.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	-31,6	-242,2	36,4
	4	31,8	-10,4	81,7
WL1	2	-13,2	-177,5	45,8
	4	48,6	26,9	95,4
WL2	2	-19,8	-135,7	37,8
	4	46,2	23,0	78,8
WL3	2	3,3	-46,5	50,2
	4	44,2	5,7	84,8

— Nitrito (NO₂.)

Na Tabela A3.30. estão apresentadas as concentrações médias, mínimas e máximas de entrada e saída de nitrito nas *wetlands*, onde é possível observar que a entrada variou de 0,0 à 7,0 mg.L⁻¹ com TDH de 4 dias, e de 2,0 à 5,0 mg.L⁻¹ com TDH de 2 dias. Na saída do sistema a média variou de 1,3 mg.L⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias, à 3,3 mg.L⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias; o valor mínimo de saída foi 0,0 mg.L⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias e WL2 com TDH de 2 dias, e o máximo foi 8,0 mg.L⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.30. Concentrações médias de entrada e saída de nitrito nas *wetlands*.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	3,3	2,0	5,0
	4	4,2	0,0	7,0
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	2,2	1,0	3,0
	4	2,5	1,0	5,0
WL1	2	2,5	1,0	4,0
	4	2,0	1,0	3,0
WL2	2	1,8	0,0	3,0
	4	3,3	1,0	8,0
WL3	2	2,0	1,0	3,0
	4	1,3	0,0	4,0

As retenções médias, mínimas e máximas de nitrito pelas *wetlands* estão apresentadas na Tabela A3.31. A menor média de retenção ocorreu em WL1 com TDH de 2 dias (26,9%) e a máxima em WL3 com TDH de 4 dias (67,1%). A mínima retenção foi na verdade um acúmulo de 25,0% (-25,0%) em WLC com TDH de 4 dias, e as máximas retenções ocorreram para WL2 com TDH de 2 dias e WL3 com TDH de 4 dias. Observa-se mais uma vez que não houve influência do carvão de bambu como meio suporte de WLC nas taxas de retenção de nitrito.

Tabela A3.31. Retenções ou acúmulos médios, mínimos e máximos de nitrito pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	33,1	0,0	66,7
	4	37,1	-25,0	85,7
WL1	2	26,9	0,0	66,7
	4	54,3	25,0	75,0
WL2	2	46,9	0,0	100,0
	4	48,8	0,0	85,7
WL3	2	41,4	0,0	66,7
	4	67,1	0,0	100,0

O nitrito obteve modelo significativo na ANOVA a nível 5% (p-valor = 0,044), e o fator TDH influenciou nos resultados de diferença entre entrada e saída de nitrito (p-valor = 0,001). O modelo explicou 38,90% dos dados. O teste de Tukey indicou que o TDH de 4 dias foi mais eficiente na redução de concentração de nitrito (p-valor < 0,001).

Na Tabela A3.32. podem ser observadas as cargas de entrada e saída de nitrito com TDH de 2 e 4 dias, no período de monitoramento. Na entrada as médias variaram de 19

mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias, à 28 mg.dia⁻¹ em WLC e WL2 com TDH de 2 dias, mais uma vez não havendo influência positiva do carvão na retenção do nutriente. A carga mínima de saída foi 0 mg.dia⁻¹ em todas as *wetlands* com TDH de 4 dias, e a máxima 60 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias.

Na saída do sistema a mínima carga média foi 4 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias, e a máxima 17 mg.dia⁻¹ para WLC, WL2 e WL3 com TDH de 2 dias. A mínima carga de saída foi 0 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias, e a máxima 32 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias.

Tabela A3.32. Cargas médias, máximas e mínimas de entrada e saída de nitrito nas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	28	17	42	17	7	24
	4	21	0	36	9	1	14
WL1	2	25	18	36	14	5	27
	4	24	0	60	7	1	16
WL2	2	28	17	46	17	6	26
	4	18	0	40	11	2	19
WL3	2	31	18	44	17	6	32
	4	19	0	35	4	0	15

As médias de retenção de nitrito pelas *wetlands* variaram de 39,6% em WL2 com TDH de 2 dias, à 70,7% em WL3 com TDH de 4 dias. A mínima retenção foi -22,7% (acúmulo de 22,7%) em WL1 com TDH de 4 dias, e a máxima foi 100,0% em WL3 com TDH de 4 dias. Na Tabela A3.33. estão apresentadas as retenções de cargas médias, mínimas e máximas.

Tabela A3.33. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção ou acúmulo de nitrito no período monitorado.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	39,7	8,3	71,3
	4	55,1	14,6	96,4
WL1	2	48,4	25,0	72,6
	4	54,0	-22,7	97,6
WL2	2	39,6	3,5	75,0
	4	46,6	4,3	95,2
WL3	2	47,1	12,8	77,1
	4	70,7	0,0	100,0

Analisando estatisticamente as diferenças de entrada e saída de carga de nitrito, o modelo não foi significativo (p -valor = 0,397) e explicou apenas 20,22% (R^2) dos dados coletados sobre diferença de nitrito entre entrada e saída. Os fatores TDH (p -valor = 0,068) e *wetlands* (p -valor = 0,333) não influenciaram na retenção do nutriente pelos sistemas.

– Nitrato (NO_3 -)

As concentrações médias de entrada e saída de nitrato nas *wetlands*, com TDH de 2 e 4 dias, estão apresentadas na Tabela A3.34., onde observa-se que no TDH de 4 dias a concentração de entrada variou de 0,3 à 0,8 mg.L^{-1} e no TDH de 2 dias as concentrações variaram de 0,6 à 1,2 mg.L^{-1} . Quanto às concentrações de saída, todas foram muito parecidas para todas as *wetlands* – as médias variaram de 0,3 à 0,4 mg.L^{-1} , e as concentrações mínimas variaram de 0,2 à 0,3 mg.L^{-1} . Já para a concentração máxima de saída houve destaque para WL2 com TDH de 4 dias, concentração mais elevada que nas demais *wetlands*, de 0,8 mg.L^{-1} . Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.34. Concentrações médias de entrada e saída de nitrato nas *wetlands*.

Entrada (mg.L^{-1})				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	0,8	0,6	1,2
	4	0,6	0,3	0,8
Saída (mg.L^{-1})				
WLC	2	0,3	0,2	0,5
	4	0,4	0,3	0,5
WL1	2	0,3	0,2	0,3
	4	0,3	0,3	0,4
WL2	2	0,4	0,2	0,5
	4	0,4	0,3	0,8
WL3	2	0,4	0,2	0,5
	4	0,3	0,2	0,4

Na Tabela A3.35. estão apresentadas as taxas de retenção de nitrato pelas *wetlands*, no TDH de 2 e 4 dias, onde é possível observar que a menor média de retenção ocorreu para WL2 com TDH de 4 dias (10,4%) e a maior média foi de 59,1% em WL1 com TDH de 2 dias, mais uma vez a WLC não apresentou diferença significativa na retenção de nutrientes. A mínima retenção observada foi um acúmulo de 166,7% (-166,7% de retenção)

em WL2 com TDH de 4 dias, e a máxima ocorreu em WL1 com TDH de 2 dias (83,3%).

Tabela A3.35. Retenções ou acúmulos médios, mínimos e máximos de nitrato pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	57,3	50,0	71,4
	4	29,9	-66,7	62,5
WL1	2	59,1	50,0	83,3
	4	41,3	0,0	57,1
WL2	2	48,0	16,7	71,4
	4	10,4	-166,7	62,5
WL3	2	49,8	16,7	75,0
	4	44,8	0,0	66,7

He *et al.* (2018a) trabalharam com concentrações de nitrato variando de 0,28 à 1,18 mg.L⁻¹, com remoções médias variando de -44% (acúmulo) à 66%; como no caso do presente estudo, os autores obtiveram médias de remoções negativas e positivas, dependendo da configuração da *wetland*.

A análise de variância não possuiu modelo (p-valor = 0,761), TDH (p-valor = 0,416) ou *wetlands* (p-valor = 0,635) significantes a nível 5%, com apenas 10,27% (R²) dos resultados de retenção explicados pelos fatores.

As cargas de entrada e saída de nitrato, com TDH de 2 e 4 dias, estão apresentadas na Tabela A3.36. A carga de entrada variou de 2,6 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias, à 6,9 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias. A mínima carga na entrada foi 1,2 mg.dia⁻¹, também em WL2 com TDH de 4 dias, e a maior carga de saída ocorreu também em WL3 com TDH de 2 dias (6,9 mg.dia⁻¹).

Podemos observar na Tabela A3.36. que as cargas médias de saída ficaram entre 1,0 mg.dia⁻¹ no TDH de 4 dias, e 2,9 mg.dia⁻¹ no TDH de 2 dias – ambas em WL3. A mínima carga de saída ocorreu em WL1 com TDH de 4 dias (0,2 mg.dia⁻¹) e a máxima em WL3 com TDH de 2 dias (5,3 mg.dia⁻¹).

Tabela A3.36. Cargas médias, máximas e mínimas de entrada e saída de nitrato nas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	6,4	4,8	10,0	2,4	1,5	3,7
	4	3,1	1,4	4,1	1,2	0,5	2,2
WL1	2	6,3	5,4	8,3	1,7	1,3	2,7
	4	3,2	1,3	6,0	1,1	0,2	1,7
WL2	2	5,5	4,3	6,0	2,8	1,3	4,2
	4	2,6	1,2	4,0	1,2	0,6	1,9
WL3	2	6,9	5,1	10,7	2,9	1,5	5,3
	4	2,8	1,3	3,5	1,0	0,5	1,5

As retenções médias, mínimas e máximas de nitrato estão apresentadas na Tabela A3.37., onde observa-se que a mínima retenção média ocorreu para WL2 com TDH de 4 dias (34,8%) e a média máxima foi em WL1 com TDH de 2 dias (71,5%). A retenção mínima foi um acúmulo de 58,6% (-58,6%) em WLC com TDH de 4 dias, e a máxima retenção foi em WL1 com TDH de 4 dias (96,4%).

Tabela A3.37. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção de nitrato no período monitorado.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	61,8	50,9	74,8
	4	46,9	-58,6	85,7
WL1	2	71,5	50,0	84,4
	4	55,4	29,9	96,4
WL2	2	46,4	3,3	78,6
	4	34,8	-54,5	85,5
WL3	2	55,2	20,0	77,8
	4	60,1	27,8	86,9

Como no caso da ANOVA de concentrações de nitrato, a análise de retenção de cargas também não apresentou modelo significativo (p-valor = 0,703), e o R² de apenas 11,97% explicando os resultados. Os fatores TDH (p-valor = 0,849) e *wetlands* (p-valor = 0,554) não foram significativos a nível de 5% de confiança.

— Nitrogênio amoniacal (N-NH₄⁺)

As concentrações de entrada e saída de nitrogênio amoniacal apresentam-se na Tabela A3.38, onde observa-se que as concentrações de entrada variaram de 11,2 à 80,6 mg.L⁻¹

¹ no TDH de 2 dias, e de 12,6 à 70,3 mg.L⁻¹ no TDH de 4 dias – valores próximos um do outro, sem grande diferença expressiva. Já as concentrações médias de saída variaram de 47,6 mg.L⁻¹ em WLC com TDH de 4 dias, à 77,9 mg.L⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias. A mínima concentração aconteceu em WL1 no TDH de 4 dias (18,2 mg.L⁻¹) e a máxima foi 201,8 mg.L⁻¹ em WL1 com TDH de 2 dias, e em WL3 com TDH de 4 dias (Tabela A3.28.). Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.38. Concentrações médias de entrada e saída de nitrogênio amoniacal nas *wetlands*.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	36,9	11,2	80,6
	4	30,6	12,6	70,3
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	62,8	30,8	148,6
	4	47,6	28,0	134,2
WL1	2	75,9	28,0	201,8
	4	51,5	18,2	159,1
WL2	2	66,5	30,8	148,6
	4	55,7	29,4	159,1
WL3	2	77,9	25,2	195,1
	4	60,9	25,2	201,8

É possível observar na Tabela A3.39. que praticamente não houveram retenções de nitrogênio amoniacal, e somente aumento na saída, gerando acúmulo que aparece na Tabela A3.39. A máxima retenção foi de 45,8% em WL1 com TDH de 4 dias, e o maior acúmulo foi em WLC com TDH de 2 dias (325,0%). As médias de retenção variaram de 55,1% de acúmulo em WLC com TDH de 4 dias à 136,0% de acúmulo em WL1 com TDH de 2 dias.

Tabela A3.39. Retenções e acúmulos médios, mínimos e máximos de nitrogênio amoniacal pelas *wetlands*.

Retenção (%)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	-129,9	-325,0	18,5
	4	-55,1	-144,4	8,3
WL1	2	-136,0	-300,0	-26,9
	4	-64,1	-144,4	45,8
WL2	2	-127,0	-250,0	-22,6
	4	-77,3	-133,3	8,3
WL3	2	-132,7	-275,0	-26,3
	4	-77,2	-186,9	20,8

A retenção eficiente das formas de nitrogênio em *wetlands* é muito complicada devido às diversas transformações que estão ocorrendo constantemente neste nutriente de acordo com o ciclo do nitrogênio.

He *et al.* (2018a) obtiveram remoções médias de nitrogênio amoniacal de -1180% (acúmulo) até 23% (maior remoção média obtida), tratando esgoto terciário por diferentes configurações de *wetlands*. As concentrações variaram de 0,02 à 0,70 mg.L⁻¹, inferiores ao do presente experimento.

Como no caso de retenções de fósforo total, Lv *et al.* (2017) também obtiveram altas taxas de retenção de nitrogênio amoniacal, variando de 45% na *wetland* sem planta à 98% na *wetland* cultivada com *Berula*. Os autores também trabalharam em escala de bancada e esgoto sintético, porém em uma estufa, o que pode ter melhorado as retenções dos poluentes devido à exposição a luz solar e temperaturas mais naturais do que a *wetland* desta pesquisa, que estava alocada em um laboratório.

Analisando estatisticamente as retenções de concentração de nitrogênio amoniacal, os resultados de retenção foram influenciados pelo TDH com nível 5% (p-valor = 0,011). O modelo em geral não foi significativo (p-valor = 0,396) e explicou apenas 15,86% dos resultados. De acordo com o teste de Tukey o TDH de 4 dias foi mais eficiente na retenção de nitrogênio amoniacal (p-valor = 0,008), ou seja, promoveu retenções menos negativas (gerou menos acúmulo).

Na Tabela A3.40. podem ser observadas as cargas de entrada e saída de nitrogênio amoniacal no período de monitoramento, onde é possível observar que as cargas médias de entrada variaram de 138 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias, à 351 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 4 dias. A mínima carga de entrada ocorreu também em WL3 com TDH de 4 dias (56 mg.dia⁻¹) e a máxima de saída em WL3 com TDH de 2 dias (824 mg.dia⁻¹). Na saída do sistema as médias foram maiores, variando de 183 mg.dia⁻¹ em WLC com TDH de 4 dias à 720 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias; a mínima foi 28 mg.dia⁻¹ em WL1 com TDH de 4 dias e a máxima foi 2051 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias.

Tabela A3.40. Cargas médias, máximas e mínimas de entrada e saída de nitrogênio amoniacal nas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	309	98	673	469	231	1027
	4	149	58	351	183	36	618
WL1	2	242	89	672	335	161	853
	4	164	71	328	196	28	657
WL2	2	341	91	743	569	200	1284
	4	142	68	351	222	60	748
WL3	2	351	101	824	720	157	2051
	4	138	56	304	206	35	717

As retenções médias, mínimas e máximas de carga de nitrogênio amoniacal estão apresentadas na Tabela A3.41. O mínimo acúmulo ocorreu em WLC com TDH de 4 dias (10,4%) e o máximo em WL3 com TDH de 2 dias (104,9%). A mínima retenção (maior acúmulo) ocorreu em WLC com TDH de 2 dias 289,9%, e a máxima taxa real de retenção ocorreu em WL1 com TDH de 4 dias (83,3%).

Tabela A3.41. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção e acúmulo de NTK no período monitorado.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	-104,5	-289,9	19,9
	4	-10,4	-83,3	64,3
WL1	2	-60,0	-106,9	-12,6
	4	-11,0	-125,0	83,3
WL2	2	-96,3	-237,6	-22,4
	4	-28,0	-113,1	47,0
WL3	2	-104,9	-227,0	-2,6
	4	-33,3	-135,9	64,1

A retenção de amônia foi explicada 22,74% (R^2) pelo modelo, que não foi significativo a nível 5% (p-valor = 0,194). Contudo o TDH influenciou nos resultados de retenção de carga de nitrogênio amoniacal (p-valor = 0,005), e o teste de Tukey revelou que o TDH de 4 dias foi mais eficiente na retenção de carga do nutriente (p-valor = 0,003).

— Nitrogênio total Kjeldahl (NTK)

Na Tabela A3.42. estão apresentadas as concentrações médias, mínimas e

máximas de entrada e saída de NTK nas *wetlands*, onde é possível observar que as concentrações de entrada variaram de 8,4 à 70,0 mg.L⁻¹ no TDH de 2 dias, e de 19,6 à 36,4 mg.L⁻¹ no TDH de 4 dias. Na saída do sistema as médias variaram muito pouco, de 32,7 mg.L⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias à 38,7 mg.L⁻¹ em WL1 com TDH de 2 dias. A mínima concentração de saída foi 8,4 mg.L⁻¹ em WLC, WL2 e WL3 com TDH de 2 dias, e a máxima foi 78,4 mg.L⁻¹ em WL1 com TDH de 2 dias. Todos os resultados obtidos de entrada e saídas dos sistemas estão apresentados no Apêndice 4.

Tabela A3.42. Concentrações médias de entrada e saída de nitrogênio total Kjeldahl nas *wetlands*.

Entrada (mg.L ⁻¹)				
Wetland	TDH (dias)	Média	Mínimo	Máximo
Todas	2	25,2	8,4	70,0
	4	28,9	19,6	36,4
Saída (mg.L ⁻¹)				
WLC	2	35,5	8,4	64,4
	4	36,9	19,6	44,8
WL1	2	38,7	11,2	78,4
	4	34,1	25,2	44,8
WL2	2	33,1	8,4	61,6
	4	32,7	19,6	53,2
WL3	2	33,1	8,4	58,8
	4	35,0	19,6	58,8

A análise estatística de retenção de NTK não foi realizada por ANOVA, e sim comparando os diferentes TDH com o teste de Mann-Whitney, e as *wetlands* com o teste de Kruskal-Wallis a nível 5% de significância; no entanto, nem o TDH nem as *wetlands* apresentaram diferença significativa a nível 5% de significância.

Observa-se na Tabela A3.43., como no caso do nitrogênio amoniacal, que raramente aconteceu retenção de NTK nas *wetlands*, na maior parte das vezes ocorreu acúmulo. A máxima retenção observada foi 36,4% em WL3 com TDH de 4 dias, e a mínima foi um acúmulo de 200,0% na saída de WL1 com TDH de 2 dias. A mínima média de acúmulo ocorreu em WL2 com TDH de 4 dias (16,5%) e a máxima em WL1 com TDH de 2 dias (71,0%).

Tabela A3.43. Retenções e acúmulos médios, mínimos e máximos de nitrogênio total Kjeldahl pelas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	-60,9	-180,0	8,0
	4	-28,4	-77,8	0,0
WL1	2	-71,0	-200,0	4,0
	4	-23,8	-77,8	30,8
WL2	2	-50,2	-160,0	12,0
	4	-16,5	-111,1	27,3
WL3	2	-55,7	-180,0	16,0
	4	-27,0	-133,3	36,4

Na Tabela A3.44. pode-se observar as cargas médias, mínimas e máximas de entrada e saída de NTK nas *wetlands*, com TDH de 2 e 4 dias. As médias de entrada variaram de 125 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias à 248 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias, a mínima de entrada foi 62 mg.dia⁻¹ em WL2 com TDH de 4 dias e a máxima foi 766 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias.

A média de saída do sistema (Tabela A3.44.) variou de 110 mg.dia⁻¹ em WL1 e WL2 com TDH de 4 dias, à 293 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias. Em WL1 com TDH de 4 dias ocorreu a mínima retenção de 28 mg.dia⁻¹, e a máxima foi de 618 mg.dia⁻¹ em WL3 com TDH de 2 dias.

Tabela A3.44. Cargas médias, máximas e mínimas de entrada e saída de nitrogênio total Kjeldahl nas *wetlands*.

Wetland	TDH (dias)	Entrada (mg.dia ⁻¹)			Saída (mg.dia ⁻¹)		
		Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	210	79	564	269	68	510
	4	141	90	174	129	47	206
WL1	2	210	67	625	208	65	600
	4	157	89	290	110	28	203
WL2	2	214	73	504	283	54	514
	4	125	62	194	110	46	250
WL3	2	248	76	766	293	52	618
	4	131	87	169	113	39	209

Na Tabela A3.45. estão apresentadas as retenções médias, mínimas e máximas de carga de NTK pelas *wetlands* no período de monitoramento onde é possível observar que em comparação com a análise de concentrações, as retenções médias das cargas no TDH de 4 dias foram baixas, mas não foram negativas. As média máxima de retenção foi 7,4% em WLC

com TDH de 4 dias, e a mínima foi um acúmulo de 43,3% em WLC com TDH de 2 dias. A mínima retenção também ocorreu em WLC com TDH de 2 dias, um acúmulo de 156,9%, e a máxima foi 90,3% em WL1 com TDH de 4 dias.

Tabela A3.45. Cargas médias, máximas e mínimas de retenção de NTK no período monitorado.

Wetland	TDH (dias)	Retenção (%)		
		Média	Mínimo	Máximo
WLC	2	-43,3	-156,9	13,8
	4	7,4	-64,1	72,9
WL1	2	-2,5	-55,2	45,2
	4	2,1	-129,1	90,3
WL2	2	-40,3	-150,8	25,0
	4	4,4	-98,9	63,4
WL3	2	-38,4	-144,2	31,2
	4	2,3	-91,9	77,1

A análise estatística de retenção de carga de NTK também não foi realizada por ANOVA, e sim comparando os diferentes TDH com o teste de Mann-Whitney, e as *wetlands* com o teste de Kruskal-Wallis a nível 5% de significância. Verificou-se que o TDH de 4 dias foi mais eficiente na retenção de NTK (p-valor = 0,040) com 5% de significância, enquanto as *wetlands* apresentaram desempenho semelhante entre si a nível 5%.

▪ CONCLUSÕES

- O TDH de 4 dias foi estatisticamente mais eficiente na retenção de cor aparente (concentração e carga), turbidez, sólidos totais (carga), sólidos fixos (concentração e carga), sólidos suspensos totais (concentração e carga), sólidos suspensos fixos (concentração e carga), sólidos suspensos voláteis (concentração e carga), fósforo total (concentração), nitrito (concentração), nitrogênio amoniacal (concentração) e nitrogênio total Kjeldahl (carga);
- Sólidos suspensos totais (concentração e carga) e sólidos suspensos voláteis (cargas) apresentaram retenção mais eficiente em WL1 quando comparado à WL2, no entanto, apresentou retenção semelhante às demais *wetlands*;
- Não houve correlação significativa entre as concentrações de nitrogênio amoniacal presentes na água residuária com a toxicidade das amostras;
- As *wetlands* promoveram efeito tampão no pH esgoto sintético, que entrava levemente ácido e saía do sistema próximo à neutralidade, e os valores de pH na saída dos sistemas atenderam ao padrão de lançamento da Resolução CONAMA 430/2011.

APÊNDICE 4. Resultados de concentrações, cargas, e taxas de retenção dos parâmetros físico-químicos nas *wetlands*

Tabela A4. 1. Resultados obtidos de pH de entrada e saída das *wetlands* em ambos TDH.

pH							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada	Saída	Diferença
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	3,79	7,56	-3,77
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	3,79	7,64	-3,85
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	3,79	7,62	-3,83
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	3,79	7,31	-3,52
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	6,38	7,41	-1,03
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	6,38	7,67	-1,29
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	6,38	6,91	-0,53
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	6,38	7,11	-0,73
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	5,87	7,70	-1,83
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	5,87	7,71	-1,84
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	5,87	7,30	-1,43
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	5,87	7,51	-1,64
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	7,27	7,60	-0,33
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	7,27	7,50	-0,23
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	7,27	7,48	-0,21
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	7,27	7,42	-0,15
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	7,61	7,59	0,02
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	7,61	7,72	-0,11
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	7,61	7,55	0,06
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	7,61	7,59	0,02
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	6,86	7,60	-0,74
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	6,86	7,57	-0,71
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	6,86	7,74	-0,88
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	6,86	7,50	-0,64
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	7,19	7,57	-0,38
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	7,19	7,75	-0,56
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	7,19	7,56	-0,37
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	7,19	7,61	-0,42
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	6,55	7,69	-1,14
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	6,55	7,35	-0,80
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	6,55	7,64	-1,09
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	6,55	7,58	-1,03
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	7,35	7,71	-0,36
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	7,35	7,68	-0,33
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	7,35	7,51	-0,16
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	7,35	7,33	0,02
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	6,79	7,77	-0,98
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	6,79	7,79	-1,00
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	6,79	7,84	-1,05
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	6,79	7,96	-1,17
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	6,84	7,76	-0,92
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	6,84	7,75	-0,91
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	6,84	7,65	-0,81
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	6,84	7,62	-0,78
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	7,61	7,73	-0,12
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	7,61	7,65	-0,04
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	7,61	7,69	-0,08
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	7,61	7,69	-0,08

Tabela A4. 2. Resultados obtidos de OD e temperatura de entrada e saída das *wetlands* em ambos TDH.

Oxigênio dissolvido e temperatura									
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	ODe (mg/L) ⁽¹⁾	ODs (mg/L) ⁽²⁾	Diferença	Temp _e (°C) ⁽³⁾	Temp _s (°C) ⁽⁴⁾
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	6,55	6,55	0,00	25,2	23,6
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	6,55	6,58	-0,03	25,2	23,5
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	6,55	0,15	6,40	25,2	27,2
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	6,55	5,40	1,15	25,2	25,9
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	3,42	4,84	-1,42	22,5	22,5
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	3,42	6,11	-2,69	22,5	24,2
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	3,42	2,15	1,27	22,5	23,5
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	3,42	2,81	0,61	22,5	29,1
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,15	4,92	-4,77	—	—
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,15	5,03	-4,88	—	—
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,15	3,32	-3,17	—	—
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,15	3,88	-3,73	—	—
13	4	2 dias	22/02/2017	WLC	4,04	4,65	-0,61	—	29,0
14	4	2 dias	22/02/2017	WL1	4,04	5,69	-1,65	—	28,8
15	4	2 dias	22/02/2017	WL2	4,04	5,21	-1,17	—	29,2
16	4	2 dias	22/02/2017	WL3	4,04	4,06	-0,02	—	29,0
17	5	2 dias	08/03/2017	WLC	0,03	5,04	-5,01	25,8	27,8
18	5	2 dias	08/03/2017	WL1	0,03	5,00	-4,97	25,8	27,3
19	5	2 dias	08/03/2017	WL2	0,03	5,03	-5,00	25,8	27,3
20	5	2 dias	08/03/2017	WL3	0,03	4,63	-4,60	25,8	27,6
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,11	3,86	-3,75	24,8	24,8
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,11	3,61	-3,50	24,8	25,8
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,11	0,09	0,02	24,8	24,4
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,11	3,70	-3,59	24,8	24,7
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,08	4,88	-4,80	24,9	23,4
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,08	4,55	-4,47	24,9	24,1
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,08	6,20	-6,12	24,9	22,6
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,08	5,36	-5,28	24,9	23,1
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	1,26	3,59	-2,33	24,2	25,9
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	1,26	5,06	-3,80	24,2	25,6
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	1,26	4,10	-2,84	24,2	27,0
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	1,26	3,31	-2,05	24,2	27,7
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,02	5,16	-5,14	29,4	29,9
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,02	5,32	-5,30	29,4	28,9
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,02	5,65	-5,63	29,4	30,2
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,02	5,65	-5,63	29,4	30,2
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	0,08	5,40	-5,32	29,0	27,0
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	0,08	5,13	-5,05	29,0	28,3
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	0,08	5,54	-5,46	29,0	28,5
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	0,08	4,98	-4,90	29,0	28,0
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	2,81	4,12	-1,31	28,1	26,0
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	2,81	4,25	-1,44	28,1	27,4
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	2,81	4,57	-1,76	28,1	27,1
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	2,81	4,22	-1,41	28,1	27,4

(1) Oxigênio dissolvido entrada, (2) oxigênio dissolvido saída, (3) temperatura entrada e (4) temperatura saída.

Tabela A4. 3. Resultados obtidos de concentração de cor aparente e respectivas retenções nas *wetlands*.

Cor aparente							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L PtCo)	Saída (mg/L PtCo)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	582	174	70,10
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	582	129	77,84
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	582	258	55,67
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	582	92	84,19
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	584	136	76,71
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	584	99	83,05
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	584	191	67,29
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	584	164	71,92
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	539	89	83,49
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	539	123	77,18
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	539	204	62,15
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	539	141	73,84
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	905	101	88,84
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	905	115	87,29
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	905	85	90,61
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	905	113	87,51
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	910	185	79,67
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	910	156	82,86
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	910	224	75,38
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	910	148	83,74
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	935	176	81,18
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	935	161	82,78
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	935	68	92,73
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	935	126	86,52
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	1340	98	92,69
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	1340	135	89,93
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	1340	264	80,30
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	1340	83	93,81
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	1130	65	94,25
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	1130	77	93,19
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	1130	101	91,06
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	1130	98	91,33
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	1095	122	88,86
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	1095	173	84,20
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	1095	76	93,06
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	1095	143	86,94
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	740	58	92,16
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	740	76	89,73
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	740	56	92,43
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	740	82	88,92
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	1180	153	87,03
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	1180	117	90,08
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	1180	127	89,24
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	1180	78	93,39
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	685	81	88,18
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	685	76	88,91
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	685	61	91,09
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	685	97	85,84

Tabela A4. 4. Resultados obtidos de carga de cor aparente e respectivas retenções nas *wetlands*.

Cor aparente							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	4860,86	1202,69	75,26
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	5363,71	2229,12	58,44
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	4944,67	847,87	82,85
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	4709,38	1077,12	77,13
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	5213,95	883,87	83,05
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	4204,80	1595,23	62,06
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	6391,30	1723,97	73,03
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	4695,77	711,29	84,85
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	4501,73	531,36	88,20
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	4385,30	1600,99	63,49
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	4851,00	1106,57	77,19
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	7819,20	770,83	90,14
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	8079,84	563,04	93,03
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	7819,20	550,80	92,96
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	8340,48	846,14	89,85
16	5	2 dias	22/02/2017	WLC	7600,32	1385,28	81,77
17	5	2 dias	22/02/2017	WL1	6289,92	1010,88	83,93
18	5	2 dias	22/02/2017	WL3	8124,48	1172,16	85,57
19	6	2 dias	08/03/2017	WLC	8751,60	1419,26	83,78
20	6	2 dias	08/03/2017	WL1	7405,20	927,36	87,48
21	6	2 dias	08/03/2017	WL2	8078,40	440,64	94,55
22	6	2 dias	08/03/2017	WL3	8482,32	786,24	90,73
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	6689,28	451,58	93,25
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	6239,04	557,28	91,07
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	6689,28	1241,86	81,44
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	5788,80	294,82	94,91
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	6671,52	252,72	96,21
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	3579,84	399,17	88,85
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	3742,56	319,97	91,45
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	4230,72	366,91	91,33
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	5676,48	158,11	97,21
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	9460,80	124,56	98,68
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	6307,20	147,74	97,66
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	5518,80	164,74	97,02
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	3409,92	254,27	92,54
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	3196,80	218,88	93,15
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	3090,24	135,48	95,62
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	3196,80	255,84	92,00
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	5437,44	528,77	90,28
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	5267,52	299,52	94,31
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	2761,92	223,07	91,92
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	2959,20	188,78	93,62
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	1380,96	124,07	91,02
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	3551,04	412,06	88,40

Tabela A4.5. Resultados obtidos de turbidez e respectivas retenções nas *wetlands*.

Turbidez							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (NTU)	Saída (NTU)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	32,90	11,50	65,05
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	32,90	9,76	70,33
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	32,90	13,20	59,88
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	32,90	5,83	82,28
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	28,10	9,68	65,55
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	28,10	9,27	67,01
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	28,10	12,40	55,87
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	28,10	19,70	29,89
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	28,80	5,50	80,90
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	28,80	5,56	80,69
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	28,80	9,01	68,72
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	28,80	5,95	79,34
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	39,20	4,92	87,45
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	39,20	6,29	83,95
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	39,20	5,05	87,12
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	39,20	6,47	83,49
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	42,44	9,20	78,32
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	42,44	13,40	68,43
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	42,44	11,40	73,14
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	42,44	8,87	79,10
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	74,90	9,47	87,36
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	74,90	10,90	85,45
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	74,90	5,75	92,32
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	74,90	7,23	90,35
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	71,10	7,63	89,27
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	71,10	6,99	90,17
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	71,10	14,60	79,47
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	71,10	4,85	93,18
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	62,80	50,90	18,95
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	62,80	13,40	78,66
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	62,80	8,86	85,89
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	62,80	9,53	84,82
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	68,70	6,09	91,14
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	68,70	7,78	88,68
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	68,70	4,34	93,68
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	68,70	6,88	89,99
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	39,80	4,16	89,55
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	39,80	5,29	86,71
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	39,80	4,07	89,77
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	39,80	6,14	84,57
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	64,80	12,10	81,33
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	64,80	5,78	91,08
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	64,80	7,31	88,72
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	64,80	3,88	94,01
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	39,60	4,71	88,11
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	39,60	4,28	89,19
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	39,60	3,44	91,31
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	39,60	8,24	79,19

Tabela A4. 6. Resultados obtidos de concentração de COD e respectivas retenções nas *wetlands*.

Carbono orgânico dissolvido (COD/NPOC)							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	23,48	8,74	62,78
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	23,48	8,58	63,45
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	23,48	10,20	56,56
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	23,48	14,00	40,37
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	133,60	11,20	91,62
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	133,60	8,71	93,48
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	133,60	26,63	80,07
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	133,60	50,67	62,07
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	193,80	11,40	94,12
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	193,80	13,66	92,95
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	193,80	24,98	87,11
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	193,80	12,00	93,81
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	85,50	45,29	47,03
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	85,50	66,94	21,71
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	85,50	68,32	20,09
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	85,50	67,36	21,22
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	58,13	29,79	48,75
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	58,13	42,28	27,27
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	58,13	38,89	33,10
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	58,13	43,56	25,06
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	62,30	31,58	49,31
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	62,30	33,31	46,53
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	62,30	16,73	73,15
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	62,30	26,76	57,05
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	61,59	9,54	84,51
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	61,59	10,30	83,28
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	61,59	27,00	56,16
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	61,59	11,31	81,64
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	135,20	16,56	87,75
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	135,20	13,24	90,21
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	135,20	29,72	78,02
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	135,20	23,63	82,52
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	62,04	20,85	66,39
10	4	4 dias	20/02/2017	WLC	94,22	33,34	64,61
11	4	4 dias	20/02/2017	WL1	94,22	38,76	58,86
12	4	4 dias	20/02/2017	WL2	94,22	32,63	65,37
13	4	4 dias	20/02/2017	WL3	94,22	34,11	63,80
14	5	4 dias	13/03/2017	WLC	53,43	37,68	29,48
15	5	4 dias	13/03/2017	WL1	53,43	40,96	23,34
16	5	4 dias	13/03/2017	WL2	53,43	39,42	26,22
17	5	4 dias	13/03/2017	WL3	53,43	34,06	36,25
18	6	4 dias	15/03/2017	WLC	58,15	31,18	46,38
19	6	4 dias	15/03/2017	WL1	58,15	30,27	47,94
20	6	4 dias	15/03/2017	WL2	58,15	33,87	41,75
21	6	4 dias	15/03/2017	WL3	58,15	31,43	45,95

Tabela A4. 7. Resultados obtidos de carga de COD e respectivas retenções nas *wetlands*.

Carbono orgânico dissolvido (COD/NPOC)							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	196,10	60,40	69,20
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	216,39	88,13	59,27
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	199,49	129,02	35,32
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	1077,35	88,70	91,77
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	1192,78	77,78	93,48
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	961,92	222,41	76,88
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	1462,12	532,64	63,57
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	1688,39	91,11	94,60
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	1618,62	59,01	96,35
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	1576,76	196,04	87,57
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	1744,20	94,18	94,60
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	738,72	345,65	53,21
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	763,34	327,74	57,07
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	738,72	442,71	40,07
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	787,97	504,39	35,99
16	5	2 dias	22/02/2017	WLC	485,50	223,07	54,05
17	5	2 dias	22/02/2017	WL1	401,79	273,97	31,81
18	5	2 dias	22/02/2017	WL3	518,98	345,00	33,52
19	6	2 dias	08/03/2017	WLC	583,13	254,66	56,33
20	6	2 dias	08/03/2017	WL1	493,42	191,87	61,11
21	6	2 dias	08/03/2017	WL2	538,27	108,41	79,86
22	6	2 dias	08/03/2017	WL3	565,19	166,98	70,46
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	307,46	43,96	85,70
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	286,76	42,52	85,17
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	307,46	127,01	58,69
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	266,07	40,17	84,90
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	798,22	64,39	91,93
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	428,31	68,64	83,98
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	447,78	94,15	78,97
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	506,19	88,47	82,52
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	321,62	27,02	91,60
10	4	4 dias	20/02/2017	WLC	434,17	146,16	66,33
11	4	4 dias	20/02/2017	WL1	407,03	111,63	72,57
12	4	4 dias	20/02/2017	WL2	393,46	78,94	79,94
13	4	4 dias	20/02/2017	WL3	407,03	106,42	73,85
14	5	4 dias	13/03/2017	WLC	246,21	130,22	47,11
15	5	4 dias	13/03/2017	WL3	238,51	130,79	45,16
16	6	4 dias	15/03/2017	WLC	234,46	85,87	63,38
17	6	4 dias	15/03/2017	WL1	251,21	75,19	70,07
18	6	4 dias	15/03/2017	WL2	117,23	68,89	41,23
19	6	4 dias	15/03/2017	WL3	301,45	133,51	55,71

Tabela A4. 8. Resultados obtidos de concentração de DQO e respectivas retenções nas *wetlands*.

Demanda Química de Oxigênio							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	655,00	90,00	86,26
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	655,00	75,00	88,55
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	655,00	205,00	68,70
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	655,00	80,00	87,79
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	690,00	180,00	73,91
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	690,00	70,00	89,86
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	690,00	265,00	61,59
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	690,00	295,00	57,25
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	835,00	130,00	84,43
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	835,00	155,00	81,44
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	835,00	200,00	76,05
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	835,00	145,00	82,63
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	465,00	65,00	86,02
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	465,00	95,00	79,57
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	465,00	80,00	82,80
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	465,00	85,00	81,72
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	440,70	209,99	52,35
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	440,70	229,99	47,81
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	440,70	239,99	45,54
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	440,70	189,99	56,89
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	406,04	59,42	85,37
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	406,04	61,90	84,76
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	406,04	27,23	93,29
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	406,04	49,52	87,80
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	615,00	70,00	88,62
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	615,00	45,00	92,68
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	615,00	185,00	69,92
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	615,00	40,00	93,50
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	865,00	110,00	87,28
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	865,00	110,00	87,28
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	865,00	160,00	81,50
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	865,00	170,00	80,35
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	755,00	155,00	79,47
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	755,00	120,00	84,11
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	755,00	175,00	76,82
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	755,00	175,00	76,82
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	316,91	105,00	66,87
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	316,91	50,00	84,22
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	316,91	120,00	62,13
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	316,91	65,00	79,49
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	467,94	126,27	73,02
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	467,94	141,12	69,84
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	467,94	141,12	69,84
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	467,94	111,41	76,19
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	378,80	59,42	84,31
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	378,80	89,13	76,47
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	378,80	89,13	76,47
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	378,80	66,85	82,35

Tabela A4. 9. Resultados obtidos de carga de DQO e respectivas retenções nas *wetlands*.

Demanda Química de Oxigênio							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	5470,55	622,07	88,63
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	6036,47	1771,19	70,66
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	5564,87	737,27	86,75
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	5564,15	1425,59	74,38
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	6160,31	624,95	89,86
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	4967,99	2213,27	55,45
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	7551,35	3101,03	58,93
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	7274,51	1038,95	85,72
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	6973,91	669,59	90,40
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	6793,55	1569,59	76,90
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	7514,99	1137,95	84,86
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	4017,60	496,08	87,65
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	4151,52	465,12	88,80
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	4017,60	518,40	87,10
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	4285,44	636,48	85,15
16	5	2 dias	22/02/2017	WLC	3680,73	1572,41	57,28
17	5	2 dias	22/02/2017	WL1	3046,12	1490,34	51,07
18	5	2 dias	22/02/2017	WL3	3934,58	1504,72	61,76
19	6	2 dias	08/03/2017	WLC	3800,52	479,17	87,39
20	6	2 dias	08/03/2017	WL1	3215,83	356,52	88,91
21	6	2 dias	08/03/2017	WL2	3508,18	176,48	94,97
22	6	2 dias	08/03/2017	WL3	3683,59	308,99	91,61
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	3070,07	322,55	89,49
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	2863,43	185,76	93,51
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	3070,07	870,23	71,65
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	2656,79	142,08	94,65
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	5106,95	427,68	91,63
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	2740,32	570,23	79,19
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	2864,88	506,88	82,31
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	3238,56	636,48	80,35
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	3913,91	200,88	94,87
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	6523,19	86,40	98,68
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	4348,79	340,20	92,18
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	3805,19	201,60	94,70
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	1460,31	460,32	68,48
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	1369,04	144,00	89,48
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	1323,41	290,30	78,06
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	1369,04	202,80	85,19
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	2156,24	436,38	79,76
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	2088,86	427,83	79,52
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	1527,34	163,64	89,29
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	1636,44	221,40	86,47
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	763,67	181,29	76,26
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	1963,72	283,97	85,54

Tabela A4. 10. Resultados obtidos de concentração de sólidos totais e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Totais							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,31	0,35	-10,54
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	0,31	0,47	-50,48
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,31	0,43	-38,02
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,31	0,28	9,58
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,63	0,42	33,65
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,63	0,40	36,04
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,63	0,49	22,65
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,63	0,46	27,11
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,41	0,25	37,59
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,41	0,28	31,45
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,41	0,29	29,48
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,41	0,26	36,45
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,41	0,27	33,99
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	0,41	0,28	31,28
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,41	0,29	27,59
16	5	2 dias	08/03/2017	WLC	0,38	0,16	58,09
17	5	2 dias	08/03/2017	WL1	0,38	0,26	31,03
18	5	2 dias	08/03/2017	WL2	0,38	0,22	41,91
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,39	0,30	23,39
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,39	0,32	18,51
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,39	0,35	11,05
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,39	0,38	2,06
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,47	0,21	54,94
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,47	0,22	52,15
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,47	0,23	50,00
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,47	0,23	49,57
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,57	0,33	41,90
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,57	0,32	44,19
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,57	0,31	45,60
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,57	0,35	38,56
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,34	0,21	36,12
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,34	0,22	34,63
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,34	0,22	34,33
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,34	0,25	25,67
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	0,41	0,21	47,69
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	0,41	0,27	34,55
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	0,41	0,23	43,55
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	0,41	0,20	51,09
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	0,42	0,27	34,84
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	0,42	0,31	26,97
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	0,42	0,29	29,83
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	0,42	0,30	29,12

Tabela A4. 11. Resultados obtidos de carga de sólidos totais e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Totais							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	2,61	2,39	8,52
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	2,88	3,73	-29,39
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	2,66	2,61	1,92
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	5,06	3,29	34,84
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	5,60	3,58	36,04
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	4,51	4,05	10,27
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	6,86	4,80	29,99
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	3,55	2,03	42,75
9	3	2 dias	01/09/2016	WL2	3,31	2,19	33,88
10	3	2 dias	01/09/2016	WL3	3,66	2,25	38,51
11	4	2 dias	15/02/2017	WLC	3,51	1,97	43,87
12	4	2 dias	15/02/2017	WL1	3,62	1,31	63,80
13	4	2 dias	15/02/2017	WL2	3,51	1,81	48,46
14	4	2 dias	15/02/2017	WL3	3,74	2,20	41,16
15	5	2 dias	08/03/2017	WLC	3,53	1,27	63,89
16	5	2 dias	08/03/2017	WL1	2,99	1,50	49,84
17	5	2 dias	08/03/2017	WL2	3,26	1,42	56,43
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	1,94	1,37	29,29
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	1,81	1,31	27,75
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	1,94	1,63	16,19
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	1,68	1,35	19,47
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	2,75	0,82	70,32
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	1,48	1,16	21,69
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	1,54	0,74	52,17
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	1,74	0,88	49,57
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	2,94	0,43	85,48
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	4,91	0,23	95,35
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	3,27	0,60	81,64
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	2,86	0,40	85,96
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	1,54	0,94	39,22
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	1,45	0,63	56,42
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	1,40	0,53	61,96
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	1,45	0,78	46,32
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	1,89	0,74	60,77
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	1,83	0,77	57,93
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	1,69	0,75	55,50
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	1,81	0,76	58,01
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	0,84	0,60	29,21
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	2,17	1,26	41,92

Tabela A4. 12. Resultados obtidos de concentração de sólidos fixos e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Fixos							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,18	0,24	-36,36
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	0,18	0,30	-69,32
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,18	0,25	-41,48
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,18	0,20	-11,36
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,16	0,26	-59,51
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,16	0,24	-50,31
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,16	0,27	-65,03
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,16	0,25	-52,15
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,19	0,19	-1,06
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,19	0,19	-3,19
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,19	0,20	-6,91
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,20	0,20	-3,03
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,20	0,21	-3,54
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	0,20	0,21	-4,04
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,20	0,21	-5,05
16	5	2 dias	08/03/2017	WLC	0,15	0,15	0,00
17	5	2 dias	08/03/2017	WL1	0,15	0,16	-9,46
18	5	2 dias	08/03/2017	WL2	0,15	0,21	-41,89
19	5	2 dias	08/03/2017	WL3	0,15	0,19	-25,00
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,21	0,22	-2,82
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,21	0,20	4,69
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,21	0,19	10,80
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,21	0,20	5,63
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,19	0,17	11,05
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,19	0,18	4,74
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,19	0,17	8,42
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,19	0,19	1,05
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,22	0,21	1,83
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,22	0,22	-2,29
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,22	0,20	6,88
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,22	0,22	0,00
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,19	0,20	-4,84
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,19	0,19	-3,76
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,19	0,19	-2,69
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,19	0,21	-13,44
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	0,15	0,17	-16,22
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	0,15	0,19	-31,08
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	0,15	0,16	-6,76
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	0,15	0,16	-8,11
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	0,20	0,22	-6,97
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	0,20	0,24	-21,39
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	0,20	0,23	-12,94
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	0,20	0,23	-12,44

Tabela A4. 13. Resultados obtidos de carga de sólidos fixos e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Fixos							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	1,47	1,66	-12,85
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	1,62	2,15	-32,63
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	1,50	1,81	-20,80
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	1,31	2,06	-56,66
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	1,46	2,19	-50,31
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	1,17	2,25	-91,44
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	1,78	2,61	-46,14
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	1,64	1,52	7,29
9	3	2 dias	01/09/2016	WL2	1,53	1,52	0,46
10	3	2 dias	01/09/2016	WL3	1,69	1,58	6,77
11	4	2 dias	15/02/2017	WLC	1,71	1,56	8,99
12	4	2 dias	15/02/2017	WL1	1,77	1,00	43,22
13	4	2 dias	15/02/2017	WL2	1,71	1,33	21,97
14	4	2 dias	15/02/2017	WL3	1,82	1,56	14,65
15	5	2 dias	08/03/2017	WLC	1,39	1,19	13,85
16	5	2 dias	08/03/2017	WL1	1,17	0,93	20,39
17	5	2 dias	08/03/2017	WL2	1,28	1,36	-6,42
18	5	2 dias	08/03/2017	WL3	1,34	1,15	14,02
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	1,06	1,01	5,09
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,99	0,84	15,50
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	1,06	0,89	15,94
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,92	0,71	22,41
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	1,12	0,66	41,42
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,60	0,94	-55,89
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,63	0,55	12,40
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,71	0,70	1,05
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	1,13	0,28	75,46
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	1,88	0,16	91,48
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	1,26	0,39	68,57
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	1,10	0,25	77,14
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,86	0,85	0,26
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,80	0,56	30,82
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,78	0,46	40,51
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,80	0,66	18,07
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	0,68	0,59	12,84
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	0,66	0,61	7,00
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	0,81	0,59	26,94
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	0,87	0,61	30,20
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	0,41	0,46	-13,94
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	1,04	0,96	7,86

Tabela A4. 14. Resultados obtidos de concentração de sólidos voláteis e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Voláteis							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,14	0,11	22,63
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	0,14	0,17	-26,28
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,14	0,18	-33,58
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,14	0,09	36,50
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,46	0,16	66,38
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,46	0,16	66,38
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,46	0,22	53,45
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,46	0,21	54,96
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,22	0,06	70,78
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,22	0,06	72,15
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,22	0,08	61,19
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,22	0,09	60,73
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,21	0,05	74,04
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,21	0,06	69,71
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	0,21	0,07	64,90
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,21	0,09	58,65
17	5	2 dias	08/03/2017	WLC	0,23	0,00	100,00
18	5	2 dias	08/03/2017	WL1	0,23	0,05	78,17
19	5	2 dias	08/03/2017	WL2	0,23	0,03	86,90
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,18	0,08	55,11
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,18	0,11	35,23
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,18	0,16	11,36
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,18	0,18	-2,27
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,28	0,04	85,14
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,28	0,04	84,78
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,28	0,06	78,62
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,28	0,05	82,97
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,35	0,12	66,86
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,35	0,09	73,14
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,35	0,11	69,71
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,35	0,13	62,57
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,15	0,02	87,25
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,15	0,03	82,55
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,15	0,03	80,54
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,15	0,04	74,50
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	0,26	0,04	83,65
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	0,26	0,08	71,48
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	0,26	0,07	71,86
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	0,26	0,04	84,41
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	0,22	0,06	73,39
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	0,22	0,06	71,56
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	0,22	0,07	69,27
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	0,22	0,07	67,43

Tabela A4. 15. Resultados obtidos de carga de sólidos voláteis e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Voláteis							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	1,14	0,73	35,97
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	1,26	1,58	-25,23
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	1,16	0,80	31,11
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	3,74	1,24	66,98
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	4,14	1,39	66,38
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	3,34	1,80	46,00
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	5,08	2,20	56,73
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	1,91	0,51	73,19
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	1,78	0,67	62,56
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	1,97	0,67	65,76
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	1,80	0,41	77,07
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	1,86	0,31	83,39
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	1,80	0,47	73,68
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	1,92	0,64	66,41
17	5	2 dias	08/03/2017	WLC	2,14	0,00	100,00
18	5	2 dias	08/03/2017	WL1	1,81	0,29	84,12
19	5	2 dias	08/03/2017	WL3	2,08	0,19	90,99
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,88	0,36	58,57
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,82	0,47	42,57
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,88	0,73	16,48
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,76	0,64	15,91
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	1,63	0,16	90,22
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,87	0,22	75,10
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,91	0,19	79,55
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	1,03	0,18	82,97
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	1,81	0,15	91,71
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	3,02	0,07	97,76
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	2,02	0,21	89,78
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	1,76	0,15	91,44
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,69	0,08	87,87
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,64	0,07	88,37
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,62	0,07	88,72
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,64	0,12	81,58
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	1,21	0,15	87,74
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	1,17	0,16	86,59
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	0,88	0,16	81,83
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	0,94	0,15	83,65
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	0,44	0,14	68,99
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	1,13	0,30	73,31

Tabela A4. 16. Resultados obtidos de concentração de sólidos suspensos totais e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Suspensos Totais							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,06	0,03	56,25
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	0,06	0,02	71,11
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,06	0,04	38,33
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,06	0,01	76,67
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,07	0,01	78,46
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,07	0,01	86,15
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,07	0,02	69,23
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,07	0,02	73,85
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,08	0,01	82,89
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,08	0,01	81,58
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,08	0,02	68,42
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,08	0,02	76,32
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,10	0,02	85,45
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,10	0,02	77,69
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,10	0,02	84,48
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,15	0,01	90,54
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,15	0,00	97,30
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,15	0,04	76,35
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,15	0,00	97,30
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,16	0,01	94,22
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,16	0,00	98,08
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,16	0,01	96,15
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,16	0,01	94,87
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,20	0,02	91,09
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,20	0,02	91,09
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,20	0,01	94,55
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,20	0,02	89,60
13	4	4 dias	13/03/2017	WL2	0,15	0,02	89,00
14	4	4 dias	13/03/2017	WL3	0,15	0,01	94,18
15	5	4 dias	15/03/2017	WLC	0,06	0,01	83,72
16	5	4 dias	15/03/2017	WL1	0,06	0,00	96,74
17	5	4 dias	15/03/2017	WL2	0,06	0,01	91,86
18	5	4 dias	15/03/2017	WL3	0,06	0,00	95,12

Tabela A4. 17. Resultados obtidos de carga de sólidos suspensos totais e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Suspensos Totais							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,50	0,18	63,79
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,55	0,32	42,19
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,51	0,13	74,69
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,52	0,11	78,85
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,58	0,08	86,15
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,47	0,17	64,31
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,71	0,18	74,88
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,66	0,10	84,31
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,63	0,06	90,47
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,62	0,19	69,54
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,68	0,14	79,35
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,89	0,11	87,15
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,92	0,11	87,76
14	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,95	0,12	87,39
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,74	0,06	91,27
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,69	0,02	97,60
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,74	0,16	77,72
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,64	0,01	97,78
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,92	0,03	96,20
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,49	0,02	96,85
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,52	0,02	96,32
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,58	0,03	94,87
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	1,05	0,02	97,77
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	1,74	0,01	99,26
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	1,16	0,02	98,16
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	1,02	0,02	97,62
13	4	4 dias	13/03/2017	WL3	0,69	0,03	94,99
14	5	4 dias	15/03/2017	WLC	0,25	0,03	88,88
15	5	4 dias	15/03/2017	WL1	0,27	0,00	98,13
16	5	4 dias	15/03/2017	WL2	0,12	0,01	91,79
17	5	4 dias	15/03/2017	WL3	0,32	0,01	96,00

Tabela A4. 18. Resultados obtidos de concentração de sólidos suspensos fixos e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Suspensos Fixos							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,010	0,004	62,50
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	0,010	0,007	33,33
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,010	0,002	80,00
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,010	0,005	50,00
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,015	0,011	26,67
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,015	0,011	26,67
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,015	0,014	6,67
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,015	0,012	20,00
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,000	0,000	0,00
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,000	0,000	0,00
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,000	0,000	0,00
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,000	0,000	0,00
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,063	0,005	92,07
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,063	0,015	76,22
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,063	0,003	95,24
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,012	0,008	33,33
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,012	0,000	100,00
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,012	0,009	25,00
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,012	0,000	100,00
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,003	0,000	100,00
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,003	0,000	100,00
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,003	0,000	100,00
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,003	0,000	100,00
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,025	0,004	84,00
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,025	0,002	92,00
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,025	0,004	84,00
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,025	0,007	72,00
13	4	4 dias	13/03/2017	WL2	0,009	0,004	56,00
14	4	4 dias	13/03/2017	WL3	0,009	0,002	78,00
15	5	4 dias	15/03/2017	WLC	0,003	0,003	-5,00
16	5	4 dias	15/03/2017	WL1	0,003	0,000	100,00
17	5	4 dias	15/03/2017	WL2	0,003	0,001	65,00
18	5	4 dias	15/03/2017	WL3	0,003	0,004	-40,00

Tabela A4. 19. Resultados obtidos de carga de sólidos suspensos fixos e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Suspensos Fixos							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,08	0,03	68,97
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,09	0,02	81,25
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,08	0,05	45,76
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,12	0,09	27,98
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,13	0,10	26,67
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,11	0,12	-8,27
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,16	0,13	23,16
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,00	0,00	0,00
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,00	0,00	0,00
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,00	0,00	0,00
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,00	0,00	0,00
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,54	0,04	93,00
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,56	0,07	86,96
14	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,58	0,02	96,14
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,06	0,04	38,46
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,06	0,00	100,00
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,06	0,04	29,33
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,05	0,00	100,00
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,02	0,00	100,00
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,01	0,00	100,00
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,01	0,00	100,00
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,01	0,00	100,00
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,13	0,01	96,00
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,22	0,00	99,33
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,14	0,01	94,60
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,13	0,01	93,60
13	4	4 dias	13/03/2017	WL3	0,04	0,01	81,08
14	5	4 dias	15/03/2017	WLC	0,01	0,01	28,28
15	5	4 dias	15/03/2017	WL1	0,01	0,00	100,00
16	5	4 dias	15/03/2017	WL2	0,01	0,00	64,69
17	5	4 dias	15/03/2017	WL3	0,01	0,02	-14,72

Tabela A4. 20. Resultados obtidos de concentração de sólidos suspensos voláteis e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Suspensos Voláteis							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,05	0,02	55,00
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	0,05	0,01	78,67
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,05	0,03	30,00
5	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,05	0,01	82,00
6	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,05	0,00	94,00
7	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,05	0,00	100,00
8	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,05	0,01	88,00
9	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,05	0,01	90,00
10	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,08	0,01	83,54
11	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,08	0,02	79,75
12	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,08	0,02	69,62
13	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,08	0,02	77,22
14	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,04	0,01	75,00
15	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,04	0,01	80,00
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,04	0,01	67,50
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,14	0,01	95,59
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,14	0,00	97,06
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,14	0,03	80,88
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,14	0,00	97,06
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,15	0,01	94,13
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,15	0,01	96,08
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,15	0,01	96,08
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,15	0,01	93,47
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,18	0,01	92,09
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,18	0,02	90,96
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,18	0,01	96,04
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,18	0,01	92,09
13	4	4 dias	13/03/2017	WL2	0,15	0,01	91,06
14	4	4 dias	13/03/2017	WL3	0,15	0,01	95,19
15	5	4 dias	15/03/2017	WLC	0,06	0,01	88,05
16	5	4 dias	15/03/2017	WL1	0,06	0,00	96,59
17	5	4 dias	15/03/2017	WL2	0,06	0,00	93,17
18	5	4 dias	15/03/2017	WL3	0,06	0,00	100,00

Tabela A4. 21. Resultados obtidos de carga de sólidos suspensos voláteis e respectivas retenções nas *wetlands*.

Sólidos Suspensos Voláteis							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,42	0,16	62,76
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,46	0,30	34,38
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,42	0,08	80,47
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,40	0,02	94,11
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,45	0,00	100,00
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,36	0,05	86,08
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,55	0,05	90,39
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,69	0,10	84,90
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,66	0,07	89,52
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,64	0,19	70,70
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,71	0,14	80,13
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,35	0,08	77,92
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,36	0,04	89,03
14	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,37	0,10	73,59
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,68	0,03	95,93
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,63	0,02	97,39
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,68	0,12	81,99
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,59	0,01	97,58
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,90	0,03	96,13
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,49	0,03	93,59
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,51	0,02	96,25
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,57	0,04	93,47
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,92	0,02	98,02
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	1,53	0,01	99,25
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	1,02	0,01	98,66
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,89	0,02	98,19
13	4	4 dias	13/03/2017	WL3	0,65	0,03	95,86
14	5	4 dias	15/03/2017	WLC	0,24	0,02	91,84
15	5	4 dias	15/03/2017	WL1	0,25	0,00	98,04
16	5	4 dias	15/03/2017	WL2	0,12	0,01	93,11
17	5	4 dias	15/03/2017	WL3	0,30	0,00	100,00

Tabela A4. 22. Resultados obtidos de concentração de fósforo total e respectivas retenções nas *wetlands*.

Fósforo Total							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	16,68	18,96	-13,70
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	16,68	14,55	12,74
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	16,68	19,35	-16,04
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	16,68	18,70	-12,14
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	3,74	13,02	-248,46
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	3,74	10,37	-177,51
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	3,74	7,59	-103,21
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	3,74	5,70	-52,48
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	11,48	15,73	-36,98
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	11,48	15,92	-38,68
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	11,48	14,23	-23,91
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	11,48	14,62	-27,31
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	19,56	17,79	9,05
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	19,56	19,34	1,13
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	19,56	19,04	2,66
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	19,56	15,51	20,71
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	14,72	13,74	6,66
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	14,72	16,36	-11,14
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	14,72	15,57	-5,77
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	14,72	14,40	2,17
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	10,04	7,41	26,23
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	10,04	8,06	19,72
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	10,04	8,32	17,11
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	10,04	7,27	27,53
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	17,03	13,31	21,84
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	17,03	13,60	20,14
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	17,03	11,02	35,29
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	17,03	8,93	47,56
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	17,66	11,94	32,40
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	17,66	7,89	55,34
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	17,66	13,34	24,44
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	17,66	2,68	84,85
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	26,25	19,26	26,63
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	26,25	14,52	44,69
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	26,25	16,48	37,23
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	26,25	18,86	28,14
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	13,87	16,10	-16,08
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	13,87	9,78	29,47
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	13,87	8,98	35,29
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	13,87	17,99	-29,70
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	11,82	15,12	-27,87
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	11,82	15,51	-31,18
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	11,82	12,04	-1,89
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	11,82	12,96	-9,63
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	15,18	15,12	0,43
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	15,18	16,29	-7,32
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	15,18	11,59	23,67
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	15,18	13,35	12,05

Tabela A4. 23. Resultados obtidos de carga de fósforo total e respectivas retenções nas *wetlands*.

Fósforo Total							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	139,27	131,05	5,90
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	153,68	167,18	-8,79
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	141,67	172,34	-21,65
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	30,12	103,08	-242,24
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	33,35	92,54	-177,51
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	26,89	63,39	-135,73
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	40,88	59,87	-46,46
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	100,01	125,67	-25,66
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	95,88	68,77	28,27
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	93,40	111,64	-19,52
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	103,32	114,70	-11,01
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	169,00	135,77	19,66
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	174,63	94,68	45,78
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	169,00	123,38	26,99
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	180,26	116,14	35,57
16	5	2 dias	22/02/2017	WLC	122,94	102,89	16,31
17	5	2 dias	22/02/2017	WL1	101,74	106,01	-4,19
18	5	2 dias	22/02/2017	WL3	131,42	114,05	13,22
19	6	2 dias	08/03/2017	WLC	93,95	59,71	36,44
20	6	2 dias	08/03/2017	WL1	79,50	46,42	41,61
21	6	2 dias	08/03/2017	WL2	86,72	53,91	37,83
22	6	2 dias	08/03/2017	WL3	91,06	45,39	50,15
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	85,01	61,33	27,86
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	79,29	56,14	29,20
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	85,01	51,84	39,02
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	73,57	31,72	56,89
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	104,24	46,40	55,48
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	55,93	40,88	26,92
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	58,47	42,26	27,73
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	66,10	10,02	84,85
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	136,05	24,95	81,66
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	226,76	10,45	95,39
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	151,17	32,03	78,81
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	132,27	21,73	83,57
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	63,91	70,58	-10,44
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	59,92	28,17	52,98
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	57,92	21,71	62,51
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	59,92	56,13	6,32
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	54,47	52,24	4,10
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	52,77	49,76	5,70
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	61,21	41,63	31,99
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	65,58	40,47	38,29
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	30,60	23,57	22,99
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	78,70	56,72	27,93

Tabela A4. 24. Resultados obtidos de concentração de nitrito e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrito							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	5	3	40,0
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	5	4	20,0
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	5	3	40,0
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	5	3	40,0
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	4	3	25,0
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	4	3	25,0
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	4	3	25,0
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	4	3	25,0
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	3	3	0,0
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	3	3	0,0
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	3	3	0,0
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	3	3	0,0
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	2	2	0,0
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	2	1	50,0
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	2	1	50,0
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	2	1	50,0
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	3	1	66,7
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	3	1	66,7
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	3	0	100,0
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	3	1	66,7
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	3	1	66,7
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	3	3	0,0
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	3	1	66,7
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	3	1	66,7
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	6	3	50,0
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	6	3	50,0
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	6	4	33,3
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	6	0	100,0
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	4	2	50,0
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	4	3	25,0
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	4	4	0,0
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	4	4	0,0
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	7	1	85,7
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	7	2	71,4
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	7	1	85,7
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	7	1	85,7
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0	1	—
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0	1	—
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0	8	—
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0	1	—
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	4	3	25,0
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	4	2	50,0
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	4	1	75,0
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	4	2	50,0
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	4	5	-25,0
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	4	1	75,0
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	4	2	50,0
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	4	0	100,0

Tabela A4. 25. Resultados obtidos de carga de nitrito e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrito							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	41,8	20,7	50,3
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	46,1	25,9	43,8
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	42,5	27,6	34,9
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	32,3	23,8	26,3
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	35,7	26,8	25,0
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	28,8	25,1	13,0
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	43,8	31,5	28,0
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	26,1	24,0	8,3
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	25,1	13,0	48,3
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	24,4	23,5	3,5
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	27,0	23,5	12,8
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	17,3	15,3	11,7
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	17,9	4,9	72,6
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	17,3	6,5	62,5
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	18,4	7,5	59,4
16	5	2 dias	22/02/2017	WLC	25,1	7,5	70,1
17	5	2 dias	22/02/2017	WL1	20,7	6,5	68,8
18	5	2 dias	22/02/2017	WL3	26,8	7,9	70,4
19	6	2 dias	08/03/2017	WLC	28,1	8,1	71,3
20	6	2 dias	08/03/2017	WL1	23,8	17,3	27,3
21	6	2 dias	08/03/2017	WL2	25,9	6,5	75,0
22	6	2 dias	08/03/2017	WL3	27,2	6,2	77,1
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	30,0	13,8	53,8
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	27,9	12,4	55,7
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	30,0	18,8	37,2
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	25,9	0,0	100,0
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	23,6	7,8	67,1
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	12,7	15,6	-22,7
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	13,2	12,7	4,3
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	15,0	15,0	0,0
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	36,3	1,3	96,4
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	60,5	1,4	97,6
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	40,3	1,9	95,2
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	35,3	1,2	96,7
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,0	4,4	—
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,0	2,9	—
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,0	19,4	—
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,0	3,1	—
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	18,4	10,4	43,8
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	17,9	7,7	57,0
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	16,1	13,8	14,6
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	17,3	2,5	85,6
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	8,1	4,1	49,6
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	20,7	0,0	100,0

Tabela A4. 26. Resultados obtidos de concentração de nitrato e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrato							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	0,60	0,30	50,00
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	0,60	0,30	50,00
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	0,60	0,40	33,33
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	0,60	0,30	50,00
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	0,60	0,30	50,00
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	0,60	0,30	50,00
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	0,60	0,50	16,67
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	0,60	0,50	16,67
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	0,70	0,30	57,14
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	0,70	0,30	57,14
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	0,70	0,40	42,86
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	0,70	0,40	42,86
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	0,70	0,20	71,43
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	0,70	0,30	57,14
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	0,70	0,20	71,43
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	0,70	0,20	71,43
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	1,20	0,50	58,33
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	1,20	0,20	83,33
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	1,20	0,40	66,67
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	1,20	0,30	75,00
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	0,70	0,30	57,14
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	0,70	0,30	57,14
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	0,70	0,30	57,14
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	0,70	0,40	42,86
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	0,80	0,30	62,50
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	0,80	0,40	50,00
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	0,80	0,30	62,50
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	0,80	0,40	50,00
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	0,70	0,30	57,14
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	0,70	0,30	57,14
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	0,70	0,40	42,86
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	0,70	0,40	42,86
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	0,70	0,40	42,86
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	0,70	0,30	57,14
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	0,70	0,30	57,14
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	0,70	0,40	42,86
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	0,30	0,50	-66,67
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	0,30	0,30	0,00
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	0,30	0,80	-166,67
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	0,30	0,30	0,00
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	0,60	0,30	50,00
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	0,60	0,30	50,00
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	0,60	0,40	33,33
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	0,60	0,20	66,67
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	0,60	0,40	33,33
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	0,60	0,40	33,33
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	0,60	0,40	33,33
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	0,60	0,20	66,67

Tabela A4. 27. Resultados obtidos de carga de nitrato e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrato							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	5,01	2,07	58,62
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	5,53	3,46	37,50
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	5,10	2,76	45,76
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	4,84	2,38	50,89
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	5,36	2,68	50,00
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	4,32	4,18	3,33
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	6,57	5,26	19,96
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	6,10	2,40	60,68
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	5,85	1,30	77,83
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	5,70	3,14	44,88
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	6,30	3,14	50,17
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	6,05	1,53	74,76
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	6,25	1,47	76,50
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	6,05	1,30	78,57
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	6,45	1,50	76,79
16	5	2 dias	22/02/2017	WLC	10,02	3,74	62,64
17	5	2 dias	22/02/2017	WL1	8,29	1,30	84,38
18	5	2 dias	22/02/2017	WL3	10,71	2,38	77,82
19	6	2 dias	08/03/2017	WLC	6,55	2,42	63,08
20	6	2 dias	08/03/2017	WL1	5,54	1,73	68,83
21	6	2 dias	08/03/2017	WL2	6,05	1,94	67,86
22	6	2 dias	08/03/2017	WL3	6,35	2,50	60,70
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	3,99	1,38	65,38
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	3,72	1,65	55,67
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	3,99	1,41	64,66
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	3,46	1,42	58,89
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	4,13	1,17	71,78
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	2,22	1,56	29,87
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	2,32	1,27	45,34
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	2,62	1,50	42,86
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	3,63	0,52	85,71
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	6,05	0,22	96,43
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	4,03	0,58	85,54
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	3,53	0,46	86,94
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	1,38	2,19	-58,56
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	1,30	0,86	33,33
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	1,25	1,94	-54,48
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	1,30	0,94	27,78
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	2,76	1,04	62,50
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	2,68	0,77	71,33
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	2,42	1,10	54,46
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	2,59	0,99	61,67
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	1,21	0,81	32,74
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	3,11	0,85	72,69

Tabela A4. 28. Resultados obtidos de concentração de nitrogênio amoniacal e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrogênio amoniacal							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	80,60	148,63	-84,41
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	80,60	201,83	-150,43
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	80,60	148,63	-84,41
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	80,60	129,73	-60,96
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	75,30	61,40	18,45
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	75,30	95,53	-26,87
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	75,30	92,34	-22,63
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	75,30	195,09	-159,09
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	11,20	47,60	-325,00
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	11,20	44,80	-300,00
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	11,20	39,20	-250,00
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	11,20	42,00	-275,00
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	26,60	54,60	-105,26
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	26,60	54,60	-105,26
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	26,60	43,40	-63,16
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	26,60	33,60	-26,32
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	16,80	30,80	-83,33
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	16,80	30,80	-83,33
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	16,80	44,80	-166,67
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	16,80	42,00	-150,00
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	11,20	33,60	-200,00
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	11,20	28,00	-150,00
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	11,20	30,80	-175,00
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	11,20	25,20	-125,00
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	70,35	134,21	-90,79
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	70,35	159,08	-126,14
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	70,35	159,08	-126,14
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	70,35	201,83	-186,91
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	22,40	33,60	-50,00
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	22,40	30,80	-37,50
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	22,40	44,80	-100,00
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	22,40	36,40	-62,50
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	19,60	28,00	-42,86
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	19,60	39,20	-100,00
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	19,60	30,80	-57,14
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	19,60	30,80	-57,14
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	25,20	28,00	-11,11
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	25,20	30,80	-22,22
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	25,20	39,20	-55,56
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	25,20	44,80	-77,78
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	12,60	30,80	-144,44
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	12,60	30,80	-144,44
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	12,60	29,40	-133,33
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	12,60	25,20	-100,00
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	33,60	30,80	8,33
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	33,60	18,20	45,83
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	33,60	30,80	8,33
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	33,60	26,60	20,83

Tabela A4. 29. Resultados obtidos de carga de nitrogênio amoniacal e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrogênio Amoniacal							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	673,13	1027,31	-52,62
2	1	2 dias	10/08/2016	WL2	742,76	1284,13	-72,89
3	1	2 dias	10/08/2016	WL3	684,74	1195,57	-74,60
4	2	2 dias	14/08/2016	WLC	607,19	486,30	19,91
5	2	2 dias	14/08/2016	WL1	672,25	852,89	-26,87
6	2	2 dias	14/08/2016	WL2	542,14	771,19	-42,25
7	2	2 dias	14/08/2016	WL3	824,05	2050,74	-148,86
8	3	2 dias	01/09/2016	WLC	97,57	380,42	-289,88
9	3	2 dias	01/09/2016	WL1	93,54	193,54	-106,90
10	3	2 dias	01/09/2016	WL2	91,12	307,64	-237,61
11	3	2 dias	01/09/2016	WL3	100,80	329,62	-227,00
12	4	2 dias	15/02/2017	WLC	229,82	416,71	-81,32
13	4	2 dias	15/02/2017	WL1	237,48	267,32	-12,56
14	4	2 dias	15/02/2017	WL2	229,82	281,23	-22,37
15	4	2 dias	15/02/2017	WL3	245,15	251,60	-2,63
16	5	2 dias	22/02/2017	WLC	140,31	230,63	-64,37
17	5	2 dias	22/02/2017	WL1	116,12	199,58	-71,88
18	5	2 dias	22/02/2017	WL3	149,99	332,64	-121,77
19	6	2 dias	08/03/2017	WLC	104,83	270,95	-158,46
20	6	2 dias	08/03/2017	WL1	88,70	161,28	-81,82
21	6	2 dias	08/03/2017	WL2	96,77	199,58	-106,25
22	6	2 dias	08/03/2017	WL3	101,61	157,25	-54,76
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	351,17	618,46	-76,11
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	327,53	656,70	-100,50
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	351,17	748,33	-113,10
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	303,90	716,91	-135,90
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	132,25	130,64	1,22
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	70,96	159,67	-125,00
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	74,19	141,93	-91,30
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	83,87	136,28	-62,50
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	101,61	36,29	64,29
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	169,34	28,22	83,33
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	112,90	59,88	46,96
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	98,78	35,48	64,08
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	116,12	122,75	-5,71
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	108,86	88,70	18,52
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	105,24	94,83	9,89
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	108,86	139,78	-28,40
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	58,06	106,44	-83,33
18	5	4 dias	13/03/2017	WL3	56,25	96,77	-72,04
19	6	4 dias	15/03/2017	WLC	135,48	84,82	37,39
20	6	4 dias	15/03/2017	WL1	145,15	45,21	68,85
21	6	4 dias	15/03/2017	WL2	67,74	62,65	7,51
22	6	4 dias	15/03/2017	WL3	174,18	113,00	35,13

Tabela A4. 30. Resultados obtidos de concentração de nitrogênio total Kjeldahl e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrogênio Total Kjeldahl							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	28,00	56,00	-100,00
2	1	2 dias	10/08/2016	WL1	28,00	78,40	-180,00
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	28,00	50,40	-80,00
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	28,00	44,80	-60,00
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	70,00	64,40	8,00
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	70,00	67,20	4,00
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	70,00	61,60	12,00
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	70,00	58,80	16,00
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	14,00	39,20	-180,00
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	14,00	42,00	-200,00
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	14,00	36,40	-160,00
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	14,00	39,20	-180,00
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	14,00	22,40	-60,00
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	14,00	14,00	0,00
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	14,00	19,60	-40,00
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	14,00	22,40	-60,00
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	16,80	22,40	-33,33
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	16,80	19,60	-16,67
19	5	2 dias	22/02/2017	WL2	16,80	22,40	-33,33
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	16,80	25,20	-50,00
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	8,40	8,40	0,00
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	8,40	11,20	-33,33
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	8,40	8,40	0,00
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	8,40	8,40	0,00
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	25,20	44,80	-77,78
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	25,20	44,80	-77,78
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	25,20	53,20	-111,11
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	25,20	58,80	-133,33
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	28,00	44,80	-60,00
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	28,00	39,20	-40,00
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	28,00	36,40	-30,00
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	28,00	36,40	-30,00
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	33,60	36,40	-8,33
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	33,60	39,20	-16,67
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	33,60	36,40	-8,33
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	33,60	33,60	0,00
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	36,40	42,00	-15,38
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	36,40	25,20	30,77
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	36,40	28,00	23,08
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	36,40	33,60	7,69
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	19,60	19,60	0,00
18	5	4 dias	13/03/2017	WL1	19,60	30,80	-57,14
19	5	4 dias	13/03/2017	WL2	19,60	19,60	0,00
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	19,60	28,00	-42,86
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	30,80	33,60	-9,09
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	30,80	25,20	18,18
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	30,80	22,40	27,27
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	30,80	19,60	36,36

Tabela A4. 31. Resultados obtidos de carga de nitrogênio total Kjeldahl e respectivas retenções nas *wetlands*.

Nitrogênio Total Kjeldahl							
Amostra	Réplica	TDH	Data Coleta	Wetlands	Carga entrada (mg/dia)	Carga saída (mg/dia)	Retenção (%)
1	1	2 dias	10/08/2016	WLC	233,86	387,07	-65,52
3	1	2 dias	10/08/2016	WL2	258,05	435,46	-68,75
4	1	2 dias	10/08/2016	WL3	237,89	412,88	-73,56
5	2	2 dias	14/08/2016	WLC	564,48	510,05	9,64
6	2	2 dias	14/08/2016	WL1	624,96	599,96	4,00
7	2	2 dias	14/08/2016	WL2	504,00	514,48	-2,08
8	2	2 dias	14/08/2016	WL3	766,08	618,11	19,32
9	3	2 dias	01/09/2016	WLC	121,97	313,29	-156,86
10	3	2 dias	01/09/2016	WL1	116,93	181,44	-55,17
11	3	2 dias	01/09/2016	WL2	113,90	285,67	-150,80
12	3	2 dias	01/09/2016	WL3	126,00	307,64	-144,16
13	4	2 dias	15/02/2017	WLC	120,96	170,96	-41,33
14	4	2 dias	15/02/2017	WL1	124,99	68,54	45,16
15	4	2 dias	15/02/2017	WL2	120,96	127,01	-5,00
16	4	2 dias	15/02/2017	WL3	129,02	167,73	-30,00
17	5	2 dias	22/02/2017	WLC	140,31	167,73	-19,54
18	5	2 dias	22/02/2017	WL1	116,12	127,01	-9,37
20	5	2 dias	22/02/2017	WL3	149,99	199,58	-33,06
21	6	2 dias	08/03/2017	WLC	78,62	67,74	13,85
22	6	2 dias	08/03/2017	WL1	66,53	64,51	3,03
23	6	2 dias	08/03/2017	WL2	72,58	54,43	25,00
24	6	2 dias	08/03/2017	WL3	76,20	52,42	31,22
1	1	4 dias	18/08/2016	WLC	125,80	206,44	-64,10
2	1	4 dias	18/08/2016	WL1	117,33	184,93	-57,62
3	1	4 dias	18/08/2016	WL2	125,80	250,25	-98,93
4	1	4 dias	18/08/2016	WL3	108,86	208,86	-91,85
5	2	4 dias	05/09/2016	WLC	165,31	174,18	-5,37
6	2	4 dias	05/09/2016	WL1	88,70	203,21	-129,09
7	2	4 dias	05/09/2016	WL2	92,74	115,32	-24,35
8	2	4 dias	05/09/2016	WL3	104,83	136,28	-30,00
9	3	4 dias	06/09/2016	WLC	174,18	47,17	72,92
10	3	4 dias	06/09/2016	WL1	290,30	28,22	90,28
11	3	4 dias	06/09/2016	WL2	193,54	70,76	63,44
12	3	4 dias	06/09/2016	WL3	169,34	38,71	77,14
13	4	4 dias	20/02/2017	WLC	167,73	184,13	-9,78
14	4	4 dias	20/02/2017	WL1	157,25	72,58	53,85
15	4	4 dias	20/02/2017	WL2	152,01	67,74	55,44
16	4	4 dias	20/02/2017	WL3	157,25	104,83	33,33
17	5	4 dias	13/03/2017	WLC	90,32	67,74	25,00
20	5	4 dias	13/03/2017	WL3	87,49	107,52	-22,89
21	6	4 dias	15/03/2017	WLC	124,19	92,53	25,49
22	6	4 dias	15/03/2017	WL1	133,06	62,60	52,95
23	6	4 dias	15/03/2017	WL2	62,09	45,56	26,62
24	6	4 dias	15/03/2017	WL3	159,67	83,26	47,85

APÊNDICE 5. Produção de biomassa e teor de umidade nas macrófitas

PRODUÇÃO DE BIOMASSA E TEOR DE UMIDADE NAS MACRÓFITAS

▪ MATERIAL E MÉTODOS

A análise do teor de umidade das macrófitas foi realizada no Laboratório de Saneamento (FEAGRI/UNICAMP). Após a retirada das plantas das *wetlands*, foram separadas as raízes da parte aérea de cada *wetland*, e as raízes foram lavadas para retirada de meio suporte e lodo aderido às mesmas. As raízes e a parte aérea foram secas à temperatura ambiente por 1 hora na sombra, na superfície do meio suporte de sua respectiva *wetland*, para que a água de lavagem escorresse das raízes.

Foram coletadas amostras da raiz e da parte aérea de cada *wetland*, pesadas de 2,0 à 5,0 gramas de raiz e de 1,5 à 2,3 gramas de parte aérea em balança analítica (marca *Marte*, modelo AY-220), acondicionadas em sacos pardos de papel e secas em estufa (marca *FANEM*, modelo 515-A) à -105°C até peso constante, com base na metodologia descrita por (He *et al.*, 2014). Após resfriamento em dessecador a amostra foi pesada novamente, e assim calculou-se a porcentagem de umidade das macrófitas.

▪ RESULTADOS E DISCUSSÃO

As biomassas secas totais de mini-papiro e aguapé retirados das *wetlands* ao final do experimento estão apresentados na Tabela A5.1., onde é possível observar que as quantidades obtidas de mini-papiro foram bem próximas para as duas *wetlands*. As massas apresentadas na Tabela A5.1. são as massas totais por *wetlands* (incluindo todas as plantas retiradas de cada sistema).

Tabela A5.1. Biomassas totais secas obtidas das macrófitas retiradas das *wetlands*.

Wetland	Macrófita	Parte aérea (g)	Raiz (g)	Total (g)
WLC	<i>Cyperus isocladius</i>	41,1	21,7	62,9
WL1	<i>Cyperus isocladius</i>	39,6	20,5	60,2
WL3	<i>Eichhornia crassipes</i>	14,1	3,0	17,1

O teor de umidade também foi analisado nas macrófitas, onde observa-se que a macrófita com maior teor de umidade foi WL1 (Tabela A5.2.). É interessante observar a diferença de umidade entre a parte aérea (55,4%) e o sistema radicular (95,4%) do aguapé, tendo em vista que no mini-papiro os valores de umidade de parte aérea e raiz são bem

próximos.

Tabela A5.2. Teor de umidade das macrófitas das *wetlands*.

Wetland	Macrófita	Parte aérea (%)	Raiz (%)	Média (%)
WLC	<i>Cyperus isocladius</i>	81,4	82,6	82,0
WL1	<i>Cyperus isocladius</i>	85,7	84,9	85,3
WL3	<i>Eichhornia crassipes</i>	55,4	95,4	75,4

▪ CONCLUSÕES

A maior produção de biomassa, tanto aérea quanto radicular, foi obtida por WLC com 62,9g (quantidade próxima à obtida em WL1). Isso pode ter causado a maior quantidade de bactérias e fungos encontrados nas raízes das macrófitas de WLC, que tenha ocorrido devido à maior quantidade de macrófitas e também a maior aeração do meio suporte que continha carvão de bambu proporcionou o melhor desenvolvimento das macrófitas de WLC.

APÊNDICE 6. Análise de nutrientes nas macrófitas

ANÁLISE DE NUTRIENTES NAS MACRÓFITAS

▪ MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram secas em estufa (marca *FANEM*, modelo 320-SE) à 65°C até peso constante, de acordo com metodologia descrita por BOARETTO *et al.* (2009), e foram trituradas em moinho de facas no Laboratório de Resíduos e Contaminantes (Embrapa Meio Ambiente).

Os teores de carbono e nitrogênio foram realizados no Laboratório de Matéria Orgânica (Embrapa Meio Ambiente), determinados por meio de combustão seca pelo Método de Dumas (AOAC, 2002) em analisador elementar de CN, modelo *TruSpec CN LECO*[®] (Leco, St Joseph, MI, USA).

As análises dos demais nutrientes (fósforo, cálcio, magnésio, potássio, sódio, ferro, cobre, manganês, zinco, níquel e alumínio) foi realizada na Central Analítica de Inorgânicos (Embrapa Meio Ambiente). A digestão das amostras foi realizada em forno de micro-ondas *Milestone* (modelo Ethos One) utilizando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, de acordo com metodologia descrita por Embrapa Solos, adaptada de "*Milestone Application Note for Acid Digestion MAXI-Agriculture-005*" em equipamento ICP-OES *OPTIMA 8300* (Perkin Elmer).

▪ RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de macro e micronutrientes foram analisadas na parte aérea e no sistema radicular (raiz) das macrófitas de WLC, WL1 e WL3. Na Tabela A6.1. são apresentadas as concentrações de macronutrientes, onde é possível observar que na parte aérea as maiores concentrações de todos os macronutrientes (nitrogênio, carbono, fósforo, cálcio, magnésio e potássio) ocorreram em WL3 (aguapé), enquanto no sistema radicular aconteceu o mesmo exceto para carbono e fósforo, que tiveram maiores concentrações no mini-papiro de WLC.

Tabela A6.1. Concentrações de macronutrientes nas macrófitas das *wetlands*.

<i>Wetland</i>	Nitrogênio (g.kg ⁻¹)	Carbono (g.kg ⁻¹)	Fósforo (g.kg ⁻¹)	Cálcio (g.kg ⁻¹)	Magnésio (g.kg ⁻¹)	Potássio (g.kg ⁻¹)
Parte aérea						
WLC	21,5	399	2912	5,9	3,2	22,6
WL1	20,9	398	4130	6,3	2,6	22,3
WL3	32,9	434	5884	16,2	4,5	41,4
Sistema radicular						
WLC	30,5	441	8492	9,7	1,0	2,0
WL1	24,8	437	3165	9,4	0,8	2,0
WL3	47,5	397	3031	15,8	1,2	18,5
TOTAL						
WLC	52,0	840	11404	15,6	4,2	24,7
WL1	45,7	835	7295	15,7	3,3	24,3
WL3	80,4	831	8915	31,9	5,7	59,9

Na Tabela A6.2. estão apresentadas as quantidades totais de macronutrientes que foram absorvidas pelas macrófitas – esse cálculo foi realizado multiplicando-se a concentração pela quantidade total de biomassa seca final na macrófita. Apesar das concentrações de macronutrientes terem sido maiores em WL3, a macrófita desta *wetland* foi a que menos gerou massa final, por isso não foi a macrófita que absorveu maiores quantidades de nutrientes.

Tabela A6.2. Massa total de macronutrientes absorvidos pelas macrófitas das *wetlands*.

<i>Wetland</i>	Massa macrófita (g)	Nitrogênio (g)	Carbono (g)	Fósforo (g)	Cálcio (g)	Magnésio (g)	Potássio (g)
Parte aérea							
WLC	41,1	0,9	16,4	119,7	0,24	0,13	0,93
WL1	39,6	0,8	15,8	163,7	0,25	0,10	0,89
WL3	14,1	0,5	6,1	83,2	0,23	0,06	0,59
Sistema radicular							
WLC	21,7	0,7	9,6	184,5	0,21	0,02	0,04
WL1	20,5	0,5	9,0	65,0	0,19	0,02	0,04
WL3	3,0	0,1	1,2	8,9	0,05	0,00	0,05
TOTAL							
WLC	62,9	1,5	26,0	304,3	0,5	0,2	1,0
WL1	60,2	1,3	24,7	228,7	0,4	0,1	0,9
WL3	17,1	0,6	7,3	92,1	0,3	0,1	0,6

No entanto, apesar da massa total final de WLC e WL1 serem muito próximas, o

mini-papiro de WLC absorveu muito mais nutrientes do que o mini-papiro de WL1. Na parte aérea WLC absorveu mais nitrogênio, carbono, magnésio e potássio, enquanto WL1 absorveu mais fósforo e cálcio; no sistema radicular WLC absorveu mais nitrogênio, carbono, fósforo e cálcio, já a absorção de magnésio foi igual para WLC e WL1, e a absorção de potássio foi maior em WL3 (apesar de sua menor quantidade final de planta). Na somatória da parte aérea e da raiz, a maior quantidade absorvida de todos os macronutrientes foram no mini-papiro de WLC.

As concentrações de micronutrientes nas macrófitas são apresentadas na Tabela A6.3. onde é possível observar que na parte aérea a maior concentração de sódio ocorreu em WL1, de ferro em WLC, e de níquel em WL1 e WL3; as maiores concentrações de cobre, manganês, zinco e alumínio foram em WL3. Já no sistema radicular as maiores concentrações de ferro, cobre, zinco e níquel ocorreram em WLC, e em WL3 as maiores concentrações de sódio, manganês e zinco (igual em WLC). Não foi possível realizar a determinação de alumínio no sistema radicular.

Observa-se na Tabela A6.3. que a somatória das concentrações de zinco e níquel foram iguais para as três macrófitas, já a maior concentração acumulada de ferro e cobre foi em WLC, de sódio em WL1, e de cobre e manganês em WL3.

Tabela A6.3. Concentrações de micronutrientes nas macrófitas das *wetlands*.

<i>Wetland</i>	Sódio (g.kg ⁻¹)	Ferro (g.kg ⁻¹)	Cobre (g.kg ⁻¹)	Manganês (g.kg ⁻¹)	Zinco (g.kg ⁻¹)	Níquel (g.kg ⁻¹)	Alumínio (g.kg ⁻¹)
Parte aérea							
WLC	13,1	0,5	0,004	0,13	0,0	0,000	224
WL1	13,4	0,3	0,003	0,10	0,0	0,003	201
WL3	7,7	0,3	0,012	0,28	0,1	0,003	283
Sistema radicular							
WLC	1,1	10,0	0,024	0,06	0,1	0,011	—
WL1	1,2	9,5	0,016	0,03	0,0	0,007	—
WL3	5,9	5,0	0,018	0,10	0,1	0,005	—
TOTAL							
WLC	14,2	10,5	0,03	0,2	0,1	0,01	—
WL1	14,7	9,8	0,02	0,1	0,1	0,01	—
WL3	13,6	5,3	0,03	0,4	0,1	0,01	—

Na Tabela A6.4. podem ser observadas as massas totais absorvidas de micronutrientes pelas macrófitas das *wetlands*. Na parte aérea as maiores absorções de sódio,

ferro, cobre, manganês e alumínio ocorreram no mini-papiro de WLC, de zinco e níquel no mini-papiro de WL1, e de cobre no aguapé de WL3. No sistema radicular WL1 absorveu a maior massa de sódio e níquel (juntamente com WLC), enquanto WLC absorveu a maior massa dos demais micronutrientes. A massa absorvida total acumulada para todos os micronutrientes foi maior em WLC, exceto para níquel, que houve maior absorção em WL1.

Tabela A6.4. Massa total de micronutrientes absorvidos pelas macrófitas das *wetlands*.

<i>Wetland</i>	Massa macrófita (mg)	Sódio (mg)	Ferro (mg)	Cobre (mg)	Manganês (mg)	Zinco (mg)	Níquel (mg)	Alumínio (mg)
Parte aérea								
WLC	41120	540,6	22,1	0,2	5,4	1,4	0,0	9196
WL1	39630	532,0	11,4	0,1	4,0	1,6	0,1	7978
WL3	14140	109,0	4,0	0,2	3,9	0,9	0,0	3995
Sistema radicular								
WLC	21730	23,9	216,5	0,5	1,4	1,4	0,2	—
WL1	20540	25,6	195,8	0,3	0,7	0,9	0,2	—
WL3	2950	17,5	14,7	0,1	0,3	0,2	0,0	—
TOTAL								
WLC	62850	565	239	0,7	6,8	2,8	0,2	—
WL1	60170	558	207	0,5	4,7	2,5	0,3	—
WL3	17090	127	19	0,2	4,2	1,0	0,1	—

▪ CONCLUSÕES

Na parte aérea as concentrações de todos os macronutrientes (nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio e potássio) ocorreram no aguapé de WL3, enquanto no sistema radicular aconteceu o mesmo exceto para carbono e fósforo, que tiveram maiores concentrações no mini-papiro de WLC. Quanto às concentrações de micronutrientes, na parte aérea a maior concentração de sódio ocorreu em WL1, de ferro em WLC e de níquel em WL1 e WL3; as maiores concentrações de ferro, cobre, zinco e níquel ocorreram em WLC, e em WL3 as maiores concentrações de sódio, manganês e zinco (igual em WLC). Quanto às concentrações de macro e micronutrientes, observa-se que na maioria dos casos o aguapé foi a macrófita que mais absorveu estes compostos.