



Avaliação de Hormônios Estrogênicos como
Desreguladores Endócrinos Presentes em Estações
de Tratamento de Esgoto

Tatiana Leão dos Santos dos Reis

Monografia em Engenharia de Bioprocessos

Orientadores

Prof. Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc.

Camila Pesci Pereira, M.Sc.

Agosto de 2017

Avaliação de Hormônios Estrogênicos como Desreguladores Endócrinos Presentes em Estações de Tratamento de Esgoto

Tatiana Leão dos Santos dos Reis

Monografia em Engenharia de Bioprocessos submetida ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de bacharel.

Aprovado por:

Isabelli do Nascimento Dias, D.Sc.

Letícia Sobral Maia dos Santos Lima, D.Sc.

Tainá da Conceição Pereira, M.Sc.

Orientado por:

Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc.

Camila Pesci Pereira, M.Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Agostode 2017

Reis, Tatiana Leão dos Santos dos.

Avaliação de Desreguladores Endócrinos em Estações de Tratamento de Esgoto/
Tatiana Leão dos Santos dos Reis. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2017.

xi, 91 p.; il.

(Monografia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2017.

Orientadores: Juacyara Carbonelli Campos e Camila Pesci Pereira

1. Hormônios Estrogênicos 2. Desreguladores. Endócrinos 3. Estações de Tratamento de Esgoto 4. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Juacyara Carbonelli Campos 6. Camila Pesci Pereira I. Título.

“Cada pessoa tem sua caminhada própria.

Faça o melhor que puder.

Seja o melhor que puder.

Os resultados virão na mesma proporção de seus esforços. ”

Mahatma Gandhi

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelas bênçãos e oportunidades que me proporcionou, assim como por ter me amparado em todos os momentos da minha vida, pela proteção, saúde e por ter colocado pessoas maravilhosas em meu caminho, durante essa jornada.

As minhas orientadoras, professora Juacyara Carbonelli Campos e Camila Pereira Pesci, por todo o ensinamento, ajuda e paciência.

A todos os meus familiares, os quais eu amo, e que sempre estiveram presentes me incentivando e me apoiando de alguma forma, ao longo dessa fase.

Agradeço, aos meus pais, Manoel e Denise, e a meu irmão Leandro, por todas as orações, todo amor, carinho, incentivo e ajuda.

Agradeço ainda aos meus amigos, com os quais compartilhei boas conversas e momentos de descontração, por toda amizade, ajuda e pelos bons conselhos.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação e para mais essa vitória.

Resumo da Monografia apresentada à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia de Bioprocessos.

**Avaliação de Hormônios Estrogênicos como Desreguladores Endócrinos
Presentes em Estações de Tratamento de Esgoto**

Tatiana Leão dos Santos dos Reis

Agosto, 2017

Orientadores: Prof. Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc.

Camila Pesci Pereira, M.Sc.

É cada vez maior a preocupação com o meio ambiente, e nos últimos anos, tem aumentando a preocupação de pesquisadores no mundo todo por substâncias que possuem caráter perssintente e estão presentes no meio ambiente em concentrações muito baixas. Tais substâncias por serem difíceis de serem detecatadas, ainda não possuem legislações específicas, são elas os hormônios naturais e sintéticos, produto de higiene pessoal, além de fámacos e pesticidas. Estes compostos podem ser ainda classificados como Desreguladores Endócrinos, e como o próprio nome sugere são capazes de alterar o sistema endócrino de seres humanos. São encontrados em concentrações da ordem de nanogramas e microgramas, logo a detecção dos DEs em diversas matrizes ambientais torna-se difícil e cara. Com o crescente consumo de medicamentos a base de hormônios e consequente excreção dos seres humanos para o meio ambiente, cada vez mais torna-se importante encontrar métodos de tratamento para remoção dessas substancias em efluentes, evitando assim a contaminação de corpos hídricos. O presente trabalho avalia a presença dos DES: estrona, 17β -estradiol, estriol e 17α -etinilestradiol em Estações de Tratamento de Esgoto. A partir do presente trabalho, pode-se concluir que a remoção dos desreguladores endócrinos em Estações de Tratamento de Esgoto gerado em ETEs não são satisfatórios, sendo necessário etapas adicionais de tratamento para a completa remoção.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO	4
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. MICROPOLUENTES	5
3.1.1 Definição, classificação e origem.....	5
3.2. DESREGULADORES ENDÓCRINOS (DE).....	5
3.3. HORMÔNIOS ESTROGÊNICOS	6
3.3.1 Hormônios Estrogênicos em Estudo no Presente Trabalho	7
3.4. MODOS DE AÇÃO DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS	12
3.4.1. Sistema Endócrino	12
3.4.2. Efeito dos Desreguladores Endócrinos sobre os Receptores	15
3.5. VIAS DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR DESREGULADORES ENDÓCRINOS	17
3.6. ECOTOXICIDADE DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	20
3.6.1. Ecotoxicidade e Legislação.....	20

3.6.2.	Relação da ecotoxicidade com os desreguladores endócrinos.....	21
4.	DESREGULADORES ENDÓCRINOS E OS INSTRUMENTOS LEGAIS.....	26
5.	MÉTODOS DE ENSAIO PARA DETERMINAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS E DETECÇÃO DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA EM AMOSTRAS AQUOSAS.....	30
5.1.	ENSAIOS IN VITRO.....	31
5.1.1.	Ensaio de ligação competitiva.....	31
5.1.2.	Ensaio de proliferação celular.....	32
5.1.3.	Ensaio de gene repórter recombinante.....	33
5.2.	ENSAIOS <i>IN VIVO</i>	34
5.3.	MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS NA DETERMINAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	35
5.3.1.	Cromatografia.....	35
5.3.2.	Extração em Fase Sólida (EFS).....	36
6.	DESREGULADORES ENDÓCRINOS NAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO.....	39
6.1.	LODO DE ESGOTO – CONCEITOS E DEFINIÇÕES.....	39
6.2.	ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO.....	40
6.2.1.	Tratamento Preliminar.....	42
6.2.2.	Tratamento Primário.....	44
6.2.3.	Tratamento Secundário.....	44
6.2.4.	Tratamento Terciário.....	45

6.3.	PROCESSOS ENVOLVIDOS NA REMOÇÃO DOS ESTROGÊNIOS EM ETEs.....	45
6.3.1.	Processo de Sorção	47
6.3.2.	Processo de Biodegradação.....	49
6.4.	PROCESSOS DE REMOÇÃO DE ESTROGÊNIO NO ESGOTO	51
6.4.1.	Sistemas de lodos ativados (LA).....	54
6.4.2.	Biorreatores com membrana (MBR)	59
6.5.	DESTINO DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTOS	62
7.	PRESENÇA DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM DIVERSAS MATRIZES AMBIENTAIS	66
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Representação estrutural molecular do estrogênio estrona	9
Figura 2 - Representação estrutural molecular do estrogênio estriol	10
Figura 3 - Representação estrutural molecular do estrogênio 17 β -estradiol	11
Figura 4 - Representação estrutural molecular do estrogênio 17 α -etinilestradiol.....	11
Figura 5 - Algumas glândulas, órgão e tecidos que enviam e recebem mensagens hormonais no corpo	13
Figura 6 - Efeitos dos desreguladores endócrinos sob os receptores.....	15
Figura 7 - Disfunções endócrinas – (a) resposta natural, (b) efeito agonista, (c) efeito antagonista	16
Figura 8 - Representação esquemática da principal via de entrada de desreguladores endócrinos em sistemas aquáticos.	18
Figura 9 - Representação esquemática simplificada da seqüência de processos que leva à síntese do biomarcador de exposição VTG em peixes machos.....	23
Figura 11 - Fluxograma para avaliação das propriedades da "desregulação endócrina" para a saúde humana	27
Figura 12 - Etapas de extração em fase sólida: A) Condicionamento do cartucho; B) Passagem da amostra; C) Lavagem dos cartuchos para retirada dos interferentes e D) Eluição dos analitos.	37
Figura 10 - Grades e caixa de areia no tratamento preliminar.....	43
Figura 13 - Principais processos envolvidos na remoção dos estrogênios.	47
Figura 14 - Representação esquemática das etapas envolvidas no processo de tratamento por lodos ativados em batelada sequencial.....	55
Figura 15 - Fluxograma de sistema convencional de lodos ativados.	56
Figura 16 - Diagrama de um Biorreator com Membrana	59

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Estrutura básica de um estrogênio e de: estrona, 17β -estradiol, estriol e 17α -etinilestradiol.....	9
Quadro 2 - Características dos principais níveis de tratamento	41
Quadro 3 - Formas de aprimorar a remoção de estrogênios desde a geração até o fim do processo de tratamento de esgoto.	53

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Características químicas dos estrogênios estrona, 17 β -estradiol, estriol e 17 α -etinilestradiol	8
Tabela 2 - Quantidade média de estrógenos excretada diariamente.	19
Tabela 3 - Exemplo de diferentes sorventes que são utilizados para extração em fase sólida.....	38
Tabela 4 - Eficiência de remoção de desreguladores endócrinos encontrados em efluentes de ETEs e sua respectiva eficiência de tratamento.....	64
Tabela 5 - Concentrações do hormônio natural estrona em diferentes matrizes ambientais	67
Tabela 6 - Concentrações do hormônio natural 17 β -estradiol em diferentes matrizes ambientais	69
Tabela 7 - Concentrações do hormônio natural Estriol em diversas matrizes ambientais.....	71
Tabela 8 - Concentrações do hormônio sintético 17 α -etinilestradiol em diferentes matrizes ambientais.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BPA: Bisfenol A

CG-MS: Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DDT: Dicloro-Difenil-Tricloroetano

DE: Desregulares Endócrinos

DES: Dietilestilbestrol

DQO: Demanda Química de Oxigênio

E1: Estrona

E2: 17 β -estradiol

E3: Estriol

EE2: 17 α -etinilestradiol

EFS: Extração em Fase Sólida

HPLC-MS: Cromatografia Líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas

LA: Lodo Ativado

MBR: Membrane Bioreactors

POA: Processo Oxidativo Avançado

UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket

TRH: Tempo de Detenção Hidráulica

TRS: Tempo de Retenção de Sólidos

YES:

Yeast

Estrogen

Scree

1. INTRODUÇÃO

A grande expansão dos centros urbanos e industriais no país é relativamente recente e como consequência vem promovendo a degradação progressiva da qualidade dos recursos hídricos, devido ao aumento da contaminação de rios, lagos e reservatórios por compostos xenobióticos. No Brasil, essa situação torna-se altamente previsível, considerando seu crescimento populacional, econômico e industrial. Por estes motivos, a preservação dos recursos hídricos torna-se essencial para a sobrevivência e desenvolvimento do país.

Os micropoluentes são substâncias presentes no meio ambiente em concentrações na ordem de $\mu\text{g/L}$ e ng/L , estão entre os xenobióticos que despertam maior preocupação nas áreas relacionadas à química ambiental. Os desreguladores endócrinos e os poluentes orgânicos emergentes são classes de substâncias muito investigadas devido, principalmente, aos seus efeitos no meio ambiente, como em corpos hídricos, solo ou ar, e aos possíveis efeitos adversos aos organismos expostos em concentrações realmente baixas (BILA e DEZOTTI, 2007). Seus efeitos podem ser agudos ou crônicos, dependendo do tempo de exposição, concentração no ambiente, modo de contato com o produto e tipo de degradação, interferindo no padrão hormonal dos reprodutores e promovendo queda na fertilidade e até infertilidade (AKINGBEMI et al., 2004). Muitas dessas substâncias são persistentes no meio ambiente, acumulam-se no solo e no sedimento de rios, sendo facilmente transportadas de suas fontes até longas distâncias. Acumulam-se ao longo da cadeia trófica, representando sério risco à saúde daqueles que se encontram no topo da cadeia alimentar (MEYER, SARCINELLI e MOREIRA, 1999).

A problemática dos micropoluentes vem sendo cada vez mais estudada devido ao aprimoramento das técnicas de química analítica instrumental e das técnicas de extração que permitem quantificar e identificar pequenas quantidades de compostos presentes no meio ambiente, que até então passavam despercebidos por análises químicas (KUSTER et al., 2008; GUITART e READMAN, 2010).

A partir do fim da década de 1970, o monitoramento dos microcontaminantes no meio ambiente vem ganhando destaque na comunidade científica (HIGNITE & AZARNOFF, 1977; AHERNE; ENGLISH; MARKS, 1985), especialmente devido ao reconhecimento dos seus efeitos, tais como toxicidade aquática, genotoxicidade, perturbação endócrina em animais selvagens, seleção

de bactérias patogênicas resistentes, entre outros (HALLING-SØRENSEN et al., 1998; KIM & AGA, 2007; KÜMMERER, 2010).

A tradução do termo *endocrine disrupting chemicals* tem gerado diversas outras denominações tais como: perturbadores endócrinos, disruptores endócrinos, agentes hormonalmente ativos e interferentes endócrinos (GHISELLI & JARDIM, 2007). O termo “perturbador endócrino” tem origem na tradução exata da palavra “disrupt”, que significa desfazer, perturbar ou interromper. O termo “disruptor endócrino” vem do aportuguesamento da palavra “disrupting” e não é definido pela língua portuguesa. O termo “agente hormonalmente ativo” é usado pelo fato de os compostos mimetizarem a ação de hormônios. Por sua vez, os termos “interferentes endócrinos” ou “desreguladores endócrinos” são usados para se referir a esses compostos, já que os mesmos interferem ou desregulam, de alguma forma, o funcionamento natural do sistema endócrino de espécies animais. Para efeito de consistência, neste trabalho optou-se pelo uso do termo “desregulador endócrino”, cujo significado foi julgado como mais adequado.

De acordo com a *Environmental Protection Agency* (EPA), desregulador endócrino pode ser definido como “agente exógeno” que interfere na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônio natural nos corpos que são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento dos organismos. Com base em informações disponíveis na literatura foram elaboradas, por várias organizações mundiais, listas de substâncias naturais e sintéticas suspeitas de causar desregulação do sistema endócrino (PETROVIC et al., 2001). Nesse grupo de contaminantes estão incluídos os fármacos de diversas classes (ex.: analgésicos; antibióticos; reguladores lipídicos; anti-inflamatórios; hormônios sintéticos), substâncias utilizadas em produtos de limpeza e higiene pessoal, compostos aplicados na produção de resinas e plásticos, além de hormônios naturais e outros.

Os DEs podem atingir as redes de coleta de esgoto por meio do lançamento de águas cinzas (derivadas dos chuveiros, lavatórios e lavanderias), águas negras (excretas de indivíduos que podem conter medicamentos de uso oral e hormônios naturais) e descarte, nas instalações sanitárias, de medicamentos não usados ou com prazos de validade expirados (GHISELLI & JARDIM, 2007).

As estações de tratamento de esgoto (ETE) normalmente empregam processos biológicos como principal tecnologia e, em poucos casos, utilizam técnicas complementares de tratamento. Dessa forma, as unidades da ETE são projetadas para reduzir a carga de poluentes orgânicos e, eventualmente, nutrientes e microrganismos patogênicos, não objetivando especificamente a

remoção de DEs presentes no esgoto sanitário (que ocorre apenas parcialmente). Qualquer remoção desses compostos que possa ocorrer é inerente ao processo de tratamento (AQUINO, 2013).

A contaminação ambiental por desreguladores endócrinos constitui tópico internacionalmente importante que implica diretamente na qualidade de vida dos seres humanos, na preservação da biota e na proteção dos recursos hídrico devido ao pouco conhecimento que se tem sobre o destino, o comportamento e efeitos adversos desses compostos em organismo vivos.

2. OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo geral avaliar a presença de desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto, assim como as suas consequências ao meio ambiente.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação da Legislação Aplicada a Desreguladores Endócrinos;
- Levantamento de métodos de quantificação e análises dos Desreguladores Endócrinos em amostras aquosas;
 - Análise do comportamento dos desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto (ETEs);
 - Levantamento da presença de DEs em diferentes matrizes ambientais.

Para isso, o presente trabalho está estruturado da seguinte forma: o capítulo 3 apresenta uma revisão bibliográfica mostrando conceitos e aplicações dos temas relacionados a presença de desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto. Os capítulos 4, 5, 6 e 7 apresentam cada um dos objetivos especificados no trabalho.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No presente capítulo serão discutidos aspectos relacionados à presença de desreguladores endócrinos em ETEs, assim como sua caracterização. Serão também abordadas questões referentes aos desreguladores endócrinos, tais como sua definição, mecanismos de ação e principais aspectos normativos encontrados na literatura.

3.1. MICROPOLUENTES

3.1.1 Definição, classificação e origem

Os micropoluentes são substâncias contidas no meio ambiente em concentrações muito baixas, na ordem de nanogramas ou microgramas por litro. Tais compostos mesmo estando em concentrações muito baixas no meio ambiente causam efeitos adversos a saúde humana e ao meio ambiente (Dellagrave, 2012).

3.2. DESREGULADORES ENDÓCRINOS(DE)

Os primeiros relatos de substâncias químicas que agiam como desreguladores endócrinos foram pelo uso do Dietilestilbestrol, um medicamento usado por mulheres entre os anos 50 e 70, o qual apresentou resultados desastrosos, como o câncer de vagina e infertilidade nas filhas nascidas de mães que o usaram, além de deformações irreversíveis do útero (BILA e DEZOTTI, 2007).

Os DEs, como o próprio nome sugere, são substâncias que alteram o sistema endócrino dos seres humanos, alterando a homeostasia do mesmo, desencadando uma série de reações químicas adversas. Tais substâncias são capazes de se ligar aos receptores hormonais de forma agonista, mimetizando a ação dos hormônios ou de forma antagonista, bloqueando a ação do mesmo (GHISELLI, 2006).

Os disruptores endócrinos (DEs) são uma gama de substâncias químicas que interferem no sistema hormonal, alterando a forma natural de comunicação do sistema endócrino, causando distúrbios na vida selvagem e também na saúde do próprio homem.

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

- a) Substâncias sintéticas utilizadas na agricultura e seus subprodutos, como pesticidas, herbicidas, fungicidas e moluscicidas;
- b) Substâncias sintéticas utilizadas nas indústrias e seus subprodutos, dioxinas, policlorados (PCB), compostos orgânicos de estanho, retardante de chama bromados, parabenos, alquilfenóis e seus subprodutos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), metais pesados, ftalatos e bisfenol A;
- c) Substâncias naturais, como fitoestrogênios (genistéina e metarresinol) e os estrogênios naturais estriol, 17 β -estradiol e estrona e;
- d) Substâncias sintéticas (uso farmacêutico), como o 17 α -etinilestradiol.

3.3. HORMÔNIOS ESTROGÊNICOS

O uso deliberado de hormônios para a reprodução de peixes fêmeas e engorda de gados e aves na medicina veterinária e por empreendedores é um problema que vem crescendo rapidamente nas últimas décadas, além disso, têm se tornando cada vez mais comum o consumo de medicamentos como anticoncepcionais e repositores hormonais. A partir desses fatos, a comunidade científica se atenta para o consumo dos hormônios sexuais estrogênicos, por se tratarem de substâncias extremamente ativas e apresentarem maior potencial de ação no sistema endócrino se comparado a outras substâncias consideradas como interferentes endócrinos (HAMID; ESKICIOGLU, 2012; NOOPE et al., 2008).

As cinco principais classes de hormônios esteroides são: estrogênios, andrógenos, progestágenos, glicocorticóides e mineralcorticóides, sendo o colesterol o precursor desses hormônios. Essas classes estão divididas de acordo com suas características estruturais. Há presença tanto de hormônios naturais, quanto de hormônios sintéticos nessas cinco classes (GUEDES-ALONSO et al., 2014).

Os estrogênios são os principais responsáveis pelo crescimento, pela reprodução de espécies animais, incluindo os seres humanos e também por regularem outros processos fisiológicos, tais como a função imunológica e a homeostase mineral. São substâncias lipossolúveis e de baixa massa molar. Em geral são rapidamente absorvidos pelo organismo e, então, metabolizados no fígado (HAMID; ESKICIOGLU, 2012; NOOPE et al., 2008; KJELDEN; BONEFELD-JØRGENSEN, 2013).

3.3.1 Hormônios Estrogênicos em Estudo no Presente Trabalho

Os estrogênios naturais estrona, 17β -estradiol e o estradiol são hormônios excretados continuamente por mulheres e animais vertebrados fêmeas via urina e fezes. Com relação ao hormônio sintético 17α -etinilestradiol, é um dos medicamentos mais utilizados no mundo presente nas formulações da maioria das pílulas anticoncepcionais (RIBEIRO et al., 2010).

Os hormônios estrogênicos presentes nos organismos femininos são responsáveis pela regulação do ciclo menstrual, estímulo ao desenvolvimento do endométrio (membrana que reveste a parede uterina) e também dos seios, além disso, está relacionado ao desenvolvimento e comportamento do organismo de uma forma geral. Portanto, pode-se afirmar que os estrogênios são responsáveis pelo desenvolvimento do organismo feminino (NASSIF et al., 2005).

Na Tabela 1 estão apresentadas algumas propriedades químicas dos hormônios estrogênicos em estudo: estrona (E1), 17β -estradiol (E2), estriol (E3) e 17α -etinilestradiol (EE2).

Tabela 1 - Características químicas dos estrogênios estrona, 17 β -estradiol, estriol e 17 α -etinilestradiol

Sigla	Fórmula Molecular	Massa Molar (g/mol)	Log K _{ow}	K _{sorção}	Solubilidade em água em mg/L (20°C)	pKa
E1	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,37	3,13	4882	30	10,4
E2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,3	4,01	3300	3,6	10,4
E3	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288,37	2,45	1944	116	--
EE2	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,41	3,67	4770	441	10,46- 10,7

pKa; cologarítmo da constante de dissociação ácida; Log K_{ow}: coeficiente de partição octanol água; K _{sorção}: constante de sorção

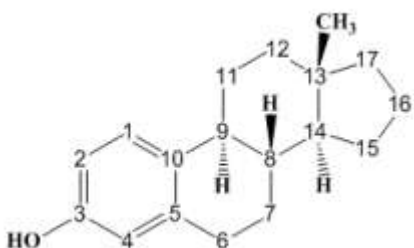
Fonte: Ghiselli; Jardim (2007); Hamid; Eskicioglu (2012).

O K_{ow} é um parâmetro muito importante e frequentemente usado na descrição do comportamento de uma substância no ambiente. O octanol é capaz de representar o caráter lipídico da biota, por causa da mesma proporção entre carbono e oxigênio, sendo assim, o octanol representa satisfatoriamente o material orgânico contido em solos e sedimentos. Como o K_{ow} é definido em termos das concentrações de um soluto em octanol e em água, pode ser visto como uma relação de solubilidade em octanol e água, sendo adimensional. Por isso, K_{ow} é uma medida da hidrofobicidade (MACKAY, 1991).

A partir dos valores da Tabela 1, pode se constatar que os estrogênios são compostos moderadamente hidrofóbicos, com valores de coeficientes de partição octanol-água maiores que 2,81 e possuem altos valores de pKa, o que indica baixa dissociação dos hormônios em meios aquosos. No entanto, diante dos altos valores do coeficiente de sorção espera-se que esses hormônios apresentem alto potencial de sorção em solos e sedimentos, o que causa redução de suas concentrações em meios aquosos e contribui para preservação dos corpos hídricos (DOLAR et al., 2012; LAI et al., 2000; SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012; YING; KOOKANA; RU, 2002).

Segundo a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), os hormônios estrogênicos possuem uma estrutura química básica de 17 átomos de carbono dispostos em quatro anéis ligados entre si. Esta estrutura pode conter ligações duplas, grupos metilas, carbonilas e hidroxilas que darão origem a uma série de hormônios derivados. Embora, os quatro estrogênios em estudo possuam estruturas químicas semelhantes, eles se diferenciam pelos radicais do carbono 16, e no caso do 17 α -etinilestradiol no carbono17, como apresentado no Quadro 1 (GUEDES-ALONSO et al., 2014; LINTELMANNI et al., 2003; YING; KOOKANA; RU, 2002).

Quadro 1 - Estrutura básica de um estrogênio e de: estrona, 17β-estradiol, estriol e 17α-etinilestradiol

Estrutura Básica	Estrogênio	C16	C17
	Estrona	-	$\equiv\text{O}$
	17 β- estradiol	-	$\blacktriangleleft\text{OH}$
	Estriol	$\cdots\text{OH}$	$\blacktriangleleft\text{OH}$
	17 α - etinilestradiol	-	$\blacktriangleleft\text{OH}$ $\cdots\text{C}\equiv\text{CH}$

Fonte: Adaptada de Guedes – Alonso et al. (2014)

3.3.1.1 Estrona

De acordo com Zhang 2013, a estrona (Figura 1) é excretado diariamente por homens e mulheres, conseqüentemente é uma das causas de ser encontrado com certa frequência em águas residuárias, de efluentes de esgoto e águas subterrâneas.

Confome citado na dissertação de Cais (2006), a estrona (E1) possui um potencial de cerca de duas a três vezes menor do que o 17β-estradiol. Além disso, pode ser obtido a partir da degradação por oxidação do 17β-estradiol.

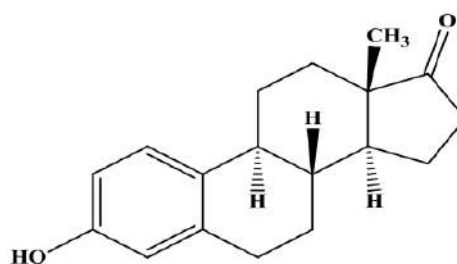


Figura 1 - Representação estrutural molecular do estrogênio estrona

Fonte: Guedes – Alonso et al. (2014)

3.3.1.2. Estriol

O estrogênio natural estriol (Figura 2) está presente na circulação sanguínea de homens e mulheres. É sintetizado em grandes quantidades durante a gravidez pela placenta e há um aumento em sua concentração, com isso a quantidade de estriol excretada por gestantes é significativamente maior em comparação à excreção dos estrogênios estrona e 17β -estradiol. O estriol é um metabólito proveniente da oxidação do 17β -estradiol (PRATER; HORTON; THOMPSON, 2015).

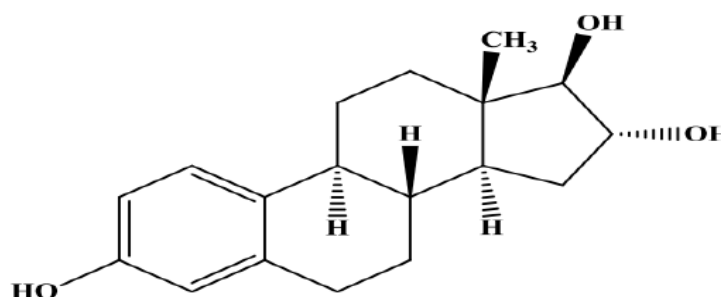


Figura 2 - Representação estrutural molecular do estrogênio estriol

Fonte: Guedes – Alonso et al. (2014)

3.3.1.3. 17β -estradiol

O 17β -estradiol, representado na Figura 3, é um estrogênio natural que estimula a proliferação e crescimento nos órgãos do trato reprodutivo, ativa o desenvolvimento do endométrio do útero, e influencia na libido (LINTELMANN et al. 2003).

A molécula desse estrogênio possui no total 18 átomos de carbono e conta com um grupo hidroxila ligada ao anel de cinco membros e um anel fenólico, que é o componente estrutural responsável pela alta afinidade em ligar-se ao receptor de estrogênio e elucidar a resposta estrogênica. Sendo assim, processos que sejam capazes de alterar o anel fenólico tendem a suprimir a afinidade estrogênica pelo receptor. O grupo hidroxila no átomo de carbono 17 pode estar na posição equatorial ou axial, o que influenciará seu potencial estrogênico. O 17β -estradiol é cerca de 10 vezes mais potente que o 17α -estradiol, que é proveniente de resíduos de animais (HUBER et al., 2003).

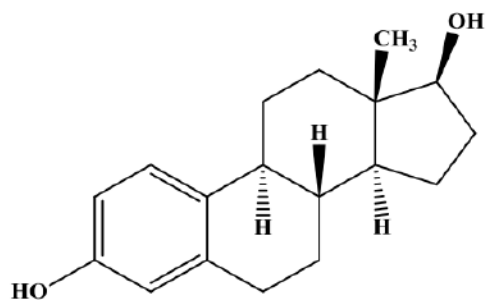


Figura 3 - Representação estrutural molecular do estrogênio 17β-estradiol

Fonte: Guedes – Alonso et al. (2014)

3.3.1.4 17α-etinilestradiol

O 17α-etinilestradiol (EE2), representado na Figura 4, é um derivado do hormônio natural estriol. Atualmente é o principal componente estrogênico utilizado em formulações de contraceptivos orais e é um dos medicamentos mais consumidos no mundo (STIPIC et al., 2011; PEIXOTO, 2009). Embora ambos estrogênios (17α-etinilestradiol e estriol) possuam estruturas químicas semelhantes, o EE2 é mais resistente a biodegradação e apresenta maior afinidade pelo receptor de estrogênio. Pesquisas apontam que a resposta estrogênica do EE2 em comparação às respostas dos hormônios 17β-estradiol (E2) e estrona pode ser até duas vezes mais elevada para seres humanos. Além disso, em estudos realizados em peixes, esse hormônio tem se mostrado de 30 vezes mais potente do que o E2 (ARIS; SHAMSUDDIN; PRAVEENA, 2014; COLMAN et al. 2009; LIMA; SCHNEIDER; ESTEVES, 2012; SAARISTO et al., 2009; TOMŠÍKOVÁ et al., 2012).

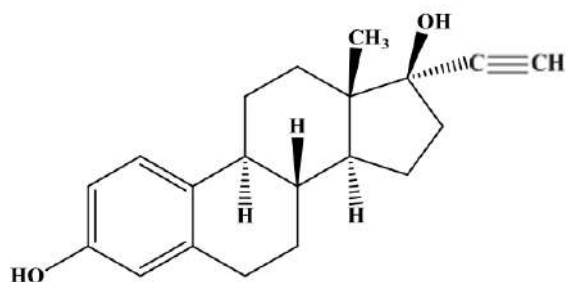


Figura 4 - Representação estrutural molecular do estrogênio 17α-etinilestradiol

Fonte: Guedes – Alonso et al. (2014)

3.4. MODOS DE AÇÃO DOS DESREGULADORES ENDOCRINOS

3.4.1. *Sistema Endócrino*

Os principais sistemas que controlam e coordenam o funcionamento do organismo são: o sistema nervoso e o sistema endócrino, que estão presentes em quase todos os animais multicelulares (EUROPEAN COMMISSION, 2015).

O sistema endócrino ou hormonal do homem é formado por um conjunto de glândulas posicionadas em todo corpo que inclui a hipófise pituitária, a tireóide, as paratireóides, as adrenais (ou supra-renais), as gônadas (testículos e ovários) e o pâncreas. Os hormônios são substâncias químicas produzidas e excretadas pelas glândulas e liberados para a corrente sanguínea e os receptores nos vários órgãos e tecidos que reconhecem e respondem aos mesmos. Através dos hormônios, o sistema endócrino promove uma delicada integração entre diferentes tecidos do corpo humano; é responsável por regular o crescimento e o desenvolvimento, o metabolismo corporal, a reprodução, o sono, a sede, a fome e a imunidade. A Figura 5 ilustra as glândulas que mais tradicionalmente estão relacionadas ao sistema endócrino no homem e na mulher (COLBORN et al. 1997).

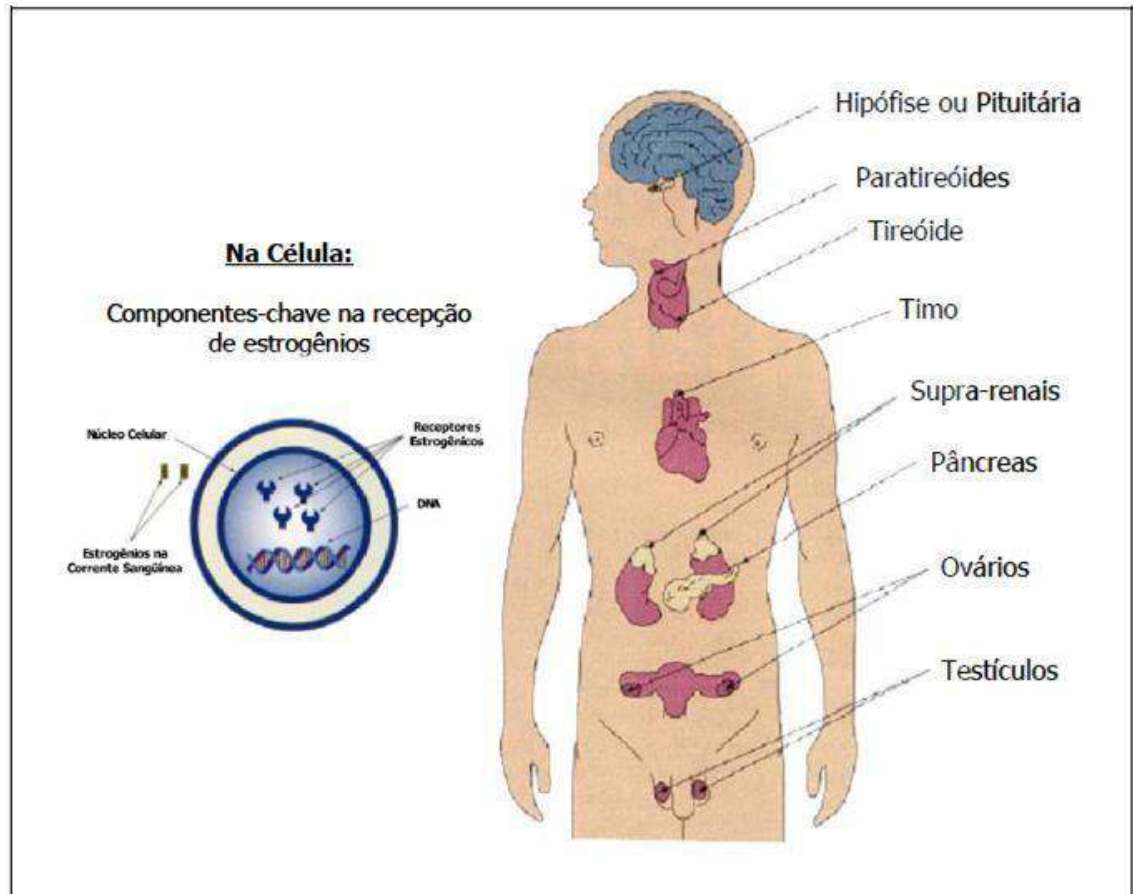


Figura 5 - Algumas glândulas, órgão e tecidos que enviam e recebem mensagens hormonais no corpo

Fonte: GHISELLI (2006).

Os hormônios atuam como mensageiros químicos que circulam no sangue, promovendo a ligação entre os vários órgãos do sistema reprodutivo, coordenam o trabalho sincronizado dos órgãos e tecidos para manter o funcionamento do corpo. O hipotálamo monitora constantemente os níveis de hormônios no sangue. Se os níveis de um determinado hormônio estiverem muito altos ou baixos, o hipotálamo manda uma mensagem à pituitária; esta indica para a glândula produtora desse hormônio se deve acelerar a produção, trabalhar mais devagar ou interromper as atividades. Assim, as mensagens vão e vêm continuamente. Sem esse constante *feedback*, o corpo humano seria uma multidão de, mais ou menos, 50 trilhões de células, ao invés de um organismo integrado, operando com um roteiro único. Qualquer interferência neste sistema extremamente balanceado pode levar a um desenvolvimento inadequado do mesmo e alterações significativas dos vários processos que ali ocorrem (COLBORN et al. 1997). Portanto, o controle hormonal reprodutivo começa no cérebro, por intermédio do hipotálamo (sistema nervoso central), que por meio da secreção hormonal gonadotrófica (GnRH) governa a atividade da hipófise pituitária, a qual serve como um amplificador

do sinal cerebral dado pelos hormônios gonadotróficos, liberando o hormônio luteinizante (LH) e o estimulador de folículos (FSH), conforme esquematizado na Figura 6.

HIPOTÁLAMO - O hipotálamo, é responsável pela regulação da liberação e inibição dos hormônios da hipófise, também produz oxitocina e ADH ("antidiuretic hormone") (LEHNINGER et al., 2004, p. 881).

HIPÓFISE: é um pequeno órgão, pesando cerca de 0,5 g, que se localiza na sela túrcica do osso esfenóide. Ela liga-se por um pedúnculo ao hipotálamo na base do cérebro, com o qual guarda importantes relações anatômicas e funcionais. A hipófise pode ser dividida em lobo anterior e lobo posterior (LEHNINGER et al., 2004, p. 881).

A hipófise anterior secreta seis hormônios: hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), hormônio tireoestimulante (TSH), hormônio de crescimento (GH), hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH) e Prolactina.

GLÂNDULA TIREÓIDE: A glândula tireóide mantém o metabolismo dos tecidos em nível ótimo para suas funções normais. O hormônio tireoideano estimula o consumo de oxigênio da maioria das células do organismo, auxilia a regulação do metabolismo dos carboidratos e dos lipídeos e é necessário para o crescimento e maturação normais. A glândula não é essencial para a vida, porém, sua ausência acarreta menor resistência ao frio, lentidão física e mental e, em crianças, retardamento mental e nanismo. Por outro lado, o excesso de secreção tireoideana produz desgaste corporal, nervosismo, taquicardia, tremores e produção excessiva de calor. A função tireoideana é regulada pelo hormônio tiro-estimulante (TSH) da hipófise anterior. A secreção deste hormônio tireoideano é regulada em parte, por retroativação inibitória, dependente de níveis altos de hormônio tireoideano circulante sobre a hipófise e, em parte, por mecanismos nervosos que agem por intermédio do hipotálamo (LEHNINGER et al., 2004, p. 881).

GLÂNDULAS PARATIREÓIDES: são quatro glândulas muito pequenas, cujo peso total não passa de 0,2 g. Localizam-se na face posterior da tireóide, geralmente dentro da cápsula que reveste os lobos dessa glândula. Algumas vezes situam-se no interior da tireóide. Cada paratireóide é envolvida por uma cápsula de tecido conjuntivo. Dessa cápsula partem trabéculas para o interior da glândula, que são contínuas com as fibras reticulares que sustentam os grupos de células secretoras. Esses grupos celulares são alongados, conferindo à glândula um aspecto cordonal (LEHNINGER et al., 2004, p. 881).

GLÂNDULAS SUPRA-RENAIS OU ADRENAIS: em número de duas, cada uma situada sobre o pólo superior de cada rim. São achatadas e têm forma de meia-lua. O tamanho das adrenais varia com a idade e as condições fisiológicas do indivíduo, mas em geral, no adulto, as duas glândulas juntas pesam cerca de 8 g. As adrenais são constituídas por uma camada denominada cortical ou córtex da adrenal, e outra camada denominada camada medular ou medula da adrenal (LEHNINGER et al., 2004, p. 881).

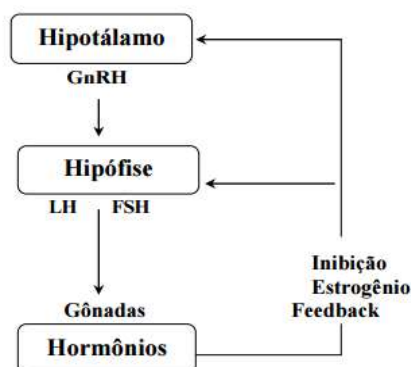


Figura 6 - Efeitos dos desreguladores endócrinos sob os receptores

Fonte: COLBORN et al 1997

3.4.2. *Efeito dos Desreguladores Endócrinos sobre os Receptores*

O receptor de estrogênio é uma proteína especial existente dentro das células em muitas partes do corpo, inclusive no útero, na mama, no cérebro e no fígado. As moléculas de hormônio são minúsculas se comparadas aos amplos receptores, elas se encaixam como um mecanismo chave e fechadura. Uma vez conectados se movem em direção ao núcleo da célula. Essa união entre hormônio e receptor tem em sua mira os genes que desencadeiam a produção de proteínas específicas (COLBORN et al., 1997).

Um determinado hormônio natural inicia sua ação ao se ligar em um receptor hormonal específico, porém, os desreguladores endócrinos também podem se ligar a esses receptores, provocando diferentes respostas. Na Figura 7 está apresentado um esquema simplificado dos efeitos que podem ser causados em nível celular.

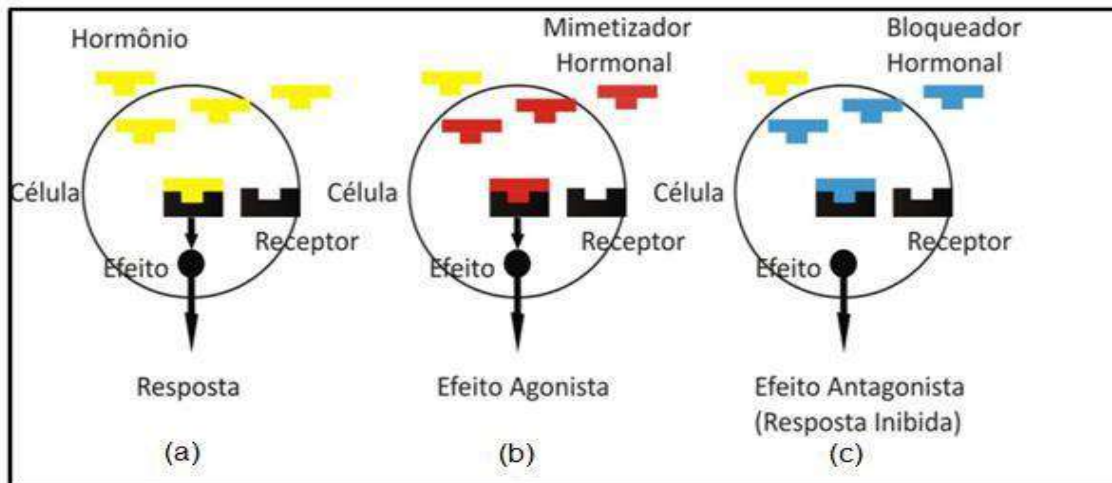


Figura 7 - Disfunções endócrinas – (a) resposta natural, (b) efeito agonista, (c) efeito antagonista

Fonte: GHISELLI, (2006); PESSOA, (2012).

a - Resposta natural: nesse caso a célula age em processo normal uma vez que, o hormônio natural se liga a seu receptor e ativa os genes no núcleo da célula para produzir respostas biológicas apropriadas. No caso do estrogênio, essas proteínas aceleram a divisão celular (GHISELLI; JARDIM, 2007).

b - Efeito Agonista: o desregulador endócrino é semelhante ao estrogênio, podendo se ligar ao receptor hormonal como o substrato natural e “ativá-lo”, produzindo uma resposta. Nesse caso, o DE vai mimetizar a ação de um determinado hormônio natural e a célula estará sob efeito de um mimetizador (GHISELLI; JARDIM, 2007).

c - Efeito Antagonista: o DE ao se ligar no receptor hormonal não produzirá nenhuma resposta e irá bloquear a ação de um determinado hormônio natural, impedindo que esse se encaixe ao receptor, fazendo com que a célula fique sob o efeito de um bloqueador (GHISELLI; JARDIM, 2007).

Os desreguladores endócrinos que possuem ação mimetizadora ou bloqueadora competem pelos sítios de ação dos receptores hormonais. A substância química que vencer essa competição irá alterar a atividade celular, modificando as respostas, sinais e mensagens das células provocando alterações no desenvolvimento hormonal (KABIR; RAHMAN, M. S.; RAHMAN, I., 2015).

Uma síntese de como ocorre a ação dos desreguladores endócrinos a nível celular se dá pelo fato dos mesmos atuarem imitando a resposta de um hormônio natural; bloqueando os receptores hormonais afetando a biossíntese, o metabolismo e transporte dos hormônios naturais; além disso, podem agir a nível do genoma, influenciando a expressão de genes (HAMPL; KUBÁTOVÁ; STÁRKA, 2014; LINTELMANN et al., 2003).

3.5. VIAS DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR DESREGULADORES ENDÓCRINOS

Os desreguladores endócrinos podem atingir os corpos d'água tanto por fontes pontuais como difusas. As fontes pontuais apresentam um ponto de entrada no meio ambiente bem caracterizado, geralmente pelos corpos d'água. Esse grupo engloba os derramamentos acidentais, atividades de mineração, enchentes, descargas de efluentes industriais e domésticos. Em contrapartida as fontes difusas não apresentam um meio de entrada bem caracterizado no meio ambiente, como as deposições atmosféricas e escoamentos superficiais, na maioria dos casos proveniente das práticas agrícolas (GHISELLI; JARDIM, 2007; HAMID; ESKICIOGLU, 2012). A Figura 8 exemplifica o modo de entrada destes contaminantes para os ecossistemas.

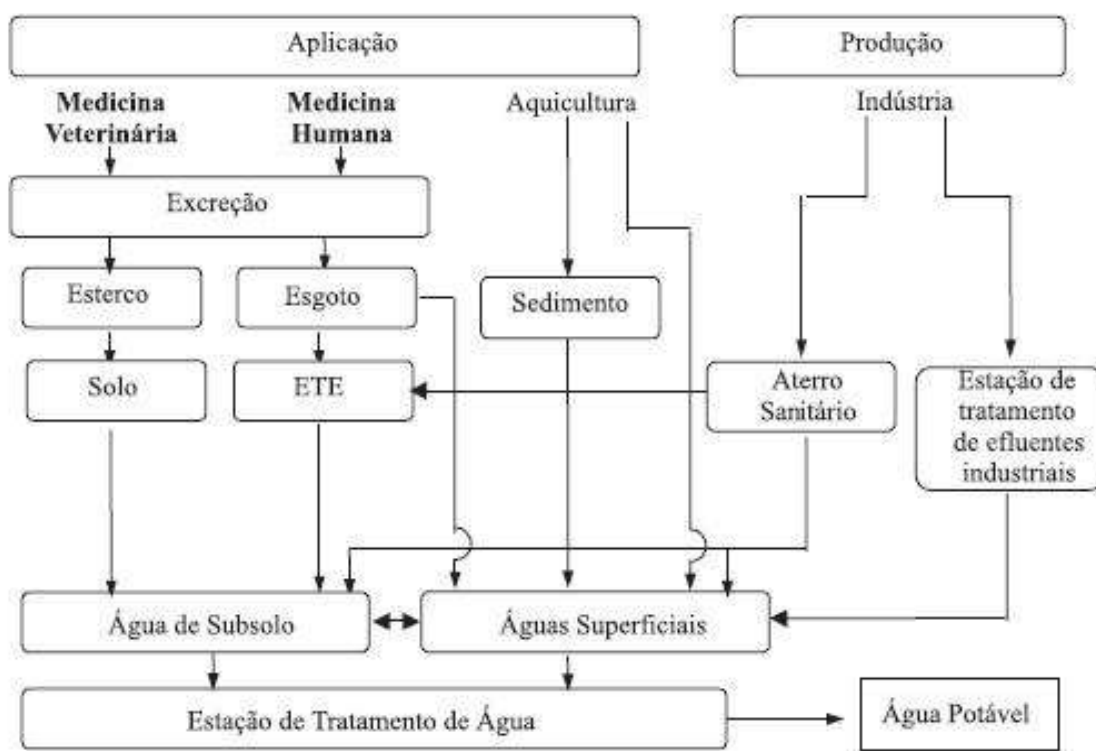


Figura 8 - Representação esquemática da principal via de entrada de desreguladores endócrinos em sistemas aquáticos.

Fonte: Adaptado de: Hirsch et al. (1999); Jorgensen e Halling-Sorensen (2000); Reis Filho, Araújo e Vieira (2006); Aquino, Brandt e Chernicharo (2014).

Porém, os meios de exposição aos DEs não estão relacionados apenas ao contato com águas contaminadas por eles. De acordo com Aquino et al.(2013) a exposição aos desreguladores endócrinos podem ser a partir de três origens:

- Origem humana: uso de medicamentos, excreção de hormônios naturais, produtos de limpeza e higiene pessoal;
- Origem na agropecuária: excreção de hormônios naturais, aplicação de promotores de crescimento nos animais, uso de pesticidas, reúso de lodo de ETE na agricultura;
- Origem industrial: indústria farmacêutica, produção de plástico, entre outras.

A fonte mais comum de hormônios estrogênicos que chegam até os ecossistemas aquáticos é por meio de efluentes domésticos, uma vez que os processos convencionais aplicados nas ETEs não

removem totalmente essas substâncias (CHANG et al., 2011; GOMES; SCRIMSHAW; LESTER, 2003; LIU; KANJO; MIZUTANI, 2009).

No entanto, além do esgoto doméstico há outras vias de entrada dessas substâncias (DEs) no meio ambiente, tais como: lixiviação de campos irrigados com efluente de esgoto, de aterros sanitários ou de áreas agrícolas adubadas com esterco; efluentes de cooperativas e de viveiros; escoamento de pastagens; efluentes e resíduos industriais; resíduos excretados por animais, como por exemplo, gados e suínos (BAREL-COHEN et al.; KHANAL, et al., 2006).

Todos os dias diversos organismos excretam quantidades significativas de desreguladores endócrinos. Tal fato está relacionado a diversos fatores tais como idade, estado de saúde, dieta ou gravidez. Foi observado, por exemplo, que a quantidade de estrogênios que são excretados por mulheres grávidas é de até quatro mil vezes maior do que em mulheres não gestantes, dependendo do estágio da gravidez (Tabela 2) (SOUZA, 2011).

Tabela 2 - Quantidade média de estrógenos excretada diariamente.

Estrogênio	Excreção Masculina (µg/24h)	Excreção Feminina (Mestruação) (µg/24h)	Excreção (Feminina) gravidez (µg/24h)	Excreção (Feminina) menopausa (µg/24h)
17 β-estradiol	1,6	3,5	259	2,3
Estrona	3,9	8	600	4
Estriol	1,5	4,8	6000	1

Fonte: Reis, 2006

De acordo com Lopes e Moura (2008), os estrogênios naturais possuem um caráter de persistência e por serem constantemente introduzidos no meio ambiente, a concentração destes vai aumentando e conseqüentemente, contribui para a contaminação do meio ambiente. No estudo de Reis (2006), foi constatado que cerca de 40% das doses de estrogênios sintéticos lançadas no meio ambiente possuem caráter de persistência.

O estrona está presente, principalmente, em maior concentração, em mulheres no período de menopausa e na gravidez podendo chegar a 600 µg/dia. Este é considerado um hormônio natural e é menos persistente no meio ambiente se comprado ao estrogênio sintético 17 α-etinilestradiol (DALLEGRAVE, 2012).

O 17β-estradiol é um hormônio natural produzido naturalmente ou utilizado na formulação de pílulas anticoncepcionais, podendo também ser usado em casos de reposição hormonal. No corpo

humano está relacionado ao desenvolvimento das características sexuais femininas e à reprodução. Em mulheres no período de gestação, a quantidade excretada desse hormônio pode chegar a cerca de 259 µg/dia, dependendo da fase em que se encontra a gravidez (Tabela 2) (BILLA; DEZOTTI, 2007). Além disso, é constantemente excretado através da urina, atingindo corpo hídricos facilmente (NASH et al., 2004 apud DALLEGRAVE, 2012).

Conforme Alda e Barceló (2001) afirmaram em seu estudo, o hormônio sintético 17 α -etinilstradiol (EE2) é um dos medicamentos mais utilizados no mundo, sendo usado na maioria das formulações de pílulas anticoncepcionais, sendo que as concentrações nessas pílulas variam de 15 a 50 µg por comprimido (GOODMAN e GILMAN, 2005). Devido ao fato de ser utilizado com frequência e consequentemente inserido no meio ambiente, esse é o hormônio mais encontrado no meio ambiente. Além disso, possuem um elevado potencial para interferir no sistema endócrino, mesmo com concentrações muito baixas, na ordem de 1 ng/L (ALDA e BARCELÓ, 2001).

O estriol (E3), hormônio natural, pode ser encontrado em maior concentração no período da gravidez, podendo chegar a 6000 µg/dia (Tabela 2) (DALLEGRAVE, 2012).

3.6. ECOTOXICIDADE DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS

3.6.1. *Ecotoxicidade e Legislação*

A ecotoxicologia é uma especialização da toxicologia. O termo pode ser definido como:

“A ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto interligado.” (ZAGATTO, 2008)

A partir dessa definição, há necessidade de se avaliar o que pode interferir nesse processo, ou seja, gerar toxicidade para o efluente. Substâncias como metais pesados, compostos orgânicos voláteis, sólidos totais dissolvidos, orgânicos apolares e oxidantes levam toxicidade aos efluentes líquidos.

Algumas questões referentes à toxicidade desses materiais ainda não foram esclarecidas, tais como seu limite de toxicidade e os níveis considerados seguros. De acordo com o Conama

(Conselho Nacional de Meio Ambiente) que define que o efluente não deverá causar ou apresentar potencial para provocar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, conforme os critérios de ecotoxicidade. Atualmente, alguns Estados Brasileiros adotam uma legislação descrita pelo seu respectivo órgão ambiental.

A versão nacional da lei deverá ser aplicada apenas quando se verificar inexistência de legislação ou normas específicas. Nesse caso, as exigências para o monitoramento dos efluentes mediante a utilização de ensaios de toxicidade passam a vigorar em todos os Estados Brasileiros.

3.6.2. Relação da ecotoxicidade com os desreguladores endócrinos

Nos últimos anos, o mundo científico vem se deparando com uma grande questão relacionada com a exposição de desreguladores endócrinos sobre o sistema reprodutivo em seres humanos e animais silvestres. A discussão gira em torno da correlação entre a exposição e a saúde, incluindo eventuais impactos de longo prazo, todavia ainda é uma tese muito complicada e controversa, que é difícil de confirmar.

O desenvolvimento de anormalidades e a deterioração reprodutiva nos organismos terrestres e aquáticos expostos ao contato com desreguladores endócrinos, foram relatados em vários estudos a cerca do assunto (GÜLTEKIN; INCE, 2007; RICHTER et al., 2007; VANDENBERG et al., 2009). Diante desses efeitos, vários testes e biomarcadores foram desenvolvidos para detectar a atividade estrogênica dessas substâncias químicas (SOLÉ; PORTE; BARCELÓ, 2001).

Ensaio *in vivo* e *in vitro* são alternativas que possibilitam identificar atividade estrogênica ou efeitos da amostra mesmo sem o conhecimento de suas propriedades químicas. Além disso, a atividade estrogênica é um indicativo da ocorrência de algum efeito biológico em decorrência da presença de alguma substância química (FERREIRA et al., 2007).

Os ensaios mais comumente empregados para a detecção de DEs são os ensaios que avaliam a proliferação celular, a interação com os receptores hormonais e de gene repórter em células de mamíferos ou leveduras, tais como:

- MCF-7: proliferação de células induzida por compostos estrogênicos de células mamárias humanas cancerígenas, baseado na contagem do número de células. Compostos adicionados ao meio de cultura inibem a proliferação dessas células, já os

compostos estrogênicos induzem sua proliferação pela anulação desse efeito (SOTO et al., 2004);

- ER-CALUX: é um ensaio de ativação química da expressão gênica da luciferase mediante um receptor estrogênico (VAN DER BURG et al., 2010);
- Ensaio Lesk: atividade estrogênica medida através da emissão de luz, quando há ligação de compostos estrogênicos com o receptor de estrogênio (medida por luminômetro). O gene luc é o repórter, portanto adiciona luciferina no meio de cultura das leveduras para que a reação de produção de luz ocorra fora da célula (LESKINEN et al., 2005);
- YES (*Yeast estrogen screen* ou ensaio com tela de levedura): avalia a capacidade de um composto em mimetizar o estrogênio natural, para tal, utiliza a linha de células de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente modificada. A sequência de DNA do receptor de estrogênio humano foi inserida no genoma dessas leveduras com o intuito de identificar compostos que apresentam atividade estrogênica (LI et al., 2014).

A atividade dos hormônios estrogênicos é diferente dependendo da sua origem. Os de origem sintética apresentam potencial estrogênico mais elevado que os de origem natural. Um ensaio *in vivo* muito considerado para a investigação de contaminantes estrogênicos é o aumento da concentração de vitelogenina (VTG) em organismos aquáticos, principalmente em espécies de peixes. A vitelogenina é uma fosfolipoglicoproteína que desempenha papel de extrema importância no sistema reprodutor de vertebrados ovíparos fêmeas. Essa proteína é sintetizada no fígado e transportada através da corrente sanguínea para os ovários, onde são apreendidas pelos ovócitos em crescimento para atuarem no desenvolvimento embrionário (MATOZZO et al., 2008; REIS FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006; SOVERCHIA et al., 2005).

Os hormônios estrogênicos são considerados os reguladores da síntese de VTG, dentre eles o 17β -estradiol. Portanto, como consequência do aumento da concentração de VTG no plasma sanguíneo dos peixes fêmeas durante a maturação sexual têm-se o aumento da concentração do 17β -estradiol (SOVERCHIA et al., 2005). Em geral, a codificação do gene da VTG em indivíduos imaturos ou peixes machos é inexistente ou fracamente expressada sob condições normais, possivelmente, pela concentração baixa de estrogênio no plasma sanguíneo. Uma vez que, a síntese de VTG é controlada por estrogênicos, o aumento da concentração dessa proteína no sangue desses

indivíduos representa um biomarcador de exposição a essas substâncias (Figura 9) (MATOZZO et al., 2008; REIS FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006; SOVERCHIA et al., 2005).

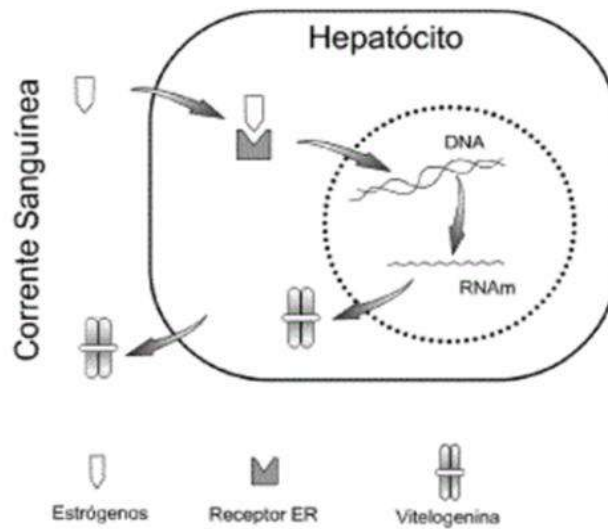


Figura 9 - Representação esquemática simplificada da seqüência de processos que leva à síntese do biomarcador de exposição VTG em peixes machos.

Fonte: Reis Filho; Araújo; Vieira (2006).

Diversos estudos têm sido realizados por pesquisadores com o intuito de avaliar os efeitos causados pela exposição desses organismos a diferentes concentrações de estrogênios. De acordo com Gimeno et al. (1998) e Jobling et al. (1998), foi observado que as espécies de peixes *Cyprinus carpio* e *Rutilus ruti* sofreram feminização ao ser expostos a estrogênios durante o período crítico da diferenciação sexual.

Segundo Kidd et al. (2007), foi realizado um estudo com peixes da espécie *Pimephales promelas* durante sete anos no noroeste de Ontário no Canadá. Um lago foi contaminado com estrogênio sintético 17 α -etinilestradiol. Com isso, concluíram que a exposição crônica desses animais a esse estrogênio em concentrações de 5-6 ng/L causou feminização dos machos por meio da produção de vitelogenina (VTG), impacto no desenvolvimento gonadal nos machos e nas fêmeas, e além disso, esses animais não conseguiram se reproduzir.

Já em estudos realizados por Körner et al. (2008), como o objetivo de avaliar a interação entre a temperatura da água com a produção de vitelogenina, induzida por estrogênios presentes nessa água. Com isso, peixes da espécie *Salmo trutta* foram expostas a concentrações de etinilestradiol em temperatura, baixa, média e alta. Foi observado claramente que quanto maior a temperatura, mais elevada era a concentração de VTG no plasma sanguíneo dos peixes em estudo.

Em estudos realizados por Saaristo et al. (2010), os peixes da espécie *Pomatoschistus minutus* foram investigados durante quatro semanas. Os machos dessa espécie no período de acasalamento disputam as fêmeas e defendem seus ninhos contra intrusos, porém os peixes expostos a 17α -etinilestradiol na concentração de 11 ng/L, apresentaram indução de VTG no plasma sanguíneo, atrasos na construção dos ninhos, além de se mostrarem menos agressivos.

A presença de compostos estrogênicos no lodo gerado em ETEs será predominantemente determinada pela sua partição na fase sólida durante os estágios anteriores dos processos de tratamento de esgoto. Eles irão ocorrer no lodo através da separação durante o tratamento primário ou secundário e, possivelmente, por meio de absorção ativa na biomassa. É provável que os compostos que ocorrem no lodo são recalcitrantes e não se degradam rapidamente através de vias metabólicas aeróbias. Eles também são quimicamente estáveis em termos de oxidação e hidrólise.

Por serem lançados de forma contínua e diária nos esgotos e não serem completamente removidos nas ETEs, os estrogênios estrona, 17β -estradiol, estriol e 17α -etinilestradiol recebem uma atenção especial. Dessa forma, atingem continuamente o sistema aquático e podem ser encontrados na água superficial, muitas vezes usada como fonte de água potável. Como os processos convencionais de tratamento de águas não são capazes de remover totalmente esses micropoluentes um risco constante é imposto aos humanos e espécies de animais (JOBILING et al., 1998).

A natureza apolar e hidrofóbica de muitos desreguladores endócrinos faz com que eles se adsorvam em partículas sólidas. Isto indica que o maior efeito de processos de tratamento de águas residuais seria concentrar os poluentes orgânicos, incluindo os desreguladores endócrinos, no lodo de esgoto. Técnicas de separação mecânica, tais como a sedimentação, resultariam em uma remoção expressiva da fase aquosa para lodos primários e secundários. A remoção de desreguladores endócrinos em processos de tratamento de águas residuais depende das propriedades físico-químicas próprias dos poluentes e sobre a natureza do processo de tratamento envolvido. Apesar de a parte líquida estar relativamente livre de desreguladores endócrinos, o lodo biológico contém a maior parte dessas substâncias que entraram com o esgoto.

Uma vez no meio aquático, os desreguladores endócrinos podem sofrer quatro formas de remoção em métodos convencionais de tratamento de esgoto. São eles: volatilização, adsorção em sólidos suspensos ou associação com óleos e gorduras, biodegradação aeróbia ou anaeróbia e degradação química, como hidrólise.

4. DESREGULADORES ENDÓCRINOS E OS INSTRUMENTOS LEGAIS

Partindo do ponto que somente de 40 a 50 substâncias químicas estão incluídas nos parâmetros de potabilidade da água em grande parte dos países, inclusive no Brasil, a presença de desreguladores endócrinos na água, no ar e no solo atuam como uma importante fonte de contaminação, não abrangida nas avaliações feitas pelos órgãos de controle de qualidade (FONTENELE et al, 2010).

A legislação europeia (*Plant Protection Products Regulation 1107/2009*) (EC, 2009) criou certos critérios para apoiar apenas a comercialização e utilização de produtos químicos que não provoquem desregulação endócrina em seres humanos e espécies silvestres. Esta legislação exige que ativos endócrinos sejam geridos de forma diferente de outros produtos químicos, presumivelmente devido à falta de um limiar de efeitos adversos (LEWIS, 2013).

Na ausência de critérios científicos de como identificar e avaliar as substâncias que causam desregulação endócrina, o Centro Europeu de Ecotoxicologia e Toxicologia de Produtos Químicos (ECETOC, 2009) desenvolveu uma proposta baseada no impacto à saúde humana e ao meio ambiente (BARS et al., 2011). Efeitos que necessitam de análise mais aprofundada devem cumprir os três critérios: possuir um modo de ação endócrino, ter efeito adverso, e ter relevância junto à população, para refletir o objetivo de proteção das avaliações ecotoxicológicas (WELTJE et al., 2013).

Além disso, uma vez que nem todos os produtos químicos com propriedades de desregulação endócrina apresentam o mesmo perigo, uma avaliação do potencial tóxico também foi proposta como uma segunda etapa para discriminar produtos químicos de alto e baixo impacto (BARS et al., 2012). Entretanto, é difícil conseguir discriminar entre alterações do sistema endócrino que são esperadas por respostas adaptativas e alterações que representem efeitos adversos. Respostas adaptativas são parte do funcionamento normal do sistema endócrino dentro do equilíbrio homeostático (capacidades fisiológicas do organismo de se adaptar). Os efeitos adversos são causados apenas quando as interferências com o sistema endócrino geram alterações não compatíveis com a função normal. Assim, uma perturbação da homeostasia do sistema endócrino normal por si só, não é um efeito adverso. Portanto, é evidente que, para um produto químico ser identificado como um DE, deve haver evidência de efeitos adversos nos estudos apicais e deve haver provas convincentes de que o efeito adverso é uma consequência de uma perturbação do

sistema endócrino (DEKANT; COLNOT, 2013). Assim, o Comitê de Toxicologia de Produtos Químicos e Produtos de Consumo do Reino Unido (COT, 2012) propôs um procedimento que deve começar pela análise dos efeitos adversos potencialmente relacionados com DE. Na ausência de tais efeitos, uma substância é automaticamente classificada como “um não DE” (Figura 11).

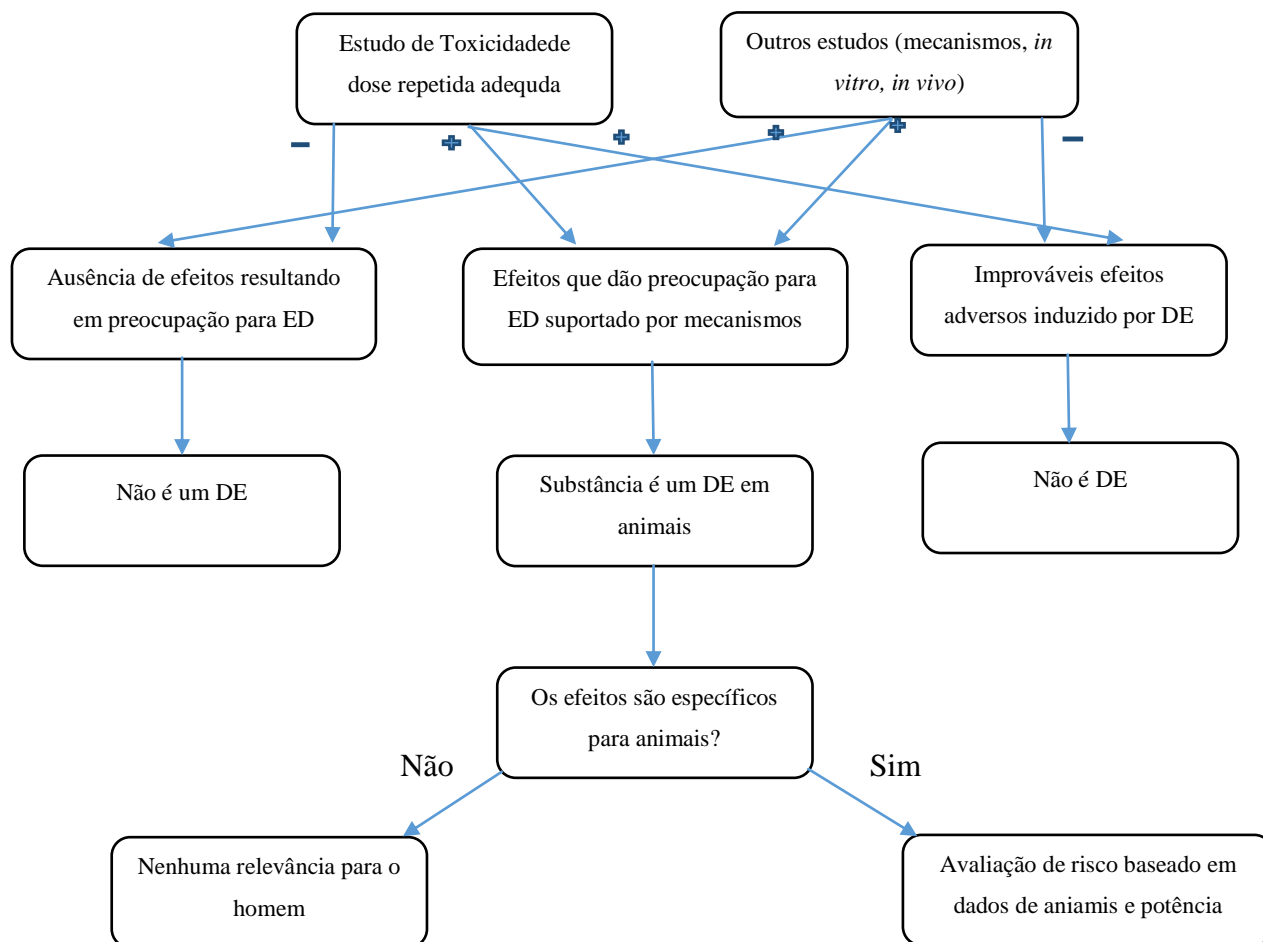


Figura 10 - Fluxograma para avaliação das propriedades da "desregulação endócrina" para a saúde humana

Fonte: Adaptado (DEKANT; COLNOT, 2013).

A avaliação de risco à saúde humana, bem como a classificação e rotulagem de uma substância, deve estar baseada principalmente sobre os efeitos adversos com relevância biológica visto num organismo intacto. Estudos *in vitro* e *in vivo* contribuirão na elucidação de mecanismos relacionados aos efeitos observados. Para responder conclusivamente à questão da ocorrência de efeitos endócrinos em baixas doses há de se realizar um estudo toxicológico de alta qualidade com uma substância modelo para estabelecer um banco de dados inter laboratorial (DEKANT; COLNOT, 2013).

A presença de DEs no meio ambiente e seu potencial de causar danos à saúde humana e animal tem forçado o governo de vários países a desenvolver protocolos e procedimentos de teste, como o *Endocrine Disruptor Screening Program* (EDSP) da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), *Endocrine Disruptor Screening Program* (EDSP) da Agência Ambiental do Japão e o *Joint Working Group on Endocrine Disruptors Testing and Assessment* (EDTA), patrocinado pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE). O EDSP desenvolveu ensaios *in vitro* e *in vivo* para identificar substâncias que possuam potencial de interação com os sistemas endócrinos e, em seguida, desenvolveu relações de dose-resposta em modelos animais. O EDTA desenvolveu um quadro conceitual em cinco níveis para testes e avaliação de potenciais DEs, cada nível correspondendo a um nível diferente de complexidade biológica (HAMID; ESKICIOGLU, 2012).

O governo canadense apoiou pesquisa institucional e acadêmica através da cooperação internacional para o desenvolvimento de método de ensaio normalizado para identificação dessas substâncias. Em 2010 foi publicada uma proposta para a regulamentação dos sistemas de tratamento de efluentes, visando a redução da descarga de micropoluentes associados às ETEs, com o emprego de tratamentos secundários ou equivalentes (HAMID; ESKICIOGLU, 2012).

Na Europa, os esforços para classificar e regulamentar os DEs começaram em 1999. A União Europeia aprovou a "*Community Strategy for Endocrine Disruptors*" para empreender ações contra os desreguladores endócrinos. No âmbito desta estratégia, uma lista de 575 compostos suspeitos de serem DEs, publicados em diversos trabalhos e relatórios foram compilados. Em termos de prioridades, 320 dos 575 compostos mostraram evidência de desregulação endócrina. Em 2006, foi adaptado um regulamento relativo ao registro, avaliação, autorização e restrição de substâncias químicas (REACH) (Regulamento (CE) n.º 1907, 2006). De acordo com o REACH, as substâncias de maior impacto, como as cancerígenas, mutagênicas, tóxicas para a reprodução, persistentes e bioacumulativas, precisam de autorização ou substituição por uma substância alternativa adequada para uma determinada aplicação. Desde 2011, produtos que contenham substâncias que estão na lista de candidatos a DEs, devem ser comunicadas à Agência Europeia dos Produtos Químicos (HAMID; ESKICIOGLU, 2012).

Com relação ao que está ocorrendo nos países desenvolvidos o Brasil não possui nenhuma legislação, norma, protocolo ou procedimento que tente regulamentar a presença e disposição desses compostos no ambiente. No entanto, no Brasil existe um instrumento legal que determina os padrões

de qualidade da água para abastecimento público que é a Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde. Nos parâmetros que estabelecem a potabilidade para substâncias químicas que representam risco à saúde estão contempladas substâncias inorgânicas, como arsênio, chumbo, cobre e mercúrio; e orgânicas, como acrilamida, benzopireno e estireno (BRASIL, 2011). A maioria dos desreguladores endócrinos não são contemplados e por esta razão, não são analisados rotineiramente nas águas. Mas, alguns agrotóxicos como Aldrin e Dieldrin, Atrazina, DDT, Endossulfan, Glifosato e Endrin e alguns desinfetantes têm seus valores apresentados.

5. MÉTODOS DE ENSAIO PARA DETERMINAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS E DETECÇÃO DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA EM AMOSTRAS AQUOSAS

Existem diversas substâncias que têm capacidade de causar impactos na saúde em seres vivos são encontrados em efluentes de ETE, lixiviado de aterros sanitários e águas superficiais ou subterrânea, e são lançados no meio ambiente continuamente. Torna-se muito importante que se desenvolva metodologias analíticas e técnicas de monitoramento para quantificar e pesquisar efeitos endócrinos dos desreguladores endócrinos causados em humanos e animais expostos. Procedimentos analíticos confiáveis, porém, rápidos de um grande número de substâncias químicas e amostras ambientais demandam ensaios simples, sensíveis e algumas vezes específicos (BILA, 2005).

Existe uma grande variedade de métodos disponíveis para a determinação dos desreguladores endócrinos. No entanto é preciso analisar o que será avaliado e qual a finalidade dessa avaliação antes de selecionar o método. Para qualquer substância química ou mistura, a questão inicial deve ser se apresenta ou não alguma atividade estrogênica ou de desregulação endócrina. Alguns estudos (BERESFORD et al., 2000 e GRAY et al., 1997) concluíram que, para eficiência de custos e facilitar a triagem relativamente rápida de um grande número de compostos, métodos de teste *in vitro* são mais apropriados. Porém, os testes *in vitro* tem limitações que podem resultar em previsões duvidosas, uma combinação de métodos de ensaio, incluindo métodos *in vivo*, tem sido sugerido como o mais apropriado para determinar as atividades desreguladoras dos compostos químicos. Não há consenso sobre o uso e validade absoluta dos testes de toxicidade para a avaliação do risco tóxico para os seres humanos e, em geral, nenhum ensaio é certo que será mais adequado para determinar a estrogenicidade dos compostos.

Os ensaios *in vivo* usam parâmetros variados, como atividade de enzimas, peso de órgãos sexuais, diferenciação celular e expressão de proteínas. Os ensaios *in vitro* que estão sendo usados para analisar a atividade estrogênica de substâncias químicas, são baseados em mecanismos de ação que elucidam respostas e utilizam pontos mais definidos do que os ensaios *in vivo*, tais como a interação com receptores hormonais e proliferação de células (BILA, 2005).

Ambos os ensaios, *in vivo* e *in vitro*, apresentam vantagens e desvantagens. Os ensaios *in vitro* têm algumas vantagens como, por exemplo, sensibilidade a baixas concentrações, respostas específicas, custo baixo, pouca quantidade de amostra requerida e podem ser usados para misturas complexas (águas naturais, lodos biológicos entre outros). Porém, resultados inconsistentes entre diferentes ensaios *in vitro* também têm sido relatados, que podem acontecer devido à capacidade metabólica diferente dos diversos testes usados (BERESFORD et al., 2000). Por outro lado, os ensaios *in vivo* têm vantagens como explicações para os mecanismos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Porém, a falta de especificidade é outra limitação dos ensaios *in vivo*, quando o objetivo do estudo é analisar mecanismos de ação específicos, além do problema da utilização de animais nos ensaios (GRAY et al., 1997). Estudos mostram que, normalmente, a potência relativa de substâncias estrogênicas em ensaios *in vitro* não refletem a potência em ensaios *in vivo*, ou seja, as substâncias estrogênicas são mais potentes *in vivo* do que *in vitro* (BILA, 2005).

Alguns dos ensaios *in vitro* e *in vivo* desenvolvidos e mais utilizados, de acordo com a literatura, serão apresentados a seguir.

5.1. ENSAIOS IN VITRO

5.1.1. *Ensaio de ligação competitiva*

Os ensaios baseiam-se no modo de ação das substâncias estrogênicas em acoplarem-se ao receptor endócrino e resultar em um subsequente efeito na atividade biológica. Os ensaios de ligação competitiva nos receptores dos hormônios esteróides são métodos que investigam a capacidade de uma substância de competir com estrogênios pela ligação no receptor endócrino. Para isso utilizam estrogênios radiomarcados, no caso do receptor endócrino o hormônio usado é o [3H]17 β -estradiol.

Nos ensaios de ligação competitiva, o receptor endócrino é extraído de uma cultura de células como, por exemplo, as MCF-7 (células cancerígenas mamárias humanas) e incubado com [3H]17 β -estradiol e a substância em teste. Pode ser usado também o estrogênio sintético DES como controle. Os [3H]17 β -estradiol acoplados aos receptores endócrinos são extraídos e quantificados em um cintilador líquido. Quanto menos [3H]17 β -estradiol estiver ligado aos receptores endócrinos maior a capacidade das substâncias analisadas de competir pela ligação no domínio de ligação

hormonal (DLH) nos receptores endócrinos. A maior limitação desses ensaios é que, embora os compostos possam se ligar ao receptor, os testes não distinguem efeitos agonistas ou antagonistas subsequentes. (BIRKETT e LESTER, 2003).

Os ensaios de ligação competitiva nos receptores dos hormônios esteróides são relativamente rápidos. Mas, são expressivamente menos sensíveis do que outros ensaios *in vitro*.

Embora os ensaios de ligação de receptor tenham sido desenvolvidos e usem receptores de estrogênios humanos, receptores de estrogênio de outras espécies também são utilizados, tais como, de peixes e répteis, para substâncias que exibem maior afinidade por estes receptores (BIRKETT e LESTER, 2003).

5.1.2. Ensaios de proliferação celular

Estes ensaios são predominantemente baseados em colônias derivadas de células humanas para medir a proliferação de células induzidas pela exposição a compostos estrogênicos. Comumente, são usadas culturas de células cancerígenas mamárias humanas MCF-7 ou T47-D receptor positivo de estrogênio. Quando uma variedade de concentração é testada, o método consegue diferenciar entre agonistas, parcialmente agonistas e compostos inativos (BIRKETT e LESTER, 2003).

Este tipo de ensaio é considerado muito sensível, confiável e relativamente simples, que serve para analisar substâncias simples ou várias substâncias químicas ao mesmo tempo. No entanto, alguns fatores interferem na determinação do potencial estrogênico de uma substância, tais como, diferenças entre células da cultura, condições da cultura, diferentes níveis dos receptores, densidade das células, que podem complicar a padronização do ensaio que asseguram sua reprodutividade (BIRKETT e LESTER, 2003).

O bioensaio com cultura de células, que avalia a proliferação de células cancerígenas mamárias humanas MCF-7 como resposta à exposição a substâncias estrogênicas, é conhecido como ensaio de E-screen. Neste bioensaio, as células MCF-7 são incubadas por seis dias, com e sem controle de 17β -estradiol e na presença e ausência de substância ou amostra ambiental a ser testada. A proliferação das células é determinada através da contagem do número de células ou núcleos

(SOTO et al., 1995). O efeito da substância é analisado através da comparação da proliferação celular das amostras com e sem 17β -estradiol.

O potencial estrogênico de várias substâncias químicas simples e misturas de substâncias tem sido analisado usando o ensaio E-screen. Este ensaio também tem sido eficiente para avaliar a atividade estrogênica em efluentes de ETE, esgoto sanitário (KÖRNER et al., 1999 e 2000), águas naturais (OH et al., 2000), sedimentos aquáticos (OH et al., 2000) e lixiviado de aterros sanitários (BEHNICSH et al., 2001).

5.1.3. Ensaios de gene repórter recombinante

Os testes são realizados com cultura de células de mamífero (câncer humano) ou de leveduras geneticamente modificadas, com células transformadas através da introdução de vetores que contêm sequências de DNA para o receptor, juntamente com elementos de resposta ligados a regiões promotoras de um gene repórter e o próprio gene repórter (BIRKETT e LESTER, 2003). A expressão do gene repórter é um resultado de uma cascata molecular de eventos implicada pela ativação do receptor, e como tal promove uma integral indicação da atividade estrogênica de um componente.

Nos ensaios de gene repórter, a amostra é adicionada às células transfectadas, as substâncias estrogênicas entram nas células e ligam-se aos receptores estrogênicos, os quais se tornam ativados pela mudança na conformação e se ligam aos elementos responsivos estrogênicos. Esta ligação inicia a expressão do gene repórter e assim ocorre a síntese de uma enzima. Um substrato presente no meio é metabolizado pela enzima sintetizada, o subproduto formado pode ser então detectado.

Nos ensaios de gene repórter baseado em células de mamíferos o gene repórter sintetiza a enzima luciferase. No ensaio de gene repórter baseado em levedura (YES), o gene repórter sintetiza a enzima β -galactosidase (BILA, 2005).

A escolha de qual ensaio de gene repórter usar, baseado em levedura ou em células de mamíferos, depende de alguns fatores como menor custo, fácil uso e baixo limite de detecção. Existem diferenças entre os testes YES e o baseado em células de mamíferos. Por exemplo, as células de mamíferos são mais sensíveis para detectar concentrações mais baixas quando

comparadas com o teste com leveduras e a presença de substâncias tóxicas que podem inibir o crescimento de células animais, mas não de leveduras (BILA, 2005).

O ensaio gene repórter *in vitro* é uma importante ferramenta, pois é capaz de indicar um mecanismo potencial de ação de uma substância, bem como também considera os efeitos sinérgicos, antagonísticos e interações aditivas que podem ocorrer com misturas complexas (WU et al., 2002).

5.2. ENASIOS *IN VIVO*

Estes ensaios são necessários para a avaliação de impactos sobre o sistema endócrino, como um todo, e foram propostos para a compreensão completa.

O ensaio *in vivo* mais usado é o ensaio uterotrófico (alteração do peso uterino) que é baseado na capacidade de os produtos químicos estimularem crescimento uterino. Além deste também existe o ensaio de cornificação da mucosa vaginal (ensaio para detectar mudanças histológicas nas células epiteliais da mucosa vaginal) em roedores (BILA, 2005,c BIRKETT e LESTER, 2003). Há uma variedade de protocolos descritos para esses ensaios, incluindo o uso de ratos ou camundongos em vários estágios da vida e o uso de rotas orais ou subcutâneas de administração das substâncias químicas (ODUM et al., 1997).

A vantagem desse ensaio é que há a incorporação de todos os aspectos do sistema endócrino, permitindo um estudo da absorção, metabolismo, distribuição e excreção da substância, como também de caminhos alternativos para avaliar os efeitos dos desreguladores endócrinos (BERESFORD, et al., 2000). No entanto, estes ensaios com roedores não são adequados para analisar substâncias em larga escala lançadas no meio ambiente, em razão de questões éticas com animais e também da complexidade.

Outro ensaio bastante empregado é o de indução da síntese de VTG. Este é muito usado para analisar a exposição a estrogênios em ambientes aquáticos e se mostra como uma ferramenta adequada para avaliar os impactos causados pelos desreguladores endócrinos em peixes. Este bioensaio é realizado em curto prazo, relativamente de baixo custo, mostra uma resposta direta e pode ser facilmente medido.

A indução da síntese de VTG no plasma de peixes machos tem sido usada como um biomarcador específico para detectar substâncias estrogênicas em ambientes aquáticos, em efluente de ETE, esgoto doméstico e sedimentos marinhos (DESBROW et al., 1998, JOBLING et al., 1998).

5.3. MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS NA DETERMINAÇÃO DE DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS

5.3.1. *Cromatografia*

A determinação de estrogênios em amostras ambientais é bastante complexa, isso acontece devido às concentrações que são bastante baixas (da ordem de $\mu\text{g/L}$ e ng/L) e também pelas matrizes, como os esgotos, serem complexas, ou seja, contém uma quantidade bastante grande de compostos que podem interferir na análise. Sendo assim, é essencial que as amostras a serem analisadas passem por estágios de preparo, tais como extração, limpeza dos extratos e concentração e por fim a quantificação.

Nos últimos anos, várias técnicas têm sido desenvolvidas para analisar substâncias estrogênicas naturais e sintéticas em matriz aquosa. A Cromatografia Gasosa ou a Cromatografia Líquida seguida da Espectrometria de Massa são as mais utilizadas e propostas para monitoramento desses estrogênios em água. Tanto uma como a outra têm mostrado boa eficiência de recuperação (80 a 90 %). Entretanto, observa-se que o limite de detecção da cromatografia líquida é menor do que a gasosa. A cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma técnica de microanálise e, dependendo do detector empregado, pode quantificar massas de componentes inferiores a 10^{-18}g (CIOLA, 2000).

Os métodos analíticos publicados são frequentemente baseados em extração líquido-líquido (ELL) e extração em fase sólida (EFS) e para quantificação a cromatografia gasosa (GC) e a líquida de alta eficiência (CLAE). A cromatografia líquida (CL) é comumente utilizada para a maioria dos fármacos e desreguladores endócrinos que apresentam alta solubilidade em água e alta polaridade.

Os detectores e acoplamentos de detectores mais empregados para a análise de hormônios pela técnica de HPLC são: fluorescência (Flu), espectrômetro de massas (MS/MS), ultravioleta (UV) com varredura de diodo e UV com varredura de diodo acoplado a espectrômetro de massas (PEREIRA, 2011).

A espectrometria de massas é uma das técnicas mais utilizadas, apesar de seu custo ser alto, dos gastos com manutenção e da necessidade de técnicos especializados. O espectrômetro de massas separa e detecta um analito a partir da razão entre a massa e a carga elétrica.

Outra alternativa é o detector de fluorescência, cujo princípio é a emissão de energia fluorescente por um soluto que foi excitado por radiação UV. Para detecção por cromatografia gasosa, o analito de interesse precisa ser volátil e termicamente estável. No caso de o analito ser pouco volátil pode ser usada a derivatização. Porém a derivatização é um trabalho complexo que pode levar à redução na recuperação do analito.

5.3.2. Extração em Fase Sólida (EFS)

A presença desses micropoluentes em outros tipos de amostras ambientais, tais como, lodo biológico e sedimentos, dita a necessidade do desenvolvimento de técnicas que muitas vezes necessitam de etapas de extração com solvente, purificação (normalmente com sílica gel), cromatografia de permeação em gel e/ou EFS dos componentes antes de serem analisados em técnicas cromatográficas (JOHNSON et al. 2000, MOL et al. 2000).

Extração em fase sólida (EFS) seguida da determinação cromatográfica gasosa acoplada à espectrometria de massa ou cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa é um método muito utilizado devido sua sensibilidade e seletividade.

A extração em fase sólida (EFS) é uma técnica largamente utilizada para preparação de amostras a fim de se isolar os analitos de interesse. O método de EFS utiliza uma fase sólida como um adsorvente seletivo para separar um analito particular por meio de adsorção, em amostras líquidas, fluidas ou gasosas. O analito isolado no adsorvente de fase sólida é “purificado” pela passagem de uma solução de lavagem com a finalidade de remover constituintes indesejados retidos com o analito alvo, que em seguida é eventualmente dessorvido da fase sólida por meio de eluição com o solvente orgânico específico, ou por dessorção térmica para a fase gasosa (CHANG et al., 2009; POOLE, 2003).

A EFS vem substituindo a clássica extração líquido-líquido (ELL) e tornou-se a técnica mais comum na preparação de amostra em áreas como meio ambiente, análises biológicas e de alimentos. Na EFS, os analitos a serem extraídos são divididos entre uma fase sólida e uma fase líquida, e estes

analitos devem ter maior afinidade com a fase sólida do que com a matriz de amostra. A escolha do adsorvente é, portanto, um ponto-chave na EFS. Esta escolha depende fortemente dos analitos de interesse e as interações entre o adsorvente escolhido através dos grupos funcionais dos analitos. No entanto, isso também depende do tipo de matriz da amostra e suas interações tanto com o adsorvente quanto com os analitos (FONTANALS; MARCÉ; BORRULL, 2005).

A EFS de amostras líquidas se tornou uma técnica amplamente utilizada no início dos anos 1980 com a introdução de cartuchos descartáveis, contendo adsorventes quimicamente ligados, e um tamanho adequado para o processamento de amostras por sucção suave. Dispositivos típicos de cartucho consistem em colunas curtas (geralmente um tambor de seringa aberta) contendo um sorvente com um tamanho de partícula nominal de 50 - 60 μm , embalado entre plástico poroso ou metal (Figura 12) (POOLE, 2003).

Um dos parâmetros mais importantes na aplicação de um método de EFS é a seleção de um adsorvente sólido apropriado para o analito alvo, bem como o uso de solventes para a lavagem e eluição (CHANG, 2009).

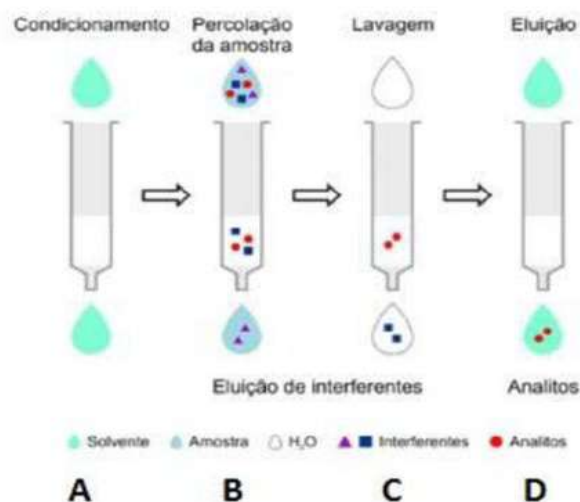


Figura 11 - Etapas de extração em fase sólida: A) Condicionamento do cartucho; B) Passagem da amostra; C) Lavagem dos cartuchos para retirada dos interferentes e D) Eluição dos analitos.

Fonte: Queiroz; Collins; Jardim, (2001).

Os materiais utilizados na EFS podem variar bastante (Tabela 3) dependendo do solvente de condicionamento e de eluição. Os grupos mais frequentemente usados como sorventes são à base de

sílica quimicamente ligados e podem ser divididos em três categorias: 1) fase reversa (FR) quando o sorvente é menos polar que o solvente de eluição; 2) fase normal (FN) quando o solvente é menos polar que o sorvente e 3) troca iônica (TI) (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

Tabela 3 - Exemplo de diferentes sorventes que são utilizados para extração em fase sólida.

NÃO POLARES		
C18	Octadecilsilano	$\equiv \text{Si} - (\text{CH}_2)_{17} - \text{CH}_3$
C8	Octilsilano	$\equiv \text{Si} - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH}_3$
C2	Etilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$
C1	Metilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_3$
PH	Fenilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{C}_6\text{H}_5$
CH	Cicloexilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{C}_6\text{H}_{11}$
POLARES		
FL	Florisil	MgO_3Si
AL	Alumina	Al_2O_3
Si	Sílica	$\equiv \text{Si} - \text{OH}$
CN	Cianopropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CN}$
2OH	Diolsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \underset{\text{OH}}{\text{CH}} - \underset{\text{OH}}{\text{CH}_2}$
NH2	Aminopropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$
PSA	N-Propiletilenodiaminossilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$
TROCA IÔNICA		
SCX	Benzenossulfonilpropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{SO}_3\text{H}^+$
PRS	Sulfonilpropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{SO}_3^- \text{Na}^+$
CBA	Carboximetilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$
DEA	Diethylaminopropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{CH}_2 - \text{CH}_3)_2$
SAX	Trimetilaminopropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \text{Cl}^-$
PSA	N-Propiletilenodiaminossilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$
COVALENTE		
PBA	Ácido fenilborônico	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{B}(\text{OH})_2$

Fonte: Queiroz; Collins; Jardim, (2001).

6. DESREGULADORES ENDÓCRINOS NAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO

6.1. LODO DE ESGOTO – CONCEITOS E DEFINIÇÕES

O tratamento dos esgotos gera uma quantidade significativa de subproduto sólidos. Como subprodutos principais têm-se os sólidos grosseiros retidos no gradeamento, areia, espuma e lodo. O lodo é o principal subproduto sólido, e a quantidade produzida por uma ETE depende do tipo de sistema de tratamento utilizada para a fase líquida. Os sólidos removidos por sedimentação nos decantadores primários constituem o lodo primário. O lodo secundário ou biológico compreende a biomassa de microrganismos aeróbicos gerados a partir da remoção da matéria orgânica (alimento) presente nos esgotos. Essa biomassa está em constante crescimento devido à entrada contínua de matéria orgânica nos reatores biológicos. Para manter o sistema em equilíbrio, aproximadamente a mesma massa de sólidos biológicos deve ser removida do sistema. A mistura do lodo primário com o lodo secundário gera o lodo misto, o qual deve ser submetido a etapas de estabilização antes de sua exposição (CASSINI, 2003).

Devido aos possíveis impactos ambientais negativos e implicações sanitárias, o lodo deve ter destinação final segura e adequada. É visível o aumento da conscientização da sociedade para as questões ambientais e, também, o aumento das exigências dos órgãos de controle ambiental pela preservação do meio ambiente, qualidade de vida e bem-estar social. Nas regiões com alta densidade populacional é maior o volume de lodos gerados durante processos de tratamento nas ETEs, situação esta que assume destaque nas ações de controle da poluição ambiental. Além disso, existem custos elevados para o gerenciamento, processamento e disposição final dos lodos produzidos (ANDREOLIC. V.,2006).

Lodo de esgoto é considerado o resíduo produzido pelo processo de tratamento de esgoto, durante o qual líquido e sólidos são separados. Os líquidos são lançados em meio aquoso e os sólidos são removidos para posterior tratamento e disposição (FYTILI D., ZABANIOTOU A.,2008).

Segundo a Resolução N° 375 do CONAMA, lodo de esgoto é o resíduo gerado nos processos de tratamento de esgoto sanitário. Lodos de esgotos são resíduos sólidos, semi-sólidos ou

líquidos, gerados durante o tratamento de esgotos domésticos em uma estação de tratamento. Quando tratados e processados, o lodo de esgoto é denominado “biossólido”, o qual pode ser reciclado de um modo seguro e aplicado como adubo para melhorar e manter a sustentabilidade dos solos, e estimular o crescimento das plantas. Biossólidos são ricos em matéria orgânica e nutrientes, e a sua reciclagem através da aplicação em solos tem sido defendida como uma maneira de se evitar custos ambientais e econômicos (BRIGHT, HEALEY,2003).

A matéria orgânica dos biossólidos favorece a formação de agregados, facilitando a penetração das raízes e a vida microbiana. Também previne a erosão por aumentar a capacidade de retenção da água no solo. Os biossólidos contêm macronutrientes como nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre e micronutrientes como cobre, zinco, manganês, boro, molibdênio e cloro (TSUTIYA et al.,2001).

O lodo de esgoto também pode ser considerado uma matriz muito complexa que resulta dos tratamentos primários e secundários a que os esgotos são submetidos nos sistemas de tratamento. O conteúdo orgânico principal origina-se de fezes humana, sendo uma mistura complexa de gorduras, proteínas, carboidratos, lignina, aminoácidos, açúcares, celuloses, matérias húmicas e ácidos graxos. E também uma grande parte dessa matéria orgânica está na forma de microrganismos vivos e mortos, que proporcionam uma grande superfície de sorção para os resíduos orgânicos hidrofóbicos (ROGERS, 1996).

6.2. ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO

Os esgotos que são enviados à estação de tratamento de esgotos de uma cidade têm três fontes possíveis: esgotos domésticos, despejos industriais (tipos diversos de indústrias) e águas de infiltração.

Entende-se por vazão doméstica os esgotos provenientes de residências, além de atividades comerciais e institucionais. A vazão de esgoto é estimada, de forma geral, baseada na vazão de água; que por sua vez é calculada em função da população local e de um valor atribuído para consumo médio diário *per capita*.

A vazão proveniente de despejos industriais varia de acordo com o porte da indústria, seus processos, recirculação interna, eventuais sistemas de tratamento interno e regime de lançamento

(contínuo ou intermitente). A infiltração de água na rede de coleta de esgoto acontece por causa de tubos defeituosos, conexões ou paredes de poços de visita e sua vazão varia com a extensão da rede coletora, nível do lençol freático, densidade populacional, topografia entre outros fatores. Essa vazão é geralmente calculada em termos de vazão por extensão de rede coletora. Quanto aos esgotos domésticos os principais parâmetros que merecem destaque são: sólidos, indicadores de matéria orgânica e contaminação fecal, fósforo e nitrogênio. A remoção de poluentes durante o tratamento de esgotos visa adequar o lançamento do efluente obedecendo a um padrão de qualidade vigente. O nível de remoção dos poluentes está ligado ao nível de tratamento, bem como a eficiência do tratamento. O tratamento de esgotos é classificado a partir dos seguintes níveis: preliminar, primário, secundário e terciário (quando necessário). No Quadro 2 estão apresentados o nível do tratamento, o que é removido nele e o mecanismo de tratamento predominante (Von Sperling, 1995).

Quadro 2 - Características dos principais níveis de tratamento

Nível	Remoção	Mecanismo
Preliminar	- Sólidos grosseiros em suspensão	Físico
Primário	- Sólidos em suspensão sedimentáveis - Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) em suspensão (matéria orgânica componente dos sólidos em suspensão sedimentáveis)	Físico
Secundário	- DBO em suspensão (matéria orgânica em suspensão fina) - DBO solúvel (matéria orgânica em forma de sólidos dissolvidos)	Biológico
Terciário	- Nutriente - Patógenos - Compostos não biodegradáveis - Metais pesados - Sólidos em suspensão remanescentes	Biológico, físico e químico

Fonte: Von Sperling, 1995

O objetivo do tratamento preliminar é basicamente a remoção de sólidos grosseiros. Já o tratamento primário tem o propósito de remover os sólidos sedimentáveis e uma parcela da matéria orgânica. Em ambos os processos há a predominância de mecanismos físicos de remoção de poluentes. O tratamento secundário objetiva a remoção de matéria orgânica e ocasionalmente nitrogênio e fósforo, e seu mecanismo de remoção principal é o biológico. O tratamento terciário tem o objetivo de remover poluentes distintos, normalmente tóxicos ou compostos não biodegradáveis, ou então de poluentes não removidos de maneira satisfatória no tratamento secundário.

6.2.1. Tratamento Preliminar

O tratamento preliminar tem como objetivo principal a remoção de sólidos grosseiros e areia. Os principais propósitos de remoção de sólidos grosseiros são:

- Proteger das unidades de tratamento posteriores;
- Proteger os mecanismos de transporte dos esgotos como tubulações e bombas;

A remoção de sólidos grosseiros é feita por meio de grades, usualmente, mas também são usadas peneiras e trituradores. Nas grades, são retidos materiais de dimensões maiores que o espaçamento entre as barras. Esse material retido pode ser retirado de forma manual ou mecanizada.

A remoção de areia tem como finalidade:

- Reduzir a possibilidade de obstrução em tubulações, orifícios e tanques;
- Facilitar o transporte do líquido;
- Evitar abrasão nas tubulações e equipamentos.

Essa remoção é feita em unidades chamadas de desarenadores ou caixa de areia. O mecanismo principal envolvido é a sedimentação do grão de areia, que possui velocidade de sedimentação maior que a da matéria orgânica, indo assim para o fundo do desarenador, enquanto a matéria orgânica permanece em suspensão e segue para as unidades seguintes. A remoção de areia pode ser manual ou mecanizada. Na Figura 10 estão representados o tratamento preliminar e os resíduos nele removidos.



Figura 12 - Grades e caixa de areia no tratamento preliminar

Fonte: Adaptado de Von Sperling, 1995

Embora passem pelo tratamento preliminar, os esgotos ainda possuem sólidos em suspensão não grosseiros que podem ser parcialmente removidos em unidades de sedimentação. Uma parcela expressiva dos sólidos em suspensão é compreendida pela matéria orgânica em suspensão. Deste modo, a redução na carga da DBO dirigida ao tratamento secundário pode ser feita pela sedimentação, que é um processo simples (Von Sperling, 1995).

A decantação no tratamento primário acontece em tanques de sedimentação, chamados de decantadores, que podem ser retangulares ou circulares. Os esgotos fluem de maneira lenta nos decantadores, permitindo assim que os sólidos em suspensão sedimentem no fundo. Esses sólidos sedimentados no fundo dos decantadores é chamado de lodo primário. Graxas e óleos tem densidade menores que o líquido circundante, ficam na superfície do decantador, e são coletados e retirados do tanque para um tratamento posterior (VON SPERLING, 1995). No Brasil, o tratamento primário é pouco usado.

Com relação a remoção dos DEs no tratamento primário em ETEs, estudos têm apontado que baixa remoção, normalmente nulas ou até mesmo negativas, tem sido observada e, os mecanismos envolvidos são adsorção/remoção (CARBALLA et al., 2004; JOHNSON et al., 2005; SERVOS et al., 2005; GABET-GIRAUD et al., 2010). O aumento da concentração dos estrogênios ao longo do tratamento primário foi observado com a estrona em alguns estudos (CARBALLA et al., 2004), comportamento este que pode ser explicado pela lentidão na clivagem da forma conjugada da estrona com sulfato (D'ASCENZO et al., 2003). Os hormônios também podem se associar aos óleos & graxas presentes no esgoto sanitário, sendo removidos por flotação (CARBALLA et al., 2004; AURIOL et al., 2006; KOH et al., 2008; HAMID e ESKICIOGLU, 2012).

Foi observado uma pequena melhora na remoção nos casos em que uma etapa de coagulação/floculação é inserida antes do processo de sedimentação. Processos de coagulação com sais de ferro ou alumínio apresentou eficiências de remoção baixas, menores que 5% e menores que 35% quando associado a adição de polímero (WESTERHOFF et al., 2005; AURIOL et al., 2006; CHANG et al., 2009a).

6.2.2. Tratamento Primário

De acordo com Von Sperling (1995) o tratamento primário visa a remoção de sólidos que se encontram em suspensão. É uma etapa cujo mecanismo é o físico, tais como a sedimentação, flotação ou sistemas anaeróbicos. Destaca-se que o tratamento primário pode ser também avançado quando faz uso de decantadores primários quimicamente assistidos ou quando utiliza reatores UASB – Upflow anaerobic sludge blanket.

6.2.3. Tratamento Secundário

O tratamento secundário objetiva a remoção de matéria orgânica e, ocasionalmente, nitrogênio, fósforo e, seu mecanismo de remoção principal é o biológico (VON SPERLING, 1995).

O tratamento secundário consiste, basicamente, na inserção de uma etapa biológica. Diferentemente dos tratamentos preliminar e primário, no secundário a remoção de matéria orgânica acontece por meio de reações bioquímicas provenientes de micro-organismos. Nesse tipo de tratamento, a decomposição dos poluentes orgânicos degradáveis acontece da mesma forma que ocorre naturalmente em corpos receptores, porém de forma controlada e acelerada.

O processo biológico consiste no contato entre microrganismos (bactérias, fungos e protozoários) e a matéria orgânica encontrada no esgoto, de maneira que esse possa ser usado como alimento pelos micro-organismos, convertendo-o assim em água, gás carbônico e material celular.

O tratamento secundário é precedido, geralmente, de unidades de tratamento preliminar, mas pode incluir ou não unidades de tratamento primário. Existe uma grande variedade de métodos de tratamento de nível secundário. Os mais comuns são:

- Lodos ativados e variantes;

- Tratamento anaeróbio;
- Lagoas de estabilização e variantes;
- Filtro biológico e variantes;
- Disposição sobre o solo.

No contexto da remoção dos DEs nas ETEs existentes, o tratamento biológico é a etapa que apresenta maior eficiência de remoção de estrogênios, tanto por adsorção na biomassa quanto por biodegradação (MARTI e BATISTA, 2014).

6.2.4. Tratamento Terciário

Principal objetivo dessa etapa nas ETEs é a remoção de organismos patogênicos ou nutrientes, além disso, são usados os processos de “tratamento avançado” nessa etapa. Com relação ao tratamento avançado, pode-se citar também o MBR – Membrane Biological Reactor e o lodo aeróbio granular, no caso de processos biológicos, e os processos oxidativos avançados (POAs), no caso dos processos físico-químicos. Observa-se nos últimos 20 anos os POAs têm se destacado pela sua alta eficiência em degradar compostos orgânicos, tais como os hormônios estrogênicos. Os principais sistemas de POAs são: sistemas homogêneos, compostos por O₃/UV, H₂O₂/UV, Feixe de elétrons, ultrassom (US), H₂O₂/US, UV/US, O₃/H₂O₂, O₃/OH⁻, H₂O₂/Fe²⁺ (Fenton); e os sistemas heterogêneos, que são compostos por: TiO₂/O₂/UV, TiO₂/H₂O₂/UV e eletro-fenton (Teixeira e Jardim, 2004).

6.3. PROCESSOS ENVOLVIDOS NA REMOÇÃO DOS ESTROGÊNIOSEM ETEs

A dificuldade de remoção de substâncias químicas, como os micropoluentes emergentes, entre eles os DEs em Estações de Tratamento de Esgoto, representa uma barreira importante no controle e disseminação desses compostos no ambiente aquático.

As técnicas de tratamento convencionais, tais como processos de coagulação, floculação e precipitação, não estão em conformidade com o nível de remoção desejado, especialmente para os compostos de baixa massa molar (100 a 500 g/mol) (SUÁREZ et al.,2006). A eficiência da remoção

de cada DE varia dependendo dos tipos de operações unitárias e processos habitualmente utilizados nas ETEs. Segundo Chang et al. (2009), o processo de remoção adequado para um composto alvo tem de ser cuidadosamente selecionado, levando-se em conta suas características, sua concentração e suas diferentes propriedades físicas e químicas.

Compostos polares tendem a permanecer na fase aquosa, o que favorece sua entrada no ambiente aquático. Por outro lado, compostos pouco polares são mais adsorvidos no lodo (MELO et al., 2009).

Estes tipos de tratamento trabalham com microrganismos confinados em um sistema para degradação da matéria orgânica. Sendo assim, a degradação que ocorreria dentro do corpo receptor é realizada dentro desses sistemas criados especificamente para esse fim. Os microrganismos presentes nos sistemas biológicos degradam a matéria orgânica e, o efluente pode então teoricamente ser lançado no corpo receptor (FERREIRA; CORAIOLA, 2008).

Os processos envolvidos na remoção de estrogênios são divididos em três categorias: remoção física, biodegradação e processos químicos, segundo Liu, Kanjo e Mizutami (2009). Na Figura 13 são apresentados os processos de biodegradação e sorção dos hormônios nas partículas do lodo.

Um dos principais processos envolvidos na remoção dos estrogênios em ETEs é a biodegradação, porém a sorção também interfere na biodisponibilidade e remoção dos estrogênios. Tem se observado que alguns fatores influenciam na degradação de estrogênios em ETEs, devido a identificação de outros parâmetros tais como tempo de retenção de sólidos (TRS), tempo de retenção hidráulica (TRH) e a presença das etapas de nitrificação e desnitrificação (COMBALBERT; HERNANDEZ-RAQUET, 2010).

Os hormônios, quando liberados pelos seres humanos e lançados no esgoto, estão na forma conjugada, menos ativa. O processo de conversão para a forma ativa ocorre no percurso do esgoto entre a residência e a estação de tratamento de esgoto (ETE), ou dentro da ETE durante o tratamento. Esta conversão pode ocorrer pelo contato com a elevada população de *Escherichia coli* no esgoto e, portanto, a rede coletora e as ETEs podem ser consideradas reatores que convertem estrogênios da forma inativa (conjugada) para a forma ativa (livre) (D'ASCENZO et al., 2003; LOPES et al., 2008).

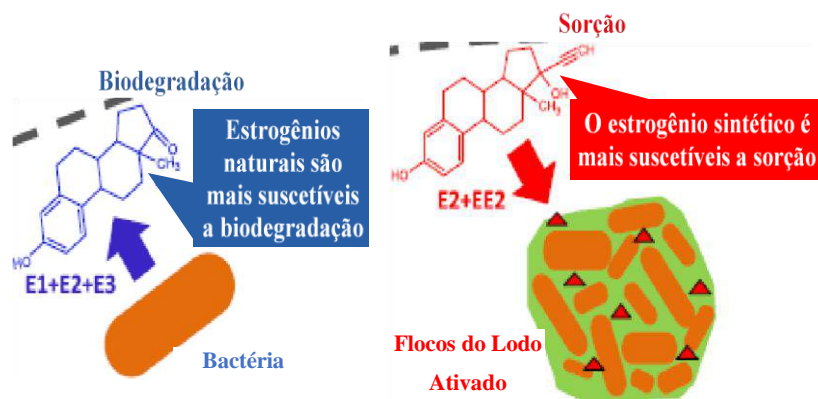


Figura 13 - Principais processos envolvidos na remoção dos estrogênios.

Fonte: Adaptado de Petrie et al. (2014).

Em uma estação de tratamento de esgoto, deve-se considerar, também, a ocorrência de seus conjugados, pois nem todos são transformados antes de entrar na ETE, podendo ser convertidos em estrogênio livre após o lançamento nos corpos receptores (HU et al., 2007; KOH et al., 2008).

Alguns hormônios estão em equilíbrio entre si, tais como o 17 β -estradiol (forma reduzida) e a estrona (forma oxidada). Tal fato deve ser levado em consideração, pois durante os processos de tratamento, pode haver a conversão de um estrogênio em outro, em função das condições oxidantes e redutoras do meio (LOPES et al., 2008).

Em alguns casos, a concentração de E1 no efluente da ETE pode ser maior do que no afluente. Isto pode ser explicado pela biotransformação de E2 para E1 no processo de tratamento biológico, sendo que a conversão de E2 para E1 ocorre de forma mais rápida em condições aeróbias do que em condições anaeróbicas, conforme observado por Yang (2009). E2 é encontrado em baixas concentrações no efluente de plantas de tratamento de esgoto, e EE2 e E1 podem ser encontrados de forma mais persistente (KOH et al., 2008).

6.3.1. Processo de Sorção

O lodo de esgoto, é uma mistura complexa de gorduras, proteínas, aminoácidos, açúcares, carboidratos, lignina, celulose, material húmico e ácidos graxos. No lodo secundário, uma grande quantidade de microrganismos vivos e mortos promove uma área superficial (0,8 a 1,7 m²/g) que juntamente com a hidrofobicidade dos compostos facilita o processo de sorção. Os DEs adsorvem

preferencialmente nestas partículas suspensas devido às suas propriedades hidrofóbicas (BIRKETT; LESTER, 2003).

O TRS pode afetar a natureza física dos flocos e sua capacidade de atuarem como sorventes. As propriedades hidrofílicas ou hidrofóbicas dos flocos dependem em grande parte de sua constituição, que por sua vez é dependente da população bacteriana e de suas taxas de crescimento. Os revestimentos de exopolímeros, formados basicamente por polissacarídeos e proteínas, em torno dos flocos teriam um efeito importante sobre a sua afinidade como adsorventes para compostos como E2 (KOH et al., 2008).

O coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) é a relação da concentração em equilíbrio de um composto orgânico entre um líquido orgânico e a água. Este coeficiente é uma das propriedades físicas quantitativas que se correlaciona melhor com a atividade biológica, podendo ser usado como uma medida de lipofilicidade e para prever a sorção no sólido presente em ETEs. O valor do $\log K_{ow}$ aumenta com o aumento da lipofilicidade e está inversamente correlacionado com a solubilidade. Altos valores de $\log K_{ow}$ são característicos de grandes moléculas hidrofóbicas, as quais tendem a se associar com a matéria orgânica sólida, enquanto que moléculas menores hidrofílicas têm baixo $\log K_{ow}$. Um valor de $\log K_{ow}$ menor do que 2,5 demonstra um baixo potencial de sorção, e um $\log K_{ow}$ maior do que 4 mostra um alto potencial de sorção em matéria orgânica (BIRKETT; LESTER, 2003).

As principais variáveis de superfície que influenciam a sorção para a maioria dos compostos orgânicos são o conteúdo de carbono orgânico na fase sólida e a significância da polaridade e composição da matéria orgânica (BIRKETT; LESTER, 2003).

Segundo Xu, Harper e Zhao (2008) e Ren et al. (2007a) a sorção de EE2 envolve a sorção física, como mecanismo dominante, em combinação com um baixo nível de reação química. Portanto, o composto pode ser desorvido do lodo para o efluente (processo reversível). Todavia, os autores observaram que o processo de desorção foi muito mais lento do que o processo de adsorção.

Os resultados obtidos por Xu, Harper e Zhao (2008) mostram que o processo de adsorção do composto EE2 é espontâneo ($\Delta G < 0$). Além disso, os autores sugerem que estes resultados podem ser diretamente aplicados em sistemas de tratamento de esgoto em larga escala, pois a concentração encontrada no esgoto bruto é muito menor do que aquela utilizada em seus estudos.

Clouzot (2009) avaliou a adsorção e a biodegradação do EE2 em um sistema descontínuo, utilizando frascos âmbar de 2,5 L aerados contendo lodo (3000 mg/L de sólidos suspensos voláteis (SSV) e 1000 ou 500 µg/L de EE2, durante 24 h. Em dois frascos foi avaliada a degradação total dos hormônios, e em outros dois frascos, a adsorção dos hormônios no lodo ativado, observada através da adição de um inibidor da atividade biológica (azida). Um conjunto de frascos contendo apenas água e EE2 foi utilizado como controle do processo. Amostras foram coletadas (volume entre 50 e 500 mL) nos tempos de contato de 10 min, 1, 2, 3, 6,5, 12 e 24 h. Uma diminuição de mais de 80% da concentração inicial de EE2 foi observada nos primeiros dez minutos de experimento, para ambos os testes, mostrando a predominância do processo de sorção.

6.3.2. Processo de Biodegradação

A degradação de estrogênios ocorre pela oxidação biológica (processo pelo qual bactérias e outros microrganismos se alimentam da matéria orgânica e se decompõem) em sistemas de tratamento de esgoto. Fatores químicos, como propriedades estruturais e ambientais, interferem no processo de biodegradação. Geralmente, moléculas com cadeias de hidrocarbonetos muito ramificadas são menos passíveis à biodegradação do que cadeias não ramificadas. Determinados substituintes em um composto irão torná-lo resistente à degradação, como: grupos halogênicos ou substituição na posição meta em um anel benzênico; sulfonatos; grupos metoxi; e grupos nitro (BIRKETT; LESTER, 2003).

Um alto TRH em ETEs permite maior tempo para a degradação. O TRS em que a biodegradação máxima ocorre é uma função de $\log K_{ow}$ e da taxa de biotransformação do composto. Portanto, TRS longos são necessários para compostos muito hidrofóbicos (BIRKETT; LESTER, 2003).

A preferência dos microrganismos é degradar fontes de carbono facilmente assimiláveis ao invés dos estrogênios. Quando a carga de lodo é baixa, em termos de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), os microrganismos são forçados a mineralizar compostos orgânicos dificilmente degradáveis (JOSS et al., 2004). Entretanto, não existe uma clara correlação, dentro do sistema de tratamento, entre diferentes cargas orgânicas e a remoção de estrogênios (KOH et al., 2008).

Joss et al. (2004) propuseram um mecanismo de degradação de estrogênios (E1, E2 e EE2). As principais reações envolvidas durante a transformação biológica são: clivagem dos conjugados

(glucuronídeos e sulfatos) para os três compostos; oxidação de E2 para E1 na presença de oxigênio; em condições de ausência de oxigênio e nitrato, com apenas E1 inicialmente presente, ocorre a redução de E1 para E2 e posterior degradação de ambos; degradação de E1 para produtos desconhecidos; e a degradação de EE2 para metabólitos desconhecidos, em quantidades significativas, somente em condições aeróbias. Além disso, dentro do reator ocorre a sorção dos compostos no lodo.

Em ETEs, a biodegradação ocorre, principalmente, em condições aeróbias, através do metabolismo biológico e das reações de transformação que podem desempenhar um papel significativo na remoção de estrogênio, pois os microrganismos presentes têm o potencial de utilizá-los como fonte de carbono nas reações bioquímicas (KOH et al., 2008; BASILE et al., 2011).

Os estrogênios podem ser degradados por duas formas principais: pelo uso direto como doadores de elétrons por organismos heterotróficos, a biodegradação convencional, conhecida como metabolismo ou por cometabolismo. No primeiro caso, os microrganismos utilizam compostos orgânicos, incluindo os estrogênios, como fonte de carbono e/ou energia para o crescimento microbiano. (VADER et al., 2000; REN et al., 2007; TRAN et al., 2013). O cometabolismo, isto é, o processo no qual os microrganismos utilizam outros compostos como fonte de energia e carbono para o crescimento microbiano, é um importante processo de biodegradação, observado quando as bactérias utilizam suas enzimas existentes para degradar hormônios. Desta forma, um composto orgânico é modificado, mas não é utilizado para crescimento (HAMID; ESKICIOGLU, 2012; YU; RULA; KUNG-HUI, 2013).

Esta degradação cometabólica, de estrogênios e muitos compostos orgânicos de baixo peso molecular, pode ser realizada por bactérias oxidadoras de amônia (AOB, do inglês *ammonia-oxidizing bacteria*) (VADER et al., 2000; REN et al., 2007b). Além disso, Vader et al. (2000) demonstram em seus resultados que as bactérias nitrificantes agem não somente em compostos orgânicos de baixo peso molecular, mas também em compostos sintéticos como EE2.

O sistema de lodos ativados nitrificantes é usado para oxidar amônia para nitrito e nitrato. *Nitrosomonas europaea* (*N. europaea*), uma bactéria quimiolitotrófica obrigatória produtora de enzimas monooxigenase, é usualmente responsável por catalisar a oxidação da amônia para nitrito em solos, águas naturais e lodos ativados, derivando sua energia para crescimento a partir desta oxidação. Vários grupos de bactérias que produzem enzimas monooxigenase são conhecidos por cometabolizar aerobicamente compostos orgânicos (VADER et al., 2000; SHI et al., 2004).

Várias pesquisas foram realizadas com o intuito de avaliar a biodegradação de estrogênios presentes em esgoto doméstico por processos biológicos. Estes estudos têm abordado ensaios de bancada de curta duração, considerando diferentes condições operacionais em termos de sistema e concentração de diferentes variáveis. Li et al. (2005) verificaram que a degradação do 17 β -estradiol (E2) depende fortemente da concentração do analito, da temperatura e do conteúdo de sólidos suspensos voláteis. Li et al. (2008) observaram que a presença de diferentes concentrações de glicose como fonte de carbono adicional prejudicava a degradação de E2.

Hashimoto e Murakami (2009) avaliaram a presença de 17 α -etinilestradiol (EE2) nas fases líquida e sólida de lodos ativados e verificaram uma fase lag de 2 h e a completa remoção e degradação de EE2 após 24 h. Além disso, Chang et al. (2006) consideraram a degradação da estrona (E1) e (E2) em ensaios de curta duração (72 h), e verificaram que tanto E1 quanto E2 foram removidos (em aproximadamente 100%) quando concentrações iniciais de 100 e 1000 mg/L foram utilizadas. Desmiarti e Li (2013) observaram que E1 e E2 foram completamente degradados após 8 h em condições aeróbias, tendo E2 desaparecido muito mais rápido do que E1.

Ternes, Kreckel e Mueller (1999) avaliaram duas concentrações diferentes (1000 e 1,0 μ g/L) de E1, E2, EE2, entre outros compostos, em condições aeróbias, durante 72 h de ensaio. Utilizando a concentração mais alta, a degradação do E2 foi alcançada em menos de 10 h, porém a estrona produzida foi degradada em 72 h. Já com a concentração menor, em apenas 5 h a estrona gerada já havia sido degradada, e o E2 foi degradado em menos de 3 h.

No trabalho realizado por Clouzot (2009), os testes foram realizados utilizando-se dois tipos de lodos coletados em uma ETE: um passou por um período de aclimação e o outro foi usado logo após sua coleta. O lodo aclimatado foi capaz de realizar a biodegradação do EE2, o que não ocorreu com o lodo sem aclimação. O procedimento de aclimação foi realizado para favorecer o crescimento das bactérias autotróficas e inibir o crescimento das bactérias heterotróficas, o que fez com que a atividade nitrificante fosse triplicada.

6.4. PROCESSOS DE REMOÇÃO DE ESTROGÊNIO NO ESGOTO

Existem diversas limitações relacionadas ao entendimento do caminho percorrido pelos hormônios em um sistema de tratamento em grande escala, como: mudanças sazonais (temperatura e

chuvas), variações na carga de entrada (descargas inesperadas), e especiação (estrogênios conjugados ou não conjugados). Além disso, a sorção destes compostos na superfície dos sólidos confunde a interpretação devido à grande diferença entre o tempo de permanência do líquido e dos sólidos no sistema (SUIDAN et al., 2005).

Os processos convencionais de tratamento de esgoto existentes não são eficazes para garantir a remoção total dos estrogênios (LINDBLOM et al., 2009). Portanto, as ações de remoção e controle de hormônios estão baseadas em dois tipos de intervenção: otimização das condições operacionais existentes na planta de tratamento; e modernização das instalações do sistema convencional, com a incorporação de novas tecnologias no final do processo. Em ambos os casos, o processo pode ser destrutivo ou conservativo, dependendo se o composto é degradado ou transferido para outra fase (BASILE et al., 2011). O Quadro 3 resume as possibilidades existentes para aumentar a remoção de estrogênios em estações de tratamento de esgoto (KOH et al., 2008).

A extensão da biodegradação de um composto específico em ETEs, será uma função das condições operacionais (configuração da planta, TRH, TRS, potencial redox, parâmetros ambientais) bem como de parâmetros específicos do composto (potencial de sorção e degradabilidade). Outros fatores incluem o tempo que o esgoto leva para chegar a ETE, o estado nutricional, a carga orgânica, o tipo de tratamento, a atividade e estabilidade da biomassa residente, e o cultivo de microrganismos específicos. A habilidade em aperfeiçoar e controlar a remoção de um composto no sistema de lodos ativados depende do entendimento destes parâmetros e como eles interagem com o processo de remoção (JOHNSON, BELFROID e DI CORCIA, 2000; KOH et al., 2008; LINDBLOM et al., 2009).

Quadro 3 - Formas de aprimorar a remoção de estrogênios desde a geração até o fim do processo de tratamento de esgoto.

Separação na Origem	(1) separar resíduos industriais; (2) ETE fechada para prevenir diluição e controlar TRH.
Tratamento Primário	Opção possível: (1) aumentar TRS
Tratamento Secundário	Otimização operacional: (1) maior TRS; (2) maior TRH; (3) temperatura constante (22-25 °C); (4) bioremediação com microrganismo seletivo.
	Processos alternativos: (1) lodo ativado e nitrificação; (2) biorreator a membrana; (3) aumentar a remoção de nutrientes.
Tratamento Terciário	Processos físicos: (1) carvão ativado granular; (2) nanofiltração e ultrafiltração.
	Processos químicos: (1) dióxido de cloro; (2) hipoclorito de sódio; (3) ozônio; (4) fotólise; (5) irradiação ultravioleta (UV); (6) íon ferrato; (7) dióxido de manganês; (8) dióxido de titânio.

Fonte: Adaptado de Koh et al. (2008).

Processos biológicos são, normalmente, o meio mais viável, economicamente, na remoção de compostos orgânicos do esgoto. Métodos como osmose reversa e a adsorção em carvão ativado somente transferem o poluente de uma fase para outra, e não resolvem o problema ambiental. A oxidação química, como processo oxidativo avançado tem sido uma alternativa eficiente na remoção de baixos níveis de estrogênio (KOH et al., 2008). Entretanto, ainda não é uma tecnologia economicamente viável, e cuidados são necessários com relação aos produtos químicos, pois estes são reativos e produzem subprodutos de efeitos desconhecidos (BOLONG et al., 2009).

A otimização dos parâmetros operacionais em uma ETE, com a adoção de maiores TRH e TRS, em conjunto com a remoção de nutrientes, e variação das condições de oxi-redução permite tratar parcialmente os estrogênios. No entanto, estas ações também influenciam no tamanho da planta de tratamento e em outros critérios de projeto (KOH et al., 2008; BOLONG et al., 2009).

6.4.1. *Sistemas de lodos ativados (LA)*

O tratamento por lodos ativados é um processo biológico onde o esgoto afluyente, na presença de oxigênio dissolvido, agitação mecânica e pelo crescimento e atuação de microrganismos específicos, forma flocos denominados lodo ativado ou lodo biológico. Essa fase do tratamento objetiva a remoção da matéria orgânica biodegradável presente nos esgotos. Após essa etapa, a fase sólida é separada da fase líquida em outra unidade operacional denominada decantador. O lodo ativado separado retorna para o processo ou é retirado para tratamento específico ou destinação final, enquanto o esgoto já tratado é retirado através do vertedor do decantador, no qual ocorreu a separação, e encaminhado para o corpo receptor (JORDÃO e PESSOA, 2005).

Segundo Liu, Kanjo e Mizutami (2009), dentre os sistemas de tratamento de esgoto existentes, o processo de lodos ativados é o mais amplamente utilizado no mundo.

No sistema convencional, o TRS é usualmente da ordem de 4 a 10 dias e o TRH no reator, da ordem de 6 a 8 h. Na modalidade aeração prolongada, normalmente o sistema não possui decantador primário e o TRS varia entre 18 e 30 dias. Com relação ao fluxo, o reator pode operar de forma contínua, onde estarão presentes, além do tanque de aeração, dois decantadores, um primário e um secundário ou intermitente (batelada), onde em apenas um tanque as fases de aeração, decantação e retirada passam a ser sequências no tempo (VON SPERLING, 2012).

Devido à sua simplicidade e flexibilidade de operação, o reator em bateladas sequenciais (RBS, do inglês *Sequencing Batch Reactor*) tornou-se bastante popular. O princípio dos reatores em bateladas sequenciais, como se conhece atualmente surgiu no início dos anos 70 no tratamento biológico de águas residuárias e consiste na incorporação de todas as unidades, processos e operações normalmente associados ao tratamento tradicional de lodos ativados - decantação primária, oxidação biológica e decantação secundária – em um único tanque. Assim, esses processos e operações passam a ser simplesmente sequências no tempo, e não unidades separadas como ocorrem nos processos convencionais. Dependendo do objetivo do tratamento, modificações podem ser incorporadas ao sistema, como a forma de alimentação e retirada e a inclusão de diferentes etapas no ciclo de tratamento, como anóxica e anaeróbia (VON SPERLING, 2012).

Como descrevem Artan e Orhon (2005), o processo de lodos ativados em bateladas envolve operação cíclica, em estado estacionário e com alimentação intermitente, durante períodos

selecionados ou durante toda a duração do ciclo, com exceção nas fases de sedimentação e retirada. Usualmente, um ciclo no Reator em Bateladas Sequenciais consiste de cinco fases, como esquematizado na Figura 14 (JORDÃO e PESSÔA, 2005).

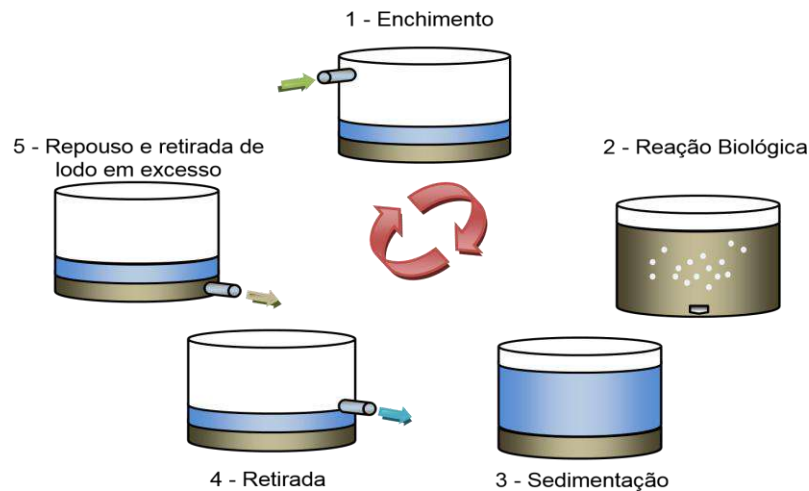


Figura 14 - Representação esquemática das etapas envolvidas no processo de tratamento por lodos ativados em batelada sequencial.

Fonte: JORDÃO e PESSÔA, 2005

- 1- Fase de Enchimento:** esgoto primário alimenta o tanque até o nível determinado pela operação ou de acordo com a disponibilidade. Os aeradores podem ser ligados ou permanecerem desligados.
- 2- Fase de Reação Biológica:** aeradores ligados mantendo o fornecimento de oxigênio necessário às reações biológicas de consumo de matéria orgânica (MO) e à transformação da NH_4 . Quando o objetivo do tratamento é a nitrificação seguida da desnitrificação, a aeração deve ser interrompida durante a reação, para que prevaleçam condições anóxicas durante um período de tempo.
- 3- Fase de Sedimentação:** os aeradores são desligados e os sólidos em suspensão sedimentam no interior do tanque até uma determinada altura da manta de lodo. A concentração de ST neste lodo pode alcançar de 6.000 a 8.000 mg/L. Nesta fase não é necessário decantador final nem equipamentos específicos para a sedimentação.
- 4- Retirada do Efluente:** o efluente clarificado começa a ser retirado através de vertedor flutuante ou ajustável. É usual manter-se uma pequena altura de proteção do clarificado acima da manta de lodo, que se pode chamar de altura de transição.

5- Fase de repouso ou ajustes: usada para ajustar o tempo entre o fim de um ciclo e o início de outro. Pode ser utilizada, também para a retirada do lodo em excesso.

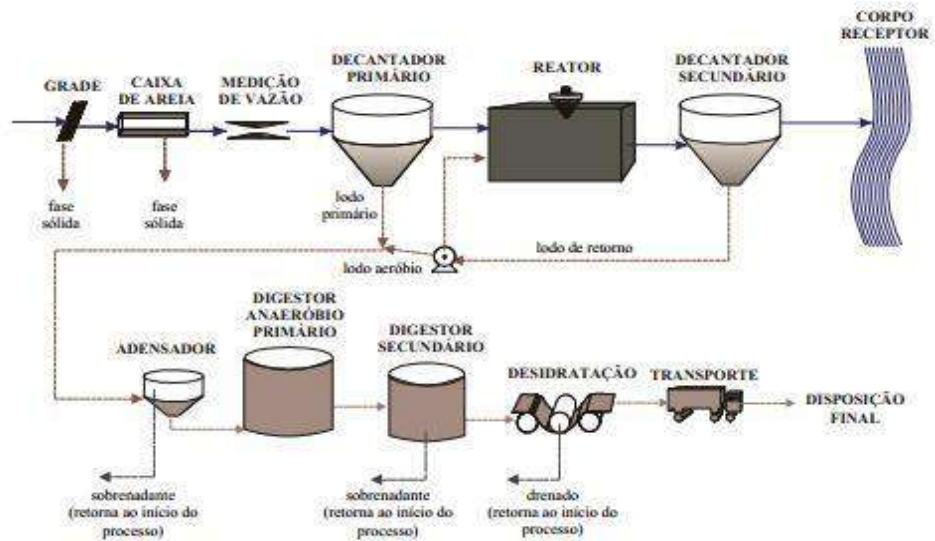


Figura 15 - Fluxograma de sistema convencional de lodos ativados.

Fonte: ReCESA (2008)

A Figura 15 mostra um fluxograma convencional de lodo ativado, que é constituído por um decantador primário, cujo o objetivo é o de remover a matéria orgânica em suspensão sedimentável, seguido pelo tanque de aeração (reator) no qual ocorre a oxidação da matéria orgânica, por via metabólica (uso de micro-organismos), que é removida na forma de lodo do decantador secundário. Nesse processo, pode-se destacar que há uma economia em termos de energia para a aeração, pois parte da matéria orgânica sedimentável é removida antes do tanque de aeração, através do decantador primário. Além disso, como o tempo de retenção hidráulico é baixo, em torno de 6 à 8 horas, tal fato faz com que o volume do tanque de aeração seja menor (ReCESA, 2008).

No tanque de aeração ocorre a degradação da matéria orgânica. A aeração é importante para realizar a homogeneização e esta pode se dar por uma absorção forçada da atmosfera ou injeção de ar no meio líquido. O lodo do processo de lodo ativado é constituído por flocos, que são formados por fragmentos orgânicos não digeridos, por uma fração inorgânica (por exemplo: grãos de areia), por células mortas e, principalmente, uma grande variedade de bactérias. Como a quantidade de flocos naturalmente presente é pequena, haveria necessidade de um tempo muito longo e de um

tanque muito grande para que o processo fosse efetivo. Porém, através do retorno contínuo do lodo do decantador secundário aos tanques de aeração é mantida uma concentração elevada de flocos, permitindo que o tempo e o volume do tanque sejam menores (Jordão e Pessoal, 2011). No decantador secundário acontece a clarificação do efluente final e a sedimentação do lodo floculado, que é composto de bactérias e matéria orgânica em suspensão (Von Sperling, 1997).

6.4.1.1. *Remoção de estrogênios nos sistemas LAs*

Embora seja reconhecido que a tecnologia de lodos ativados é capaz de remover DEs, nem todos os compostos são completamente degradados ou convertidos nestes sistemas (BOLONG et al., 2009).

Apesar da existência de muitos estudos comparando a eficiência de remoção entre sistemas de tratamento biológico, os mecanismos envolvidos na biotransformação de estrogênios em sistemas de lodos ativados não são bem compreendidos. Normalmente a biodegradação de estrogênios difere de uma ETE para outra. Portanto, é essencial entender o mecanismo envolvido na remoção para possibilitar a otimização do processo e das condições operacionais que favoreçam a remoção de DEs de águas residuárias (SKOTNICKA-PITAK et al., 2008).

Os sistemas de lodos ativados apresentam diversas variações, e muitas delas já foram avaliadas em relação à remoção dos estrogênios. Diversos trabalhos relacionam a remoção destes compostos aos processos de remoção de nutrientes, como a nitrificação, e a presença de bactérias nitrificantes (GUSSEME et al., 2009; REN et al., 2007b; SHI et al., 2004; VADER et al., 2000; YI; HARPER 2007a).

Na Europa, o sistema de tratamento de esgoto composto por lodos ativados é o mais utilizado e, por este motivo, vários trabalhos já avaliaram a eficiência de remoção de estrogênio através deste processo. Uma remoção de hormônios muito baixa pode indicar a necessidade de um tratamento terciário adicional, enquanto que uma eficiência de 80-90% de remoção significa que o processo pode ser manipulado e atingir maiores remoções (JOHNSON; BELFROID; DI CORCIA, 2000).

Johnson, Belfroid e Di Corcia (2000) avaliaram estações de tratamento existentes na Europa, e valores obtidos por outros autores, em diferentes países, e obtiveram valores médios de remoção

de $74 \pm 27\%$ de E1 (nove estações) e $88 \pm 13\%$ de E2 (sete estações) para amostras compostas coletadas em diferentes estações de tratamento. A maioria das ETEs avaliadas pelos autores, na Alemanha e na Itália, apresentaram valores de concentração de E1 e E2 no esgoto tratado menores do que o limite de detecção do método analítico.

Em um estudo realizado por Ternes et al. (1999), foram encontrados estrogênios naturais e contraceptivos sintéticos na ETE da Penha/RJ. No esgoto bruto os estrogênios E2 e E1 foram detectados nas concentrações de $0,021 \mu\text{g/L}$ e $0,04 \mu\text{g/L}$, respectivamente. Os autores observaram eficiências de remoção de 83% para E1 e 99,9% para E2, para o efluente tratado pelo processo de lodos ativados. Para EE2, as taxas de remoção na ETE foram de 64 e 78% para os sistemas de filtro biológico e lodos ativados, respectivamente.

Ren et al. (2007b) avaliaram a influência da carga orgânica (0,5, 1,6 e 4,1 kg COT/kg SS.d) na degradação de estrogênio e observaram que uma carga orgânica mais elevada tende a resultar em uma baixa oxidação de amônia e, conseqüentemente, em uma baixa degradação de estrogênio. Portanto a degradação de estrogênio é diretamente afetada tanto pela taxa de carga orgânica como pela oxidação da amônia. Os autores também constataram que o cometabolismo de AOB foi o mecanismo de degradação dominante na remoção de E1, E2 e EE2 no sistema de lodos ativados com nitrificação.

Ainda no trabalho realizado por Ren et al. (2007b) dois substratos diferentes, glicose e cloreto de amônia, foram utilizados para avaliar o comportamento dos microrganismos heterotróficos e autotróficos, respectivamente, na biodegradação de E1 em lodo ativado nitrificante. A partir dos resultados, os autores verificaram que o lodo estudado foi capaz de degradar E1 mesmo na ausência de amônia, e E1 foi usado como substrato pelas bactérias heterotróficas quando outras fontes de carbono, facilmente assimiláveis, não estavam disponíveis.

Um dos objetivos da pesquisa realizada por Pholchan et al. (2008) foi investigar o destino de estrogênios (E1, E2 e EE2) em um reator em batelada sequencial (SBR - *sequencing batch reactor*), capaz de promover a acumulação de nitrito, em diferentes TRSs, e em condições estritamente aeróbicas. Os autores partiram do pressuposto de que a eficiência de remoção de estrogênios é maior em longos tempos de retenção de sólidos. Isto pode ser explicado pela possibilidade da presença de uma maior diversidade microbiana, e a presença de microrganismos específicos de crescimento lento, como AOB, em reatores que operam em longos TRS.

Pholchan et al. (2008) demonstraram que um biorreator capaz de acumular nitrito também pode remover os estrogênios de forma eficiente. Os resultados obtidos mostraram que a remoção de E1 e E2 pode ser esperada em reatores projetados para acumular nitrito. No entanto, a extensão do acúmulo de nitrito deve ser limitada, pois dois efeitos foram verificados em concentrações superiores a 70 mg/L de nitrito: reduzida remoção de EE2; e toxicidade para AOB e AMO.

Nos ensaios realizados por Roh e Chu (2011), com a cepa KC8 previamente inoculada em um SBR, a remoção de estrogênio em TRS de 10 e 20 dias foi maior do que em TRS de 5 dias, apesar da diminuição na quantidade de determinadas bactérias, inclusive da KC8, que pode ser devido ao decaimento microbiano ou a competição por nutrientes com outros microrganismos presentes no sistema. Segundo os autores, muitos fatores estão envolvidos na degradação dos estrogênios, como a presença de microrganismos desconhecidos, a cinética de crescimento e degradação, e os efeitos dos nutrientes na habilidade dos microrganismos capazes de realizar a degradação. A degradação do estrogênio ocorreu em TRS maiores, em partes, provavelmente devido à presença de baixa concentração de KC8 e de degradantes desconhecidos de estrogênio de crescimento lento (ROH e CHU, 2011).

6.4.2. Biorreatores com membrana (MBR)

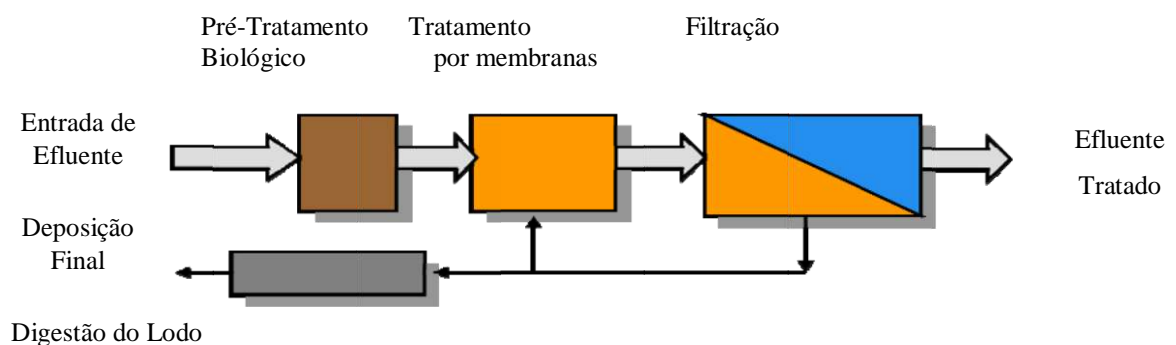


Figura 16 - Diagrama de um Biorreator com Membrana

Membranas são definidas como um filme fino sólido que separa duas soluções, e atua como uma barreira seletiva para transporte de componentes destas soluções, quando aplicada algum tipo de força externa. A força-motriz que impulsiona a separação na maioria dos processos de separação por membranas utilizadas no tratamento de águas e esgotos é a pressão positiva ou negativa (vácuo). Nestes processos, o solvente é forçado, pela força motriz, a atravessar a barreira semipermeável

constituída pela membrana, que retém contaminantes químicos e/ou particulados. Além disso, não ocorre transformação química ou biológica de compostos durante este processo (SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001).

De acordo com Metcalf e Eddy (2003), os processos de filtração por membranas incluem: microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa, diálise e eletrodiálise. Estes se distinguem entre si quanto: à natureza da força motriz; ao tamanho dos poros; ao mecanismo de separação; e ao material de confecção das membranas. Os processos de membranas mais apropriados para obter uma água de qualidade desejável, dependem dos compostos a serem eliminados da água bruta.

Os biorreatores com membrana são uma combinação da tecnologia de membranas com os reatores biológicos para o tratamento de esgoto. As membranas, quando associadas aos processos biológicos, são mais frequentemente usadas para substituir a etapa de sedimentação, separação entre a biomassa e o efluente (STEPHENSON et al., 2000).

Segundo Metcalf e Eddy (2003), os biorreatores com membrana apresentam algumas vantagens principais: tratamento de altas cargas orgânicas volumétricas em menor tempo de retenção hidráulica; menor produção de lodo, devido a maiores tempos de retenção da biomassa; operação em baixas concentrações de oxigênio dissolvido, com potencialidade de nitrificação e desnitrificação; alta qualidade dos efluentes gerados em termos de turbidez, bactérias, sólidos suspensos totais (SST) e DBO (a membrana permite a retenção do material particulado produzindo um efluente livre de sólidos em suspensão); e menor espaço físico da unidade de tratamento, se comparado às tecnologias convencionais.

As limitações destes sistemas, de acordo com Metcalf e Eddy (2003) são: alto custo inicial; vida útil limitada das membranas (3 a 5 anos); alto consumo de energia; necessidade de controle da colmatação (adsorção das moléculas de soluto; obstrução de poros por partículas em suspensão; e depósito de material em suspensão sobre a superfície da membrana).

Assim como os sistemas de lodos ativados, o biorreator a membrana também pode ser operado na forma de batelada sequencial, e este apresenta algumas vantagens em relação ao biorreator a membrana convencional de fluxo contínuo. Zhang et al. (2006) compararam os dois sistemas em diferentes relações de demanda química de oxigênio/nitrogênio total (DQO/NT) de 3,4 a 28,2, e constataram que a remoção de amônia, nitrogênio total e fósforo total foi superior no reator

em batelada. Belli et al. (2012) obtiveram eficiência média de remoção de nitrogênio total de 96%, confirmando a ocorrência dos processos de nitrificação e desnitrificação em sistemas operados em batelada sequencial.

6.4.2.1. Remoção de estrogênios nos sistemas MBRs

Para alcançar uma biodegradação de estrogênios mais completa, pode ser necessário um aumento no TRS ou no TRH da ETE existente. Considerando custo e espaço, a aplicação da tecnologia de tratamento terciário avançado, para muitas comunidades, pode ser economicamente inviável. Portanto, o MBR pode representar uma opção viável pelas diversas vantagens já citadas (CLARA et al., 2005; KOH et al., 2008; BASILE et al., 2011). Além disso, a completa retenção física de microrganismos alcançada em um MBR, pode favorecer o cultivo e enriquecimento de microrganismos específicos de metabolismo lento, responsáveis, em parte, por realizar a degradação aeróbia dos estrogênios (ZUEHLKE et al., 2006).

O TRS é um parâmetro chave para o tratamento de águas residuárias em sistemas convencionais e MBRs. Em sistemas de tratamento operados em maiores TRS, o tempo de contato, a difusão dentro dos flocos, e a adaptação dos microrganismos para o substrato são melhorados. Na revisão realizada por Cirja et al. (2008), os autores observaram que valores de TRS entre 10 e 30 dias, permitem uma taxa de remoção suficiente para muitos dos micropoluentes investigados. A sorção dos micropoluentes é favorecida pelo alto conteúdo de biomassa, que é característico para reatores MBR e adicionalmente, a composição do lodo tem uma grande influência na degradação dos compostos (CIRJA et al., 2008).

Estrada-Arriaga e Mijaylova (2011) observaram que os parâmetros TRS e TRH influenciam claramente na remoção de estrogênios em um MBR. A remoção de E1 e EE2 foi afetada pela variação de TRS e TRH, enquanto que para a remoção de E2 estes parâmetros operacionais não influenciaram de forma perceptível. Os autores concluíram que o composto mais biodegradável foi o E2, seguido pelo E1, e o EE2 foi o estrogênio mais persistente.

Os autores Estrada-Arriaga e Mijaylova (2011) observaram que um aumento no TRS, talvez permita o desenvolvimento de microrganismos específicos dentro do MBR, estabelecendo assim, uma população diversificada de microrganismos com alta capacidade fisiológica para degradar E1, E2 e EE2. Portanto, o processo de biodegradação foi mais importante do que o processo de adsorção.

No trabalho realizado por Weber et al. (2005), E2 foi oxidado para E1 em 3 h pelo lodo do biorreator commembrana e em 7 h pelo lodo ativado convencional. Entretanto, não foi verificada diferença expressiva entre a taxa de conversão realizada pelo lodo do MBR (0,11 µg/h) e pelo lodo convencional (0,08 µg/h) em termos de grama de resíduo seco.

Nos resultados obtidos por Gaulke et al. (2009), o valor do coeficiente de degradação biológica para EE2, no reator MBR (TRS de 30 a 40 d) e no reator LA (TRS de 3 d), foi bastante similar, indicando que as bactérias heterotróficas responsáveis pela degradação de EE2 estão presentes em longos e curtos tempos de retenção de sólidos.

Trinh et al. (2012) avaliaram a remoção de 48 contaminantes orgânicos, em um MBR em escala real. Os estrogênios E2 e E1 apresentaram concentrações médias de aproximadamente, 50 e 100 ng/L, nas amostras de esgoto real. O sistema de tratamento avaliado apresentou eficiência de remoção em torno de 97 e 100% para estes compostos. E1 foi detectado no permeado na concentração de 1,5 ng/L e E2 não foi detectado. Wu et al. (2011) obtiveram remoção média de EE2 de 87%, fazendo uso de um reator provido de quatro tanques, sendo eles: anaeróbio, anóxico, aeróbio e de membrana em escala real. Já a remoção obtida para os hormônios naturais foi superior a 97%, sendo que a concentração média dos estrogênios no afluente apresentou valores entre 118 e 145 ng/L para os três compostos em amostras naturais. Diversos trabalhos já avaliaram a remoção dos estrogênios em sistemas de tratamento compostos por biorreatores a membrana de diferentes configurações. Muitos deles relacionam a remoção destes compostos ao mecanismo de retenção de sólidos, o que permite a operação em maiores TRSs, bem como a completa retenção da biomassa no sistema.

6.5. DESTINO DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTOS

A remoção de estrogênios pode ser influenciada pelo tempo de retenção do lodo (idade do lodo), assim como tempo que leva para chegar ao processo de tratamento de esgoto, tipo de tratamento e atividade e estabilidade da biota local, bem como o uso de tratamento secundário.

Pesquisas têm mostrado que a maioria dos estrogênios entra nas ETEs em sua forma conjugada. Além disso, ETEs são as fontes primárias de estrogênios livres no ambiente aquático, demonstrando assim que a desconjugação acontece durante o processo de tratamento, como já foi citado anteriormente. Não foram encontradas, em efluentes, quantidades significativas de estrogênios conjugados (BILA, 2005).

Um estudo de balanços de massa de estrogênios em ETEs na Alemanha demonstrou que a maior parte da atividade estrogênica no afluente foi biodegradado durante o tratamento ao invés de ser adsorvido em sólidos em suspensão. Houve uma redução de 90% na carga estrogênica, e menos de 3% da atividade estrogênica foi encontrado no lodo (BIRKETT E LESTER, 2003).

Os estrogênios naturais E1, E2 e E3 e o sintético EE2, são adsorvidos à fase sólida em ETEs durante o tratamento primário e secundário. Devido a esta associação, a otimização da remoção de sólidos em suspensão deve ter como resultado a otimização de remoção destes desreguladores endócrinos, mas isto não foi observado (ROGERS, 1996). É possível que os compostos se associem com partículas finas não sedimentáveis. Deste modo, a remoção não pode ser relacionada com a remoção de sólidos suspensos, uma vez que a fração de tamanho de partícula, com os quais os compostos podem ser associados, será constituída por uma pequena porção do total de sólidos suspensos (Birkett e Lester, 2003).

Na Tabela 4 estão listadas as eficiências de remoção de desreguladores endócrinos encontrados em efluentes de ETE e o respectivo tratamento empregado.

Tabela 4 - Eficiência de remoção de desreguladores endócrinos encontrados em efluentes de ETEs e sua respectiva eficiência de tratamento e tratamento.

Substância	Matriz	Eficiência de Remoção	Tipo de Tratamento	Procedimento Analítico	TRH	Referência Bibliográfica
17 α -etinilestradiol	Esgotos ETEs Itália	86%	Lodos Ativados	SPE e HPLC/MS	12h	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
17 α -etinilestradiol	Esgotos ETEs Itália	85%	MBR	SPE e HPLC/MS	14h	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
17 β - estradiol	Esgotos ETEs Itália	88%	Lodos Ativados	SPE e HPLC/MS	14h	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
17 β - estradiol	Esgotos ETEs Coréia do Sul	79%	MBR	SPE e HPLC/MS		DUONG <i>et al.</i> , 2010
Estriol	Esgotos ETEs Itália	98%	Lodos Ativados	SPE e HPLC/MS	14h	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
Estrona	Esgotos ETEs Itália	74,20%	MBR	SPE e HPLC/MS	12h	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
Estrona	Esgotos ETEs Coréia do Sul	80%	Lodos Ativados	ELL e CG/MS		DUONG <i>et al.</i> , 2010
Estrona	Esgotos ETEs Beijjin	75,40%	Lagoas de Estabilização	SPE e CG/MS	14h	NIE <i>et al.</i> , 2012
17 α -etinilestradiol	Esgotos ETEs Beijjin	>90%	Lodos Ativados	SPE e CG/MS	14h	NIE <i>et al.</i> , 2012
17 β - estradiol	Esgotos ETEs Beijjin	>95%	MBR	SPE e CG/MS	14h	NIE <i>et al.</i> , 2012
Estriol	Esgotos ETEs Beijjin	>99,5%	Lodos Ativados	SPE e CG/MS	14h	NIE <i>et al.</i> , 2012

TRH: Tempo de retenção hidráulica UPLC: cromatografia líquida de ultra eficiência

SPE: extração em fase sólida

ELL: extração líquido-líquido

MS: Espectrometria de massa

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência

CG: cromatografia gasosa

7. PRESENÇA DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM DIVERSAS MATRIZES AMBIENTAIS

Para desenvolvimento deste trabalho, inicialmente foi realizada uma profunda revisão bibliográfica a despeito dos desreguladores endócrinos, no qual foram observados aspectos como: efeito na saúde humana e no meio ambiente. Além disso, o desenvolvimento dos objetivos proporciona melhor entendimento a respeito de como essas substâncias alteram o sistema endócrino, assim como os DEs se comportam em meios aquosos e suas formas de remoção em ETEs.

Uma análise mais aprofundada da presença dos DEs em diversas matrizes ambientais torna-se uma ferramenta para analisar os níveis de poluição das águas e as etapas necessárias nas estações de tratamento de esgotos. Para isso, foi feito um levantamento das concentrações de hormônios estrogênicos presentes em matrizes ambientais tais como: águas superficiais, águas subterrâneas e efluentes de esgoto após tratamento.

Além disso, o presente estudo tem como objetivo principal comparar a situação do Brasil com a de países desenvolvidos com relação a remoção de hormônios, conseqüentemente, como estão os tratamentos de efluentes, com relação a remoção de hormônios estrogênicos.

Nas tabelas 5, 6, 7 e 8, serão apresentados os resultados obtidos a partir de um levantamento feito na literatura sobre a presença de desreguladores endócrinos (E1, E2, E3 e EE2) em diversas matrizes ambientais e seus respectivos países.

Para a estrona, os resultados obtidos para águas subterrâneas, efluentes de esgoto após tratamento e águas superficiais foram compilados na Tabela 5, com as respectivas concentrações da cada matriz com os países. Os anos analisados forma de 1999 a 2011.

Tabela 5 - Concentrações do hormônio natural estrona em diferentes matrizes ambientais

Estrona (E1)			
Matriz Ambiental	Concentração (ng/L)	País	Referência
Água Superficial	1,5	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	0,10 - 4,1	Alemanha	Kuch e Ballschmitter, 2001
	0,2 - 17	Inglaterra	Xiao <i>et al.</i> , 2001
	0,2 - 6,6	Japão	Isobe <i>et al.</i> , 2003
	1,1 - 3,0	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	Máxima: 4,6 Média: 0,35	Áustria	Hohenblum <i>et al.</i> , 2004
	1,2	EUA	Zuo <i>et al.</i> , 2006
	n.d. - 1,03	Coreia	Shin <i>et al.</i> , 2011
	6 - 13,3	China	Liu <i>et al.</i> , 2011
	n.d.	Brasil	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	3.500 - 5.000	Brasil	Ghiselli, 2006
	n.d. - 39	Brasil	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Sodrê <i>et al.</i> , 2010
	<16	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
	n.d.	Brasil	Froehner, 2011
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
n.d.	Brasil	Souza, 2011	
Esgoto Sanitário após tratado	1,4 - 76	Reino Unido	Desbrow <i>et al.</i> , 1998
	47	Holanda	Belfroid <i>et al.</i> , 1999
	27	Alemanha	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	52	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	10	Itália	Johnson <i>et al.</i> , 2000
	0,35 - 18	Alemanha	Kuch e Ballschmitter, 2001
	6,4 - 29	Inglaterra	Xiao <i>et al.</i> , 2001
	9,9 - 66,4	França	Vulliet <i>et al.</i> , 2007
	0,3 - 41	Inglaterra	Zhang <i>et al.</i> , 2007
	n.d. - 20	Canadá	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Saravanabhavan <i>et al.</i> , 2009
	40	Brasil	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	4.830	Brasil	Ghiselli, 2006
	n.d.	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
	<48 - 560	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
	<40 - 4.350	Brasil	Souza, 2011
<LD	Brasil	Froehner, 2011	
Águas Subterrâneas	máximo de 1,6	Áustria	Hohenblum <i>et al.</i> , 2004

A partir da Tabela 5, pode-se constatar que a nível internacional a concentração da estrona variou de não detectado até 17 ng/L na Alemanha, sendo que os dois estudos foram realizados em 2001. Porém, em 2011, na China foi verificada a segunda maior concentração a nível internacional. Tais fatos demonstram que esses hormônios são frequentemente encontrados em águas superficiais. Além disso, essa frequência foi observada ao longo dos anos, logo, pode-se constatar que estrona tem sido constantemente utilizada ao longo dos anos. Com relação ao Brasil, não foi observado tanta frequência se comparada aos níveis internacionais, todavia, a concentração encontrada foi bem maior se comparada com os de

níveis internacionais, na ordem de 5000 ng/L. Esse alto valor pode ser comparado as concentrações de estrona encontradas em egestos sanitários do Brasil.

As concentrações entre de 4;50; e 1,7 – 3,4 ng/L respectivamente dos hormônios 17 β -estradiol, estrona e 17 α – etinilestradiol, causaram efeitos em espécies aquáticas, tais como peixes da espécie *Oncorhynchus mykiss* e *Rutilus rutilus*, a partir de 21 dias de exposição a estes hormônios.

Com relação aos efluentes de estações de tratamento de esgoto após tratamento, as concentrações variaram de 0,3 até 76 ng/L a nível internacional, no entanto, pode-se observar que está presente em todos os estudos, possuindo alta frequência em vários países. A nível nacional a concentração do E2 chegou a 4850 ng/L, entres os anos de 1999 e 2011, além disso em 3 dos 9 levantamentos feitos na literatura não foi constatada a sua presença. Notoriamente, destaca-se um a discrepância entre o Brasil e outros países em relação as concentrações de estrona. Tais fatos podem ser explicados a partir das diferenças culturais, as diferentes formas de análise para esse composto, já que muitas vezes estão presentes em efluentes em concentrações muito baixas.

Nas águas subterrâneas, a partir desse estudo, somente na Áustria foi observada a presença de estrona, logo, a contaminação pelo E2 é bem menor se comparado aos demais. A contaminação dessa matriz se deve, principalmente, pela infiltração dos hormônios através do solo. Tal contaminação ocorre devido a disposição de lodos oriundos de ETEs que não foram previamente tratados (FERREIRA, 2008).

Na Tabela 6, estão apresentados os resultados do hormônio natural E2, no Brasil e a nível internacional.

Tabela 6 - Concentrações do hormônio natural 17 β -estradiol em diferentes matrizes ambientais

17 β -estradiol (E2)			
Matriz Ambiental	Concentração (ng/L)	País	Referência
Água Superficial	0,11	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	0,15 - 3,6	Alemanha	Kuch e Ballschmitter, 2001
	0,5 - 7	Inglaterra	Xiao <i>et al.</i> , 2001
	<0,3 - 1,0	Japão	Isobe <i>et al.</i> , 2003
	1,4 - 3,0	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	Máxima: 1,2 Média:	Áustria	Hohenblum <i>et al.</i> , 2004
	0,13		
	0,83	EUA	Zuo <i>et al.</i> , 2006
	8,0-9,0	Canadá	Viglino <i>et al.</i> , 2008
	n.d. - 0,34	Koréia	Shin <i>et al.</i> , 2011
	n.d.	Brasil	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	1.900 - 6.000	Brasil	Ghiselli, 2006
	106 - 6.800	Brasil	Montagner, 2007
	1,5 - 36,8	Brasil	Mierzwa <i>et al.</i> , 2009
	<1 - 37	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2009
	n.d.	Brasil	Froehner, 2011
	<45 - 6.806	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
	n.d.	Brasil	Souza, 2011
	<4 - 63		Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2011
n.d	Brasil	Brandt, 2012;	
Esgoto Sanitário após Tratamento	15	Alemanha	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	12	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	<10	Itália	Johnson <i>et al.</i> , 2000
	11,1 - 17,4	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	9	Canadá	Lee <i>et al.</i> , 2005
	182, 7	Reino Unido	Jiang <i>et al.</i> , 2005
	18,9 - 71,2	EUA	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Dorabawila e Gupta, 2005
	15,6	Canadá	Servos <i>et al.</i> , 2005
	9,2	Japão	Hashimoto <i>et al.</i> , 2007
	120 - 125	Canadá	Viglino <i>et al.</i> , 2008
	n.d. - 102	Luxemburgo	Pailler <i>et al.</i> , 2009
	n.d. - 64	Espanha	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Müller <i>et al.</i> , 2008
	17 - 25	França	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Müller <i>et al.</i> , 2008
	n.d. - 64	Espanha	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Müller <i>et al.</i> , 2008
17 - 25	França	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Müller <i>et al.</i> , 2008	
2,5 - 324	Hungria	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Andrasi <i>et al.</i> ,	

	n.d. – 198	EUA	2011 Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Suri <i>et al.</i> , 2012
	21	Brasil	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	6.690	Brasil	Ghiselli, 2006
	n.d.	Brasil	Montagner, 2007;
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2009
	1.330 -2.270	Brasil	Froehner, 2011
	n.d.	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
	<64 – 300	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
	<40 - 7.400	Brasil	Souza, 2011
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2011
	n.d.	Brasil	Brandt, 2012;
	2,7 – 48	Reino Unido	Desbrow <i>et al.</i> , 1998
	1 - 12,0	Holanda	Belfroid <i>et al.</i> , 1999
	1	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	1,6 - 7,4	Inglaterra	Xiao <i>et al.</i> , 2001
	0,15 - 5,2	Alemanha	Kuch e Ballschmitter, 2001
	5,6	Alemanha	Pawlowski <i>et al.</i> , 2004
	4,5 - 8,6	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	2	Canadá	Lee <i>et al.</i> , 2005
	6,5 - 53,1	EUA	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Dorabawila e Gupta, 2005
Efluente ETE	1,8	Canadá	Servos <i>et al.</i> , 2005
	<0,5	Japão	Hashimoto <i>et al.</i> , 2007
	n.d. – 90	Canadá	Viglino <i>et al.</i> , 2008
	n.d.	Brasil	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	5.560	Brasil	Ghiselli, 2006
	n.d.	Brasil	Montagner, 2007
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2009
	490-760	Brasil	Froehner, 2011
	n.d.	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
	<64	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
	<40 - 4.000	Brasil	Souza, 2011
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2011
	<9.3	Brasil	Brandt, 2012;
Águas subterrâneas	Máxima: 0,79 Média: 0,07	Áustria	Hohenblum <i>et al.</i> , 2004

O hormônio natural 17 β -estradiol foi observado a nível nacional variando de não detectado até a concentração máxima de 6.806 ng/L. No Brasil a presença do E2 foi menor se comparado às águas internacionais, sendo que em apenas 5 estudos este foi detectado, sendo que foram 11 os estudos levantados. Pode-se inferir que o E2 foi detectado em mananciais de Belo Horizonte e São Paulo com concentrações que variaram de 1,5 a 36,8 ng/L e 0,72 a 17,1 ng/L, respectivamente (Mierzwa et al., 2009). Para o período analisado de 2000 até 2011, destaca-se a baixa concentração desse hormônio variando de não detectado à 9 ng/L, em Ontário no Canadá, mas com alta frequência.

A partir dos resultados da Tabela 6, pode-se observar que há uma discrepância entre os valores obtidos no Brasil e em outros países com relação a outras matrizes ambientais. Tal fato pode ser provado através dos valores encontrados para o esgoto sanitário, sendo que foi na Hungria, a nível internacional, que o 17 β -estradiol foi encontrado em concentração máxima (324 ng/L), já a nível nacional, a concentração foi bem mais elevada, 7.400 ng/L. Com relação aos efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto, o valor para o E2 foi máximo nos Estados Unidos, de 53,1 ng/L, porém no Brasil a concentração atingiu o valor de 5.560 ng/L. Tais discrepâncias de valores podem ser explicados pela eficiência de remoção do 17 β -estradiol em ETEs do Brasil e do mundo. Logo, pode-se concluir que as ETEs do Brasil estão em um nível inferior em termos de tratamento para remoção de DEs em ETEs se comparado às ETEs de países desenvolvidos que possuem tecnologias mais avançadas para remoção de micropoluentes.

A baixa concentração desses hormônios no meio ambiente dificulta a identificação e quantificação dessas substâncias. Para isso faz-se necessário o uso de métodos que sejam capazes de quantificar compostos em baixa concentração, com isso buscou-se verificar os métodos utilizados para análise desses hormônios nas diversas matrizes estudadas, com o intuito de verificar se esses métodos poderiam ter interferido nos resultados e, conseqüentemente poderia ser explicada essa discrepância de valores encontrados a nível nacional e a nível internacional.

Para tanto, observou-se os equipamentos utilizados para os maiores valores de concentração e para os menores. Para a concentração de 8-9 ng/L, encontrada em águas

superficiais do Canadá, foi observado que Viglino et al. (2008) utilizaram o método CL-MS/MS, com extração EFS. No estudo de Shin et al. (2011), onde observa-se valores mínimos para a concentração de E2 em águas superficiais da Coreia (n.d. – 0,34 ng/L), foi utilizado o método CG-MS. No Brasil, um dos maiores valores encontrados de concentração em águas superficiais (1900 – 6000 ng/L) foi relatado no trabalho de Ghiselli (2006) e o método utilizado foi a extração EFS e GC/MS. Brandt (2012) não detectou hormônio em águas superficiais, utilizando o método HPLC-MS e extração EFS. Portanto, observa-se que diferentes técnicas foram utilizadas e, talvez isso seja um agravante para aumentar a discrepância de valores encontrados, outro fator que deve ser observado são os limites de detecção encontrados, pois caso estes estejam acima do valor dos hormônios nas águas superficiais estes não serão detectados. No trabalho de Montagner (2007) já se utilizou detectores menos sensíveis como é o caso do HPLC-FLU e HPLC/DAD e limites de detecção de 45ng/L para o E2 e 16 ng/L para o E1 e EE2, o que poderia dificultar detectar tais hormônios em águas superficiais. O limite de detecção reportado por Queiroz (2011) que foi o utilizado no trabalho de Brandt (2012) para o estradiol foi de 9,3 ng/L, o que já seria suficiente para detectar o E2 em esgotos brutos de acordo com a faixa de valores encontrados internacionalmente.

O hormônio E2, conforme os resultados da Tabela 6, foi encontrado em águas superficiais, águas subterrâneas, efluente de ETE e efluentes de esgotos após tratamento, o que inferere que esse hormônio é comumente encontrado com frequência elevada. De acordo com Ferreira (2008) o E2 pode sofrer oxidação e gerar o hormônio E1, o que é favorecido em ambientes anaeróbicos. Sendo assim, os valores de E1 estão diretamente relacionados aos valores de E2, existindo uma clara relação entre tais valores em efluentes.

Na Tabela 7 estão apresentando os resultados referentes as concentrações do hormônio natural estriol em águas superficiais e Esgoto Sanitário após tratamento.

Tabela 7- Concentrações do hormônio natural Estriol em diversas matrizes ambientais.

Estriol (E3)			
Matriz Ambiental	Concentração (ng/L)	País	Referência
Água Superficial	0,33	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	1,2 - 3,1	Inglaterra	Xiao <i>et al.</i> , 2001
	2,0 - 5,0	Itália	Dallegrove, 2011 <i>apud</i> Laganà <i>et al.</i> , 2004
	1-2,5	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	1 -7,27	Brasil	Kuster <i>et al.</i> , 2007
Esgoto Sanitário após tratamento	0,44 – 18	Itália	Dallegrove, 2011 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	80	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	11,4 -15,2	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	60	Espanha	Dallegrove, 2011 <i>apud</i> Quintana <i>et al.</i> , 2004
	23 - 48	Itália	Dallegrove, 2011 <i>apud</i> Laganà <i>et al.</i> , 2004
	1- 50,0	Reino Unido	Dallegrove, 2011 <i>apud</i> Koh <i>et al.</i> , 2007
	230 - 243	Canadá	Viglino <i>et al.</i> , 2008

De acordo com o levantamento feito na Tabel 7, a nível internacional o hormônio estriol foi encontrado em concentrações mais baixas entre os anos de 2000 até 2004. Por exemplo, os valores máximos e mínimos encontrados foram, em águas superficiais de 0,33 ng/L e 5 ng/L, ambos na Itália. No Brasil foram poucos os estudos encontrados a cerca do estriol. Foi dectado somente em águas superficiais variando de 1 até 7 ng/L. Logo os valores a nível naciona e nível internacional são foram muito discrepantes. Para o esgoto sanitário, a nível nacional não foram encontros estudos para o Estriol no esgoto sanitário, mas a nível intencional foi observado valores de 243 ng/L no Canadá e, em menor concentração, na Itália (0,44 ng/L).

Uma explicação para o Estriol não estar presente na maioria dos estudos feitos para os hormônios estrogênicos, é devido ao fato do Estriol possuir uma baixa estrogenicidade se comparado ao E1, E2 e EE2 Brandt, 2012).

As concemtrações do hormônio sintético EE2 foram compiladas na Tabela 8, na qual foram feitos levantamentos na literatura sobre a presença do 17 α -etinilestradiol

Tabela 8 - Concentrações do hormônio sintético 17 α -etinilestradiol em diferentes matrizes ambientais.

17 α -etinilestradiol (EE2)			
Matriz Ambiental	Concentração (ng/L)	País	Referência
Água Superficial	0,04	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Baronti <i>et al.</i> , 2000
	n.d.	Inglaterra	Xiao <i>et al.</i> , 2001
	0,10 - 5,1	Alemanha	Kuch e Ballschmitter, 2001
	1	EUA	Kolpin <i>et al.</i> , 2002
	n.d.	Japão	Isobe <i>et al.</i> , 2003
	<1	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Laganà <i>et al.</i> , 2004
	1,1 - 2,9	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	máxima: 0,33	Áustria	Hohenblum <i>et al.</i> , 2004
	4,7	EUA	Zuo <i>et al.</i> , 2006
	1.200 - 3.500	Brasil	Ghiselli, 2006
	3,0 - 54	Brasil	Mierzwa <i>et al.</i> , 2009
	<1 - 54	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2009
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
	n.d.	Brasil	Souza, 2011
	<17 - 4.390	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
<5 - 64	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2011	
1.200 - 3.500	Brasil	Ghiselli, 2006	
n.d.	Brasil	Brandt, 2012	
Esgoto Sanitário após Tratamento	1,4	Alemanha	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	<10	Itália	Johnson <i>et al.</i> , 2000
	n.d.	Inglaterra	Xiao <i>et al.</i> , 2001
	<1,6	Itália	Ferreira, 2008 <i>apud</i> Laganà <i>et al.</i> , 2004
	4,9 - 7,1	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	5,0-10	Espanha	Dallegrave, 2011 <i>apud</i> Pedrouzo <i>et al.</i> , 2011
	5.810	Brasil	Ghiselli, 2006
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2009
	600 - 1.260	Brasil	Froehner, 2011
	n.d.	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
	<100 - 1.380	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
	<20 - 5.230	Brasil	Souza, 2011
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2011
n.d.	Brasil	Brandt, 2012	
Efluente ETE	máxima: 7	Reino Unido	Desbrow <i>et al.</i> , 1998
	9	Canadá	Ternes <i>et al.</i> , 1999
	0,4	Itália	Johnson <i>et al.</i> , 2000
	2,7 - 4,5	França	Cargouët <i>et al.</i> , 2004
	1,5	Alemanha	Pawlowski <i>et al.</i> , 2004
	5.040	Brasil	Ghiselli, 2006
	n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2009
	<LD – 470	Brasil	Froehner, 2011
	n.d.	Brasil	Montagner e Jardim, 2011
	<100 - 1.000	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Pessoa <i>et al.</i> , 2011
	<20 - 1.200	Brasil	Souza, 2011
n.d.	Brasil	Aquino <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> Moreira <i>et al.</i> , 2011;	
<12,4	Brasil	Brandt, 2012	

Os valores obtidos a nível nacional e internacional para o hormônio sintético 17 α -etinilestradiol foram bem discordantes para águas superficiais, Esgoto Sanitário após Tratamento e Esgoto Sanitário após Tratamento. A nível nacional, a concentração desse hormônio variou de não detectado até 4.390 ng/L, para outros países a concentração variou de não detectado (Japão) até 5,1 ng/L na Alemanha. Para o esgoto sanitário, as concentrações foram de não detectado no Brasil e na Inglaterra, sendo que no Brasil foi observada a máxima concentração que foi de 5.230 ng/L. Com relação aos efluentes de ETEs após tratamento, a nível internacional a concentração encontrada mais baixa foi na Itália e maior no Reino Unido, respectivamente, 0,4 ng/L e 7 ng/L. No Brasil, em 2012, foi encontrada uma elevada concentração do EE2. Tais discrepâncias de valores para o Brasil e outros países devem-se a fatores culturais, elevado uso de anticoncepcionais e aos métodos de análise dessas substâncias no meio ambiente.

Para ETEs há uma discrepância de valores a nível nacional e internacional para isso foi feito um levantamento dos métodos utilizados para identificação e quantificação desses hormônios nos trabalhos que foram levantados. No Canadá, a concentração foi de 9 ng/L, já no Brasil 5040 ng/L. Para Ternes et al. (1999) as análises foram feitas usando CG/MS/MS, já no trabalho de Ghiselli (2006), foi feita através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/MS), logo, tais discrepâncias podem ser explicadas pelas diferentes técnicas usadas. Os dois autores usaram a extração em fase sólida (EFS) para extrair o composto de interesse das amostras aquosas.

De acordo com o estudo dos hormônios presentes nas diferentes matrizes ambientais, pode-se observar que o hormônio mais comumente encontrado foi o EE2, pois está presente na maioria das formulações de pílulas anticoncepcionais, além de tratamento de reposição hormonal (Dellagrave, 2012).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a realização do presente estudo, cujo objetivo consistiu na análise dos aspectos da presença de DEs, foi possível concluir que:

1. Os micropoluentes são substâncias presentes em água e efluentes de estações de tratamento de esgoto, presentes em concentração muito baixas, na escala de $\mu\text{g/L}$. Dentro dessa classe de compostos, destacam-se os hormônios estrogênicos estriol, 17 β -estradiol, estrona e 17 α -etinilestradiol. A partir de levantamentos feito na literatura, foi observado que esses compostos são capazes de alterar o sistema endócrino tanto de seres humanos quanto de animais, como consequência a produção de hormônios necessários ao equilíbrio do corpo humano e da biota.
2. As ETEs como vêm sendo construídas nos últimos anos, não são apropriadas para a remoção de desreguladores endócrinos, mas sim de matéria orgânica e de patógenos. Isso acontece porque a problemática da presença de desreguladores endócrinos é relativamente recente e, conseqüentemente, ainda não se tem métodos que sejam comprovadamente eficientes na remoção desses compostos durante o processo de tratamento de esgoto. Sendo assim torna-se maior a possibilidade de criação e aplicação de métodos de remoção desses compostos ao longo do processo. Porém, atualmente tem crescido a pesquisa, e conseqüente conhecimento, a respeito do destino e comportamento dos desreguladores endócrinos em ETEs. Dessa forma torna-se mais fácil a elaboração de uma legislação que estabeleça padrão de qualidade de água que tenha por base a presença de desreguladores endócrinos.
3. Os fatores culturais e ambientais atuam em conjunto, influenciando de maneira direta ou indireta, a qualidade e quantidade dos efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto. A falta de clareza a respeito dos efeitos causados pelos DEs e seus mecanismos de ação, aliados à dificuldade de detecção e quantificação desses compostos em efluentes de ETEs e outras matrizes tão complexas quanto, resulta em

uma limitação para o estabelecimento de limites de concentração de desreguladores endócrinos que não sejam prejudiciais aos seres humanos e ao meio ambiente. Por isso, existem lacunas na legislação brasileira vigente quanto ao estabelecimento de padrões de qualidade e segurança quanto à presença desses micropoluentes em água. Com isso faz se necessário a normatização desses valores, além de incentivo a políticas de saneamento ambiental e o desenvolvimento de mecanismos capazes de avaliar com precisão e sensibilidade os possíveis impactos, a curto e longo prazo, relacionados à contaminação e exposição aos desreguladores endócrinos.

4. Os hormônios objeto de estudo desse trabalho, E1, E2, E3, EE2 foram dectados nas diversas matrizes ambientais, tanto a nível nacional quanto a nível internacional. A nível nacional, a concentração desses hormônios foi maior se comparados aos níveis internacionais. Tal discrepância pode ser explicada devido as diferentes técnicas de quantificação e identificação que foram utilizadas nos diversos estudos presente nesse trabalho.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, A., BORRELL, A. **Abnormally High Polychlorinated Biphenyl Levels in Stripe Dolphins (*Steneua Coeruleoalba*) Affected by the 1990-1992. Mediterranean Epizootic.** The Science Total Environmental, v. 154, pp. 237247. 1994.

AKINGBEMI, B. T.; GE, R.; KLINEFELTER, G. R.; ZIRKIN, B. R.; HARDY, M. P. Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. **PNAS – Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.101, n.3, p.775-780, 2004.

AKINGBEMI, B. Estrogen regulation of testicular function. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.3, n.51, p.113, 2005.

ANVISA, A. N. DE V. S. Resolução RE no 899, de 15 de janeiro de 2017.

ANDERSEN H., SIEGRIST H.R., HALLING-SORENSEN B., TERNES T.A. **Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant.** Environ. Sci. Technol. 2003;37:4021–4026. doi: 10.1021/es026192a

AQUINO, S. F. DE, BRANDIT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. DE L. Removal of pharmaceuticals and endocrine disrupters in sewage treatment plants: literature review
Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Eng Sanit Ambient**, v. 18, n. 3, p. 187–204, 2013.

ATKINSON, S.K., MARLATT, V.L., KIMPE, L.E., et al., 2012, “The occurrence of steroidal estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants”, Science of the Total Environment, v. 430, pp. 119 – 125.

AURIOL, M., FILALI-MEKNASSI, Y., TYAGI, R.D., et al., 2006, “**Endocrine disrupting compounds removal from wastewater, a new challenge**”, Process Biochemistry, v. 41, pp. 525 – 539.

AYGUN, A., NAS, B., BERKTAY, A., 2008, “Influence of high organic loading rates on COD removal and sludge production in moving bed biofilm reactor”, Environmental Engineering Science, v. 25, n. 9, pp. 1311-1316.

BANIHASHEMI, B., DROSTE, R.L., 2014, “Sorption-desorption and biosorption of bisphenol A, triclosan and 17 α -ethinyloestradiol to sewage sludge”, *Science of Total Environment*, v. 487, pp. 813 – 821.

BILA, D. M. **Degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino 17 β estradiol pelo processo de ozonização**. 300 f. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523–530, 2003.

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

BIRKETT, J.W., LESTER, J.N., 2003, “Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes”, 1a edição, IWA Publishing, Lewis Publishers CRC Press LLC: USA.

BISTAN, M., TISLER, T., PINTAR, A., 2012, “**Ru/TiO₂ catalyst for efficient removal of estrogens from aqueous samples by means of wet-air oxidation**”, *Catalysis Communications*, v. 22, pp. 74 – 78.

BITMAN, J., CECIL, H. C., HARRIS, S. J. **Estrogenic Activity of o, p'- DDT in the Mammalian Uterus and Avian Oviduct**. *Science*, v. 162, pp. 371-372. 1968.

BYRNS, G., **The fate of xenobiotic organic compounds in wastewater treatment plants**, *Water Res.*, 35, 2523, 2001.

BRITO, N. N., SILVA, V. B. M. Processo oxidativo avançado e sua aplicação ambiental. **Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, v. 3, p. 36–47, 2012.

CASALS-CASAS, C., DESVERGNE, B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. **Annual review of physiology**, v. 73, p. 135–162, 2011.

CAIS, APARECIDA. **Determinação de hormônios estrogênicos em águas superficiais do lago de Furnas no município de Alfenas-MG**. julho de 2016. p.30-34. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, julho de 2016

COLBORN, T. e CLEMENT, C. eds. **Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife human connection.** Princeton Scientific Publishing, p. 289 – 283, 1992. Apud COLBORN et al. O futuro roubado, 1997.

COM - COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. **Estratégia comunitária em matéria de desreguladores endócrinos – substâncias suspeitas de interferir com os sistemas ormonais dos seres humanos e dos animais,** 1999.

CORREIA, C. C., FONTOURA, M. A influência da exposição ambiental a disruptores endócrinos no crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo,** p. 1–7, 2015.

COT. COMMITTEE ON TOXICITY. Regulatory definition of endocrine disruptors. 2012. Disponível em: <<http://cot.food.gov.uk/sites/default/files/cot/tox201015.pdf>>. Acesso em: 20 jan 2017.

CSTEE. **Human and Wildlife Health Effects of Endocrine Disrupting Chemicals, with Emphasis on Wildlife and on Ecotoxicology Test Methods.** Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, (CSTEE), 96 pp, 1999.

DAMSTRA, T. Potential effects of certain persistent organic pollutants and endocrine disrupting chemicals on the health of children. **Clinical toxicology,** v. 40, n. 4, p. 457–465, 2002.

DEKANT, W., COLNOT, T. Endocrine effects of chemicals: aspects of hazard identification and human health risk assessment. **Toxicology Letters,** v. 223, n. 3, p. 280–286, 2013.

DESBROW, C., ROUTLEDGE, E. J., BRIGHTY, G. C. **Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening.** Environmental Science Technology v. 32 (11), pp. 1549-1558. 1998.

DHAINI, H. R., NASSIF, R. M. Exposure assessment of endocrine disruptors in bottled drinking water of Lebanon. **Environmental Monitoring and Assessment,** v. 186, n. 9, p. 5655–5662, 2014.

DIAS, A. C. V. et al. Analysis of estrogenic activity in environmental waters in Rio de Janeiro state (Brazil) using the yeast estrogen screen. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 120, p. 41– 47, 2015.

DOLAR, D. et al. Removal of emerging contaminants from municipal wastewater with an integrated membrane system, MBR-RO. *Journal of Hazardous Materials*, v. 239-240, p. 6469, 2012.

DUSSAULT, È. B. et al. Bioaccumulation of the synthetic hormone 17 α -ethinylestradiol in the benthic invertebrates *Chironomus tentans* and *Hyalella azteca*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 6, p. 1635–1641, 2009.

EC., **European Workshop on Endocrine Disrupters**. European ED workshop, 1820/6/01, Aronsborg (Balsa) Sweden, 18-20 June, 58pp, 2001.

ECETOC. **Guidance on Identifying Endocrine Disrupting Effects** *Ecotoxicology*. Disponível em: <<http://www.ecetoc.org/technical-reports>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

FERREIRA, A. P. Desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgotos: Complicações ao meio ambiente. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 35, n. 2, p. 307–316, 2013.

FERREIRA, F. D., CORAIOLA, M. Eficiência do loda ativado em fluxo contínuo para tratamento de esgoto. **Revista Acadêmica: Ciência Agrária Ambiental**, v. 6, n. 2, p. 259–279, 2008.

FONTANALS, N., MARCÉ, R. M.; BORRULL, F. New hydrophilic materials for solid-phase extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 394–406, 2005.

FONTENELE, E. G. P, MARTINS M. R. A.; QUIDUTE, A. R. P.; JÚNIOR, R. M. M. **Contaminantes ambientais e os interferentes endócrinos**. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 54/1, 2010.

FURNESS, D.T., HOGGETT, L.A., and JUDD, S.J. **Thermochemical treatment of sewage sludge**, *J. Chart. Inst. Water. Environ. Manage.*, 14, 57, 2000.

GATERELL, M.R., GAY, R., WILSON, R., GOCHIN, R.J. and LESTER, J.N.L. **An economic and environmental evaluation of the opportunities for substituting phosphorus**

recovered from wastewater treatment works in existing UK fertiliser markets, *Environ.Technol.*, 21, 1067–1084, 2000.

GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das água destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação de interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. Tese de doutorado. UNICAMP. Instituto de Química. 27 setembro 2006.

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

GORGA, M.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Multi-residue analytical method for the determination of endocrine disruptors and related compounds in river and waste water using dual column liquid chromatography switching system coupled to mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1295, p. 57–66, 2013.

GUEDES- ALONSO, R. et al. Liquid chromatography methodologies for the determination of steroid hormones in aquatic environmental systems. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, v. 3–4, p. 14–27, 2014.

GUILLETE, L. J. J., PICKFORD, D. B., CRAIN, D. A., et al. **Reduction in Penis Size and Plasma Testosterone Concentrations in Juvenile Alligators Living in a Contaminated Environment**. *General and Comparative Endocrinology*, v. 101, pp. 32-42, 1996.

GUIMARÃES, J. P. R. F. (2005). **Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional**. Associação de Consciência à Prevenção Ocupacional (ACPO). Disponível em: http://www.acpo.org.br/disruptores_endocri nos.pdf. Acesso em: 20 abr. 2014.

GÜLTEKIN, I., INCE, N. H. Synthetic endocrine disruptors in the environment and water remediation by advanced oxidation processes. **Journal of Environmental Management**, v. 85, n. 4, p. 816–832, 2007.

HAKK, H., MILLNER, P., and LARSEN, G., **Fate of the Endogenous Hormones 17 β -Estradiol and Testosterone in Composted Poultry Manure**, in 2nd International Conference on Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Chemicals in Water, National Groundwater Association, Minneapolis, MN, 2001, p. 128.

HALL, J.E., **Sewage-sludge production, treatment and disposal in the European Union**, J. Chart. Inst. Water. Environ. Manage., 9, 335, 1995.

HAMID, H.; ESKICIOGLU, C. Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix. **Water Research**, v. 46, n. 18, p. 5813–5833, 2012.

HAMPL, R., KUBÁTOVÁ, J.; STÁRKA, L. Steroids and endocrine disruptors-History, recent state of art and open questions. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, 2014.

HARTMANN, S., LACORN, M., STEINHART, H. **Natural Occurrence of Steroid Hormones in Food**. **Food Chemistry**, v. 62 (1), pp. 7-20, 1998.

HEISTERKAMP, I.; GANDRASS, J., RUCK, W. Bioassay-directed chemical analysis utilizing LC – MS : a tool for identifying estrogenic compounds in water samples? **Anal Bioanal Chem**, p. 709–715, 2004.

HOTCHKISS, A. K. et al. Fifteen years after “wingspread” - Environmental endocrine disrupters and human and wildlife health: Where we are today and where we need to go. **Toxicological Sciences**, v. 105, n. 2, p. 235–259, 2008.

HU, J. Y.; JIN, X., ONG, S. L. Rejection of estrone by nanofiltration : Influence of solution chemistry. **Journal of Membrane Science**, v. 302, p. 188–196, 2007.

HUERTA-FONTELA, M.; GALCERAN, M. T.; VENTURA, F. Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1432–1442, 2011.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa nacional de saneamento básico**. Rio de Janeiro, 2008. 219 p

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo demográfico de 2010. Disponível em: <<http://censo2010.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 jun. 2015.

IPCS. **Global Assessment of the State- of- the –Science of Endocrine Disrupors.** International Programme on Chemical Safety Report WHO/PCS/EDC/02.2, World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland. Editors: T Damstra, S Barlow, A Bergmna, R Kavlock and G Van Der Kraak, 2002.

IWA, International Water Association. **Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater.** VIRKUTYTE, J.; VARMA, R.S.; JEGATHEESAN, V. (Eds.). London. 483p., 2010.

JOHNSON, A.C., BELFROID, A., and DI CORCIA, A., **Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent,** *Sci. Total Environ.*, 256, 163, 2000.

JOHNSON, A. C., SUMPTER, J. P. **Removal of Endocrine-Disrupting Chemicals in Activated Sludge Treatment Works.** *Environmental Science Technology*, v. 35, pp. 4697-4703, 2001.

JONES, O.A.H., VOULVOULIS, N., and LESTER, J.N., **Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a review,** *Environ. Technol.*, 22, 1383, 2001.

KASPRZYK-HORDERN, B., DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. **Water Research**, v. 43, n. 2, p. 363–380, 2009.

KJELDEN, L. S.; BONEFELD-JØRGENSEN, E. C. Perfluorinated compounds affect the function of sex hormone receptors. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 11, p. 8031–8044, 2013.

KUSTER, M. et al. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). **Environment International**, v. 35, n. 7, p. 997–1003, 2009.

KUSTER, M. et al. Fate of selected pesticides, estrogens, progestogens and volatile organic compounds during artificial aquifer recharge using surface waters. **Chemosphere**, v. 79, n. 8, p. 880–886, 2010.

LEHNINGER, A. L, NELSON, D. L; COX, M. M. Principles of biochemistry. 4. ed. New York: W. H. Freeman, 2004.

LEWIS, R. W. Risk assessment of “endocrine substances”: Guidance on identifying endocrine disruptors. **Toxicology Letters**, v. 223, n. 3, p. 287–290, 2013.

LAI, K. M. et al. Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems. *Environment Science Technology*, v. 34, p. 3890– 3894, 2000.

LI, J. et al. Science of the Total Environment Spatial and seasonal variations of occurrences and concentrations of endocrine disrupting chemicals in unconfined and confined aquifers recharged by reclaimed water: A field study along the Chaobai River, Beijing. **Science of the Total Environment**, The, v. 450-451, p. 162–168, 2013.

LINTELMANN, J. et al. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 75, n. 5, p. 631–681, 2003.

LIZ, M. V. DE; NAGATA, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Considerações sobre o preparo de amostras contendo micropoluentes estrogênicos. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1213–1215, 2012.

MANICKUM, T.; JOHN, W. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). **Science of the Total Environment**, v. 468-469, p. 584–597, 2014.

MANTOVANI, A.; FUCIC, A. Puberty dysregulation and increased risk of disease in adult life: Possible modes of action. **Reproductive Toxicology**, v. 44, p. 15–22, 2014.

MARKEY, C. M.; RUBIN, B. S.; SOTO, A. M.; SONNENSCHNIG, C. **Endocrine disruptors: from Wingspread to environmental development biology**. *The journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 83: 235-244, 2003.

MEYER, A., SARCINELLI, P. N.; MOREIRA, J. C. Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação de disruptores endócrinos? **Caderno de Saúde Pública**, v.15, n.4, p. 845-850, 1999.

MELO, S. M.; BRITO, N. M. Analysis and occurrence of endocrine disruptors in Brazilian water by HPLC-fluorescence detection. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 225, n. 1, 2014.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n.o 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2005. P. 58

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452–1462, 2011.

MOURA, J. A. **Estudo da eficiência de estações de tratamento de esgoto - RTE e estações de tratamento de água - ETA na eliminação de resíduos de estrógenos naturais e sintéticos na UGRHI-13 (Tietê-Jacaré)**.186 f. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, 2009.

MULLER, J.A., **Prospects and problems of sludge pre-treatment processes**, **Water Sci. Technol.**, 44, 121, 2001.

NIE, Y. et al. Fate and seasonal variation of endocrine-disrupting chemicals in a sewage treatment plant with A / A / O process. **Separation and Purification Technology**, v. 84, p. 9–15, 2012.

OLIVEIRA, T. M. B. F. et al. Simultaneous electrochemical sensing of emerging organic contaminants in full-scale sewage treatment plants. **Chemical Engineering Journal**, v. 267, p. 347–354, 2015.

SILVA, C. P., OTERO, M.; ESTEVES, V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review. **Environmental Pollution**, v.165, p. 38-58, 2012.

PRATER, J. R.; HORTON, R.; THOMPSON, M. L. Reduction of estrone to 17 β -estradiol in the presence of swine manure colloids. **Chemosphere**, v.119, p. 642-645, 2015

PAL, A. et al. Science of the total environment impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources : Review of recent occurrences, sources, fate and effects. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 24, p. 6062–6069, 2010.

PEREIRA, R. O. **Formação de subprodutos do estrona e 17 β -estradiol na oxidação utilizando cloro e ozônio em água.** Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos, 2011.

PERES, M. R. **Remoção dos interferentes endócrinos 17 α -etnilestradiol, 17 β estradiol e 4-nonilfenol por adsorção em carvão ativado em pó em água de abastecimento público.** Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia, 2011.

PESSOA, G. D. P., SANTOS, A. B., SOUZA, N. C., ALVES, J. A. N., Desenvolvimento de metodologia para avaliar remoção de estrogênios em estações de tratamento de esgotos. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 968–973, 2012

PETROVIC, M., ELJARRAT, E., LOPEZ DE ALDA, M. J., BARCELÓ, D. Analysis and environmental levels of endocrinedisrupting compounds in freshwater sediments. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n.1, p. 637-648, 2001.

PINTO, P., ESTÊVÃO, M.; POWER, D. Effects of estrogens and estrogenic disrupting compounds on fish mineralized tissues. **Marine Drugs**, v. 12, n. 8, p. 4474–4494, 2014.

POLLOCK, M. S., DUBE, M. G.; SCHRYER, R. Investigating the link between pulp mill effluent and endocrine disruption: attempts to explain the presence of intersex fish in the Wabigoon River, Ontario, Canada. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 4, p. 952–965, 2010.

POOLE, C. F. New trends in solid-phase extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 6, p. 362–373, 2003.

PROCESSOS DE TRATAMENTO DE EFLUENTE. Disponível em: <<http://jorcyaguilar.blogspot.com.br/2011/01/processos-de-tratamento-de-efluentes.html>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

PURDOM, C. E. et al. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. **Chemistry and Ecology**, v. 8, n. 4, p. 275–285, 1994.

QIANG, Z. et al. Chemosphere A comparison of various rural wastewater treatment processes for the removal of endocrine-disrupting chemicals (EDCs). **Chemosphere**, v. 92, n. 8, p. 986–992, 2013.

REIS FILHO, R. W. et al. Fármacos, ETEs, e corpos hídricos. **Revista Ambiente e Água**, v. 2, n. 3, p. 54–61, 2007.

REIS FILHO, R. W., ARAÚJO, J. C. DE; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrógenos: cmptanantes bioativos. **Quimica Nova**, v. 29, n. 4, p. 817–822, 2006.

REIS FILHO, W. R., LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 3, p. 283– 288, 2007.

RIBEIRO, A. R., CARVALHO, M. F., AFONSO, C. M. M, TIRITAN, M. E., CASTRO, P. M. L. Microbial degradation of 17-estradiol and 17-ethynylestradiol followed by a validated HPLC-DAD method. *Journal of Environmental Science and Health – Part B – Pesticides, food contaminants and agricultural wastes*, v. 5, n. 4, p. 265-273, 2010.

SANT’ANNA, G. L. Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações. Rio de Janeiro: Interciência, 2010, 398 p.

SCHÄFER, A. I.; AKANYETI, I.; SEMIÃO, A. J. C. Micropollutant sorption to membrane polymers: a review of mechanisms for estrogens. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 164, n. 1-2, p. 100–117, 2011.

SCHMID, T., GONZALEZ-VALERO, J., RUFLI, H., et al. **Determination of Vitellogenin Kinetics in Male Fathead Minnows (Pimephales promelas)**. *Toxicology. Letters*, v. 131, pp. 65-74, 2002.

SODRÉ, F. F. et al. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de campinas (SP, Brasil). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 2, p. 187–196, 2007.

SUMPTER, J. P., JOBLING, S. **Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment**. *Environmental Health Perspect*, v. 103 (Suppl 7), pp.173-178

SWEDENBORG, E. et al. Endocrine disruptive chemicals: Mechanisms of action and involvement in metabolic disorders. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 43, n. 1, p. 1–10, 2009.

TAMBOSI, J. L. **Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento**. 141 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

TEIXEIRA, C. P. DE A. B.; JARDIM, W. DE F. Processos Oxidativos Avançados - Conceitos teóricos. **Caderno Temático - Universidade Estadual de Campinas**, v. 03, 2004.

TERNES, T.A., KRECKEL, P., and MUELLER, J., **Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants**. II. Aerobic batch experiments with activated sludge, *Sci. Total Environ.*, 225, 91, 1999.

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis**. Washington D. C., 1997.

VERBINNEN, R. T.; NUNES, G. S., VIEIRA, E. M. Determinação de hormônios estrógenos em água potável usando CLAE-DAD. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1837–1842, 2010.

VULLIET, E., CREN-OLIVÉ, C. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2929–2934, 2011.

ZHOU, H. et al. Fate and removal of selected endocrine-disrupting compounds in sewage using activated sludge treatment. **Water and Environment Journal**, v. 26, p. 435–444, 2012.

WAISSMAN, W. (2002). **Health surveillance and endocrine disruptors**. *Cad. Saúde Pública*, 18(2):511-517. Rio de Janeiro

YING, G. G., KOOKANA, R. S.; RU, Y. J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environment International*, v. 28, n. 6, p. 545-551, 2002.

YU, Y.; WU, L., CHANG, A. C. Science of the total environment seasonal variation of endocrine disrupting compounds , pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 442, p. 310–316, 2013.