

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

JULIANA PINHEIRO GOMES

**ANÁLISE DA OCORRÊNCIA DO HORMÔNIO ESTROGÊNICO, 17 $\alpha$ -  
ETINILESTRADIOL, NO LAGO PARANOÁ**

V. 1

BRASÍLIA

2018

JULIANA PINHEIRO GOMES

**ANÁLISE DA OCORRÊNCIA DO HORMÔNIO ESTROGÊNICO, 17 $\alpha$ -  
ETINILESTRADIOL, NO LAGO PARANOÁ**

V. 1

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública. Área de concentração: Desenvolvimento e Políticas Públicas.

Orientador: Jaime Lopes da Mota Oliveira

Coorientador: Maurício Homem de Mello

BRASÍLIA

2018

Catálogo na fonte  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde  
Biblioteca de Saúde Pública

G633a Gomes, Juliana Pinheiro.  
Análise da ocorrência do hormônio estrogênico, 17 $\alpha$ -etinilestradiol,  
no Lago Paranoá / Juliana Pinheiro Gomes. -- 2018.  
92 f. : il. color. ; mapas. ; tab.

Orientador: Jaime Lopes da Mota Oliveira.  
Coorientador: Maurício Homem de Mello.  
Dissertação (mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola  
Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Brasília, 2018.

1. Poluentes Ambientais. 2. Etinilestradiol. 3. Ensaio de  
Imunoadsorção Enzimática. 4. Esgotos. 5. Poluição de Lagos e  
Barragens. I. Título.

CDD – 23.ed. – 363.7

JULIANA PINHEIRO GOMES

**ANÁLISE DA OCORRÊNCIA DO HORMÔNIO ESTROGÊNICO, 17 $\alpha$ -  
ETINILESTRADIOL, NO LAGO PARANOÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública. Área de concentração: Desenvolvimento e Políticas Públicas.  
Aprovada em: 19/12/2018

Banca Examinadora

Dra. Cristina Célia Silveira Brandão  
Universidade de Brasília

Dra. Camille Ferreira Mannarino  
Fundação Oswaldo Cruz

Dr. Jaime Lopes da Mota Oliveira  
Fundação Oswaldo Cruz

Dr. Maurício Homem de Mello  
Universidade de Brasília

BRASÍLIA

2018

## AGRADECIMENTOS

À ADASA, pela oportunidade de realizar o mestrado profissional.

Ao Hudson, pelo incentivo à inscrição no programa de mestrado.

Ao Rafael, pela compreensão das minhas ausências durante a execução das atividades de campo e de bancada.

À Júlia, técnica do laboratório de Produtos Naturais e de Controle de Qualidade da Universidade de Brasília, pela atenção e solicitude.

Ao Batalhão Lacustre, pelo apoio na execução das coletas embarcadas.

À Caesb, pela autorização para realização desse trabalho e pelo auxílio dos seus funcionários na realização das coletas nas estações.

À minha equipe, por ter me ajudado a etiquetar e carregar frascos, a calibrar a sonda de qualidade, pelo auxílio no agendamento e execução das coletas, e por todo o apoio emocional.

Ao Paulino, pela assistência na execução das coletas, no Lago Paranoá.

À Rossana e Carol, pelo intercâmbio de informações que foram essenciais para a discussão dos resultados.

À Paula, pela confecção dos mapas.

Ao Tales, pelo apoio nas atividades laboratoriais.

Ao Paulo, pela realização das análises microbiológicas.

Aos meus orientadores Jaime e Mauricio, pela confiança, atenção, carinho, por todo o aprendizado e pelo investimento de recursos que possibilitaram a realização dessa pesquisa.

À professora Cristina Brandão, pelo seu interesse, atenção e inúmeras sugestões.

À Cássia, pela companhia nessa jornada de mestrado e por me ensinar sobre a importância de compreender as racionalidades.

À Helena, por me lembrar diariamente da importância de sair da média.

À Érica, por toda a torcida para conclusão desse trabalho em 2018, para que 2019 seja um novo ciclo.

Ao Samuel, por todo o apoio e proatividade quando tive a necessidade de me ausentar do trabalho e por todas as sugestões e ideias trocadas ao longo do programa de mestrado.

À minha mãe, irmãs e sobrinhas pela torcida e apoio incondicional, mesmo sem compreenderem ao certo do que se tratava a minha pesquisa.

A Deus, pela saúde, sabedoria, força, foco e coragem para realizar algo definido como pretensioso e impossível por alguns.

*Se as coisas são inatingíveis... ora!  
Não é motivo para não querê-las...  
Que tristes os caminhos, se não fora  
A presença distante das estrelas!*

*Mário Quintana*

## RESUMO

Diversos estudos vêm apontando sobre a ocorrência de contaminantes emergentes nas matrizes aquáticas. Esses poluentes ainda não foram regulamentados, mas têm potencial de afetar a saúde humana e ambiental. Neste grupo de contaminantes, destaca-se o 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), hormônio sintético presente em pílulas anticoncepcionais, com alto potencial estrogênico e de bioacumulação. Dentre seus efeitos como desregulador endócrino, o mais notório é a feminização de peixes. A ocorrência de poluentes emergentes no Lago Paranoá (Distrito Federal – Brasil) é presumida devido ao lançamento de efluentes provenientes de estações de tratamento nesse corpo hídrico e pelo fato dessas estações não terem sido projetadas para a remoção desses tipos de contaminantes. Nesse contexto, considerando que o Lago Paranoá é um manancial, os objetivos desse trabalho foram: quantificar as concentrações de EE2 nesse reservatório, avaliar o desempenho das estações de tratamento de esgoto e de água quanto à remoção de EE2, e caracterizar o risco de exposição involuntária ambiental. Utilizou-se o método ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática) para a realização das análises. Concentrações de EE2 foram quantificadas em todas as amostras de esgoto bruto (1,31 – 2,08 ng. L<sup>-1</sup>) e de efluente tratado (0,23 – 1,50 ng. L<sup>-1</sup>), e em uma das amostras de água superficial do Lago Paranoá (0,07 ng. L<sup>-1</sup>). Nas amostras de água tratada a concentração ficou abaixo do limite mínimo de quantificação do método. O desempenho máximo de remoção de EE2 pelas ETEs foi de 88%, alcançado pela ETE Riacho Fundo, que opera em sistema RBS que remove fósforo. Por outro lado, as demais ETEs que operam com sistema Bardenpho, seguido de coagulação/floculação/flotação, a remoção foi em torno de 30%. A concentração de 0,07 ng. L<sup>-1</sup> quantificada no Lago Paranoá, ficou abaixo das concentrações médias de efeito observado descritas na literatura para animais aquáticos representantes do segundo e do terceiro nível trófico, mas superior às concentrações previstas sem efeito propostas pela Comissão Europeia (0,035 ng. L<sup>-1</sup>). Desse modo, essa pesquisa contribui para ampliar o banco de dados relacionado com a presença de contaminantes emergentes no Lago Paranoá, no esgoto bruto e efluente tratado de estações de tratamento. Além de contribuir para o monitoramento das tendências futuras de aporte de contaminantes emergentes ao Lago, com o intuito de neutralizar, de forma antecipada, os seus impactos negativos para a qualidade da água e para o ecossistema.

Palavras – chave: poluente emergente, 17 $\alpha$ -etinilestradiol, ELISA, esgoto sanitário, Lago Paranoá.

## ABSTRACT

Several previous research studies have pointed to the occurrence of emerging contaminants in aquatic matrices. These pollutants have not yet been regulated, but which have the potential to affect human and environmental health. This group of contaminants includes, 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2), a synthetic hormone present in contraceptive pills, with high estrogenic potential and bioaccumulation. Among its effects as endocrine disruptor, the most notorious is the feminization of male fish. The occurrence of emerging pollutants in Paranoá Lake (Federal District – Brazil) is presumed due to the release of effluents from treatment plants in this reservoir and the fact that these stations were not designed for the removal of these types of contaminants. In this context, considering that Paranoá Lake lake is nowadays a water supply reservoir, the objectives of this study were to: quantify the concentrations of EE2 in this reservoir, evaluate the performance of sewage and water treatment plants regarding the removal of EE2, and characterize the risk of involuntary exposure environmental. The ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) method was used for the analysis. EE2 concentrations were quantified in all influent samples (1.31 – 2.08 ng. L<sup>-1</sup>) and effluent (0.23 – 1.50 ng. L<sup>-1</sup>), and in one of the samples of surface water from Paranoá Lake (0.07 ng. L<sup>-1</sup>). In the drinking water samples the concentration was below the minimum limit of quantification of the method. The maximum performance of removal of EE2 by the Sewage Treatment Plant (STP) was 88%, achieved by the STP Riacho Fundo, which uses a system sequencing batch reactors that removes phosphorus. However, in the Bardenpho process of sewage treatment followed by coagulation/flocculation/flotation, the removal was around 30%. The concentration of 0.07 ng / L quantified in Paranoá Lake was below the observed mean of effects concentrations described in the literature for aquatic animals representing the second and thirist trophic level, but higher than the predicted concentrations without effect proposed by the European Commission (0.035 ng. L<sup>-1</sup>). Thus, this research contributes to the expansion of the database related to the presence of emerging contaminants in Paranoá Lake, in the domestic sewage and wastewaters discharges stations. Besides to contributing to the monitoring of future trends in the contribution of emerging contaminants to the Lake, to neutralize in advance their negative impacts on water quality and ecosystem.

Keywords: emerging pollutant, 17 $\alpha$  - ethinylestradiol, ELISA, sanitary sewage, Paranoá Lake.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de atuação dos desreguladores endócrinos.....	19
Figura 2. Possíveis rotas dos desreguladores endócrinos no meio ambiente.....	21
Figura 3. Fórmula estrutural do hormônio sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol.....	28
Figura 4. Localização dos pontos de coleta das amostras.....	44
Figura 5. Fluxograma da metodologia de pré-tratamento das amostras.....	46
Figura 6. Extração em Fase Sólida das amostras com auxílio de sistema <i>Vacuum Manifold</i> ...	46
Figura 7. Visualização da placa de ELISA (A) após o período de incubação, (B) durante a adição da solução de parada e (C) após a adição da solução de parada e antes da leitura da absorbância.	47
Figura 8. Curva de calibração do EE2.....	53
Figura 9. Quantificação do EE2 (ng. L <sup>-1</sup> ) nos respectivos pontos de coleta.....	54
Figura 10. Localização das galerias de águas pluviais próximas ao P1 (Ponte das Garças).....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração de 17 $\alpha$ -etinilestradiol em diferentes matrizes ambientais	22
Tabela 2. Efeitos do EE2 em diferentes espécies aquáticas em várias concentrações na água	27
Tabela 3. Animais representantes do segundo e do terceiro nível trófico da cadeia alimentar aquática dos estudos representados na Tabela 3.....	34
Tabela 4. Média dos valores de CEO para o 17- $\alpha$ etinilestradiol em animais do segundo e do terceiro nível trófico da cadeia alimentar aquática (Tabela 2) descritos na literatura.....	35
Tabela 5. Métodos para determinação de EE2 em matrizes aquosas.....	38
Tabela 6. Denominação e localização dos pontos de coleta das amostras.....	43
Tabela 7. Concentrações médias de efeito observado de 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) em organismos aquáticos.....	48
Tabela 8. Concentrações previstas sem efeito estabelecidas para o EE2.....	48
Tabela 9. Resultados analíticos físico-químicos e microbiológicos das amostras do Lago Paranoá.....	49
Tabela 10. Estatística descritiva dos parâmetros de qualidade da água analisados e desempenho das ETEs Riacho Fundo, Sul e Norte.....	51
Tabela 11. Estatística descritiva dos parâmetros de qualidade da água da saída do tratamento da ETA Lago Norte.....	52
Tabela 12. Concentração de EE2 (ng. L <sup>-1</sup> ) nas amostras.....	53
Tabela 13. Desempenho das Estações de Tratamento de Esgoto na remoção de EE2.....	55
Tabela 14. Análise comparativa das concentrações quantificadas de EE2 nas matrizes aquosas com outros estudos.....	61

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADASA – Agência Reguladora de Águas e Saneamento Básico do Distrito Federal

ANA – Agência Nacional de Águas

CAESB – Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal

CDER – *Center for Drug Evaluation and Research*

CEO – Concentração de efeito observado

CG – Cromatografia gasosa

DES – Dietilestilbestrol

E1 – Estrona

E2 – 17 $\beta$ -estradiol

E3 – Estriol

EE2 – 17 $\alpha$ -etinilestradiol

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática

ETE – Estação de tratamento de esgoto

ETA – Estação de tratamento de água

FDA – *Foods and Drugs Administration*

HAP – Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

IPCS – *International Programme on Chemical Safety*

MS – Espectrofotometria de massa

OECD – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

PCB – Bifenilas policloradas

*PNEC – Predicted no Effect Concentration*

RBS – Reator em batelada sequencial

RNA – Ácido ribonucléico

STP – *Sewage Treatment Plant*

USEPA – *United States Environmental Protection Agency*

USGS – *United States Geological Survey*

WHO – *World Health Organization*

## SUMÁRIO

1. <b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
2. <b>OBJETIVOS</b> .....	105
2.1 OBJETIVO GERAL.....	105
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	105
3. <b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	166
3.1 MICROPOLUENTES EMERGENTES.....	166
3.2 DESRREGULADORES ENDÓCRINOS (DE).....	167
3.3 OCORRÊNCIA DE DESRREGULADORES ENDÓCRINOS NO MEIO AMBIENTE .....	20
3.4 EFEITOS DOS DESRREGULADORES ENDÓCRINOS NO MEIO AMBIENTE .....	23
3.5 17 $\alpha$ -ETINILESTRADIOL (EE2).....	27
3.6 ECOTOXICIDADE DO EE2.....	30
3.7 METODOLOGIAS DE ANÁLISE DE EE2.....	35
4. <b>ÁREA DE ESTUDO</b> .....	39
5. <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	42
5.1 COLETA, ARMAZENAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS..	42
5.2 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DO EE2.....	45
5.3 CARACTERIZAÇÃO DO RISCO DE EXPOSIÇÃO INVOLUNTÁRIA AMBIENTAL AO EE2 .....	478
6. <b>RESULTADOS</b> .....	519
6.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DO LAGO PARANOÁ.....	519
6.2 CARACTERIZAÇÃO DO ESGOTO BRUTO E TRATADO DAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO .....	50
6.3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA TRATADA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO LAGO NORTE .....	52
6.4 RESULTADOS ANALÍTICOS DAS CONCENTRAÇÃO DO EE2 .....	52
6.5 CARACTERIZAÇÃO DO RISCO DE EXPOSIÇÃO INVOLUNTÁRIA AMBIENTAL AO EE2 .....	56
7. <b>DISCUSSÃO</b> .....	57
8. <b>CONCLUSÕES</b> .....	67
9. <b>RECOMENDAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS</b> .....	68
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69

## 1. INTRODUÇÃO

O monitoramento da qualidade da água de lagos, no Brasil, engloba uma série de características físico-químicas, microbiológicas e limnológicas, em atendimento à Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005). Os parâmetros dessa legislação abrangem ainda compostos como agrotóxicos, metais tóxicos e microtoxinas que são importantes para avaliar o grau de contaminação da água de um lago. No entanto, diversos estudos apontam a possibilidade de ocorrência de outras substâncias importantes, denominadas contaminantes emergentes.

Contaminantes emergentes são substâncias químicas naturais ou antrópicas, ou qualquer microrganismo que, atualmente, não tenha seu monitoramento no ambiente preconizado por legislação, mas que tem potencial de causar efeitos adversos ecológicos e/ou sobre a saúde humana (USGS, 2012). Esses poluentes mesmo em baixas concentrações ( $\mu\text{g. L}^{-1}$  e  $\text{ng. L}^{-1}$ ) apresentam risco potencial para a saúde humana e para o meio ambiente.

Uma grande diversidade de compostos químicos naturais ou sintéticos pode ser considerada contaminante emergente tais como, fármacos, produtos de higiene pessoal, hormônios, surfactantes, retardadores de chama, agrotóxicos e nanopartículas.

Dentre esses poluentes emergentes destacam-se os desreguladores ou interferentes endócrinos, que são substâncias exógenas que têm a capacidade de alterar as funções do sistema endócrino, podendo provocar efeitos adversos à saúde humana e de outros animais, incluindo, os hormônios naturais e sintéticos. Esses compostos podem interferir na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais. Isto porque, essas substâncias têm o potencial de mimetizar os hormônios naturais, ligando-se aos sítios receptores, ativando, bloqueando e alterando as vias de sinalização celular que desencadeiam a função hormonal (BILA, 2005 *apud* GAIDO *et al.*, 1997).

Sabe-se que os estrógenos, andrógenos e hormônios da tireóide são similares em todos os vertebrados (WHO, 2012). Devido a essa semelhança existente nas diversas espécies, tanto na forma quanto na função, um desregulador endócrino pode atuar alterando o desenvolvimento, reprodução e funções de seres vivos de diversas espécies a ele expostos (SILVA, 2015).

Entre os hormônios, os estrogênios merecem especial atenção, uma vez que, estudos ecotoxicológicos apontam que a exposição contínua a esses compostos está

associada a alterações bioquímicas e histopatológicas, redução significativa na taxa de fertilização, diminuição na eclosão de ovos e modificações comportamentais no acasalamento em espécies de peixes, anfíbios, crustáceos e gastrópodes (BERGMAN *et al.*, 2012; GARMSHAUSEN *et al.*, 2015; GIUSTI *et al.*, 2014; LUNA *et al.*, 2015; SILVA, 2015).

Dentre os estrogênios, destaca-se o 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), hormônio sintético presente em pílulas anticoncepcionais, com alto potencial estrogênico e resistente à biodegradação (FERREIRA, 2008). Esse fármaco é largamente utilizado no controle dos sintomas que envolvem a menopausa, distúrbios fisiológicos e no tratamento do câncer de próstata e de mama (GHISELLI & JARDIM, 2007). Em humanos, a afinidade de ligação do EE2 aos receptores de estrógeno é até duas vezes maior que a do hormônio natural, 17 $\beta$ -estradiol (E2), e em algumas espécies de peixes em até cinco a seis vezes mais (ARIS; SHAMSUDDIN & PRAVEENA, 2014).

No Distrito Federal (DF), os sistemas de abastecimento de água formados pelos reservatórios do Descoberto e de Santa Maria são responsáveis pelo abastecimento de cerca de 80% da população. Pequenos sistemas isolados, com captação a fio d'água ou com poços tubulares profundos, complementam a quantidade de água necessária para abastecimento das áreas não cobertas por esses sistemas (CAESB, 2014a).

Devido à crise hídrica, que atingiu o Distrito Federal, e o alto risco dos reservatórios do Descoberto e Santa Maria atingirem o nível mínimo operacional, houve a necessidade de instalação de um sistema de captação de água emergencial no Lago Paranoá, para reforçar ambos os sistemas de abastecimento com manobras de redistribuição.

O Lago Paranoá está localizado na região central de Brasília e atende vários usos, tais como, paisagismo, lazer e geração de energia. Além desses usos, 42% dos esgotos gerados, previamente tratados, no Distrito Federal, são lançados direta ou indiretamente neste Lago. Tais efluentes são originários das Estações de Tratamento de Esgoto Sul (ETE-Sul), Norte (ETE-Norte) e Riacho Fundo (ETE Riacho Fundo) (CAESB, 2014b).

Uma vez que, a excreção natural é uma das fontes de descarte do 17 $\alpha$ -etinilestradiol e que, embora os efluentes sejam devidamente tratados, as estações de tratamento de esgoto não estão preparadas e nem foram projetadas para a remoção deste tipo de contaminante, é provável que o EE2 possa ser carregado para o Lago Paranoá.

Devido ao uso desse Lago para o abastecimento público, por causa da crise hídrica, existe um potencial risco de exposição involuntária ambiental e humana ao EE2.

Neste contexto, este estudo monitorou o lançamento de EE2 proveniente das Estações de Tratamento Sul, Norte e Riacho Fundo, bem como, na sua ocorrência no Lago Paranoá, no ponto de captação e de distribuição de água tratada, proveniente da estação de tratamento de água recém-instalada no Lago.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a ocorrência do hormônio estrogênico 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) no Lago Paranoá, no esgoto e efluente lançados nesse reservatório, bem como, na água tratada proveniente desse corpo hídrico.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração do 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) em amostras de água provenientes do Lago Paranoá, do esgoto bruto e tratado das ETEs Riacho Fundo, Norte e Sul, e da água tratada da ETA Lago Norte, por Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA);
- Estimar o percentual de remoção do 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) pelas ETEs Riacho Fundo, Norte e Sul;
- Estimar o percentual de remoção do 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) pela ETA Lago Norte;
- Caracterizar o risco de exposição involuntária ambiental ao 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2).

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 MICROPOLUENTES EMERGENTES

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency* – USEPA), micropoluentes emergentes são poluentes (bióticos e abióticos) que, atualmente, não estão incluídos em programas de monitoramento e que podem se tornar candidatos a serem inseridos em legislações futuras, dependendo de pesquisas sobre (eco)toxicidade, efeitos negativos sobre a saúde e dados sobre sua ocorrência em matrizes ambientais (USEPA, 2011).

Assim, a utilização do termo micropoluente emergente não se trata de uma substância recentemente produzida, mas sim, ao fato de ser um grupo de substâncias com características peculiares, que se tornaram ambientalmente importantes em razão dos seus usos e níveis crescentes de utilização e de contaminação, cujos efeitos ainda permanecem incertos. Por isso, os estudos ambientais relacionados com esse tema têm crescido exponencialmente nos últimos anos.

Os micropoluentes emergentes compreendem uma série de substâncias presentes nas formulações de medicamentos, desinfetantes, meios de contraste, detergentes, surfactantes, pesticidas, corantes, tintas, conservantes, aditivos alimentares e produtos para cuidados pessoais. Os resíduos desses compostos podem ser encontrados em diferentes matrizes ambientais tais como esgotos, corpos receptores, sedimentos, lodo biológico e até mesmo, em águas destinadas ao abastecimento (SILVA, 2015).

Vários estudos já demonstram que essas substâncias, mesmo em baixas concentrações (na ordem de  $\mu\text{g. L}^{-1}$  e  $\text{ng. L}^{-1}$ ), podem causar diferentes impactos na biota selvagem (ROBINSON; HELLOU, 2009; JORGENSEN e HALLING-SORENSEN, 2000; BRICIU, KOT-WASIK E NAMIESNIK, 2009). Entretanto, ainda sabe-se pouco sobre os efeitos ao longo prazo da exposição às baixas concentrações desses micropoluentes na biota aquática e, em última, análise nos seres humanos (HUERTA; RODRÍGUEZ-MOZAZ; BARCELÓ, 2012).

De uma maneira mais ampla, a origem de muitos contaminantes emergentes está diretamente associada às águas residuárias urbanas, seja por meio do descarte de produtos ou pela excreção de substâncias metabolizadas ou inalteradas. Considerando que, grande parte do esgoto bruto, tratado ou não, é descartado em águas receptoras, incluindo pequenos riachos, rios, lagos e fontes de água potável, é possível que esses

resíduos sejam encontrados nesses corpos hídricos (SANTANA, 2013; SODRÉ, LOCATELLI & JARDIM, 2010).

Segundo a USGS (*United States Geological Survey*), a liberação de substâncias químicas ou contaminantes microbianos emergentes ocorre durante muito tempo. No entanto, sua ocorrência não pôde ser atestada até que novas técnicas de detecção, suficientes o bastante para acessarem níveis muito baixos de concentração, fossem desenvolvidas. Por outro lado, novas fontes de contaminantes emergentes surgiram devido à síntese de novas substâncias ou às mudanças nos mecanismos de uso e de descarte de bens de consumo (USGS, 2012).

Um exemplo de quão baixas são as concentrações dessas substâncias no ambiente, é o trabalho realizado por Kuster *et al.* (2009) com amostras de água superficial retiradas da região metropolitana do Rio de Janeiro. Nesse trabalho, os autores determinaram a ocorrência de uma série de contaminantes emergentes, entre eles o hormônio estriol (E3), que foi detectado em 14 de 20 amostras, com uma concentração média de 3,7 ng. L<sup>-1</sup>.

Kidd e colaboradores (2007) observaram os efeitos de um contaminante emergente frente à biota. Esses pesquisadores investigaram a feminização de peixes em um lago natural no Canadá, que foi submetido a adições periódicas do hormônio sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), ao longo de 7 anos. As adições procuravam manter as águas do lago a um nível constante de concentração de EE2, mais especificamente, entre 5 e 6 ng. L<sup>-1</sup>. As adições eram contínuas para compensar a existência de mecanismos naturais de degradação dessa substância que poderiam culminar com a alteração significativa da concentração da espécie alvo. A exposição crônica da população de peixes do lago frente ao hormônio, ao longo dos anos, proporcionou a feminização de peixes da espécie *Pimephales promelas*. Essa feminização ficou caracterizada pela produção de vitelogenina, uma proteína produzida pelas fêmeas durante a maturação dos ovócitos.

### 3.2 DESREGULADORES ENDÓCRINOS (DE)

A USEPA define um desregulador endócrino como um agente exógeno que interfere na síntese, na secreção, no transporte, na ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais no corpo, os quais são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento dos organismos (USEPA, 2011).

O Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) define desregulador endócrino como uma substância ou um composto exógeno que altera uma ou várias funções do sistema endócrino e tem, conseqüentemente, efeitos adversos sobre a saúde num organismo intacto, sua descendência, ou (sub) populações (IPCS, 2002).

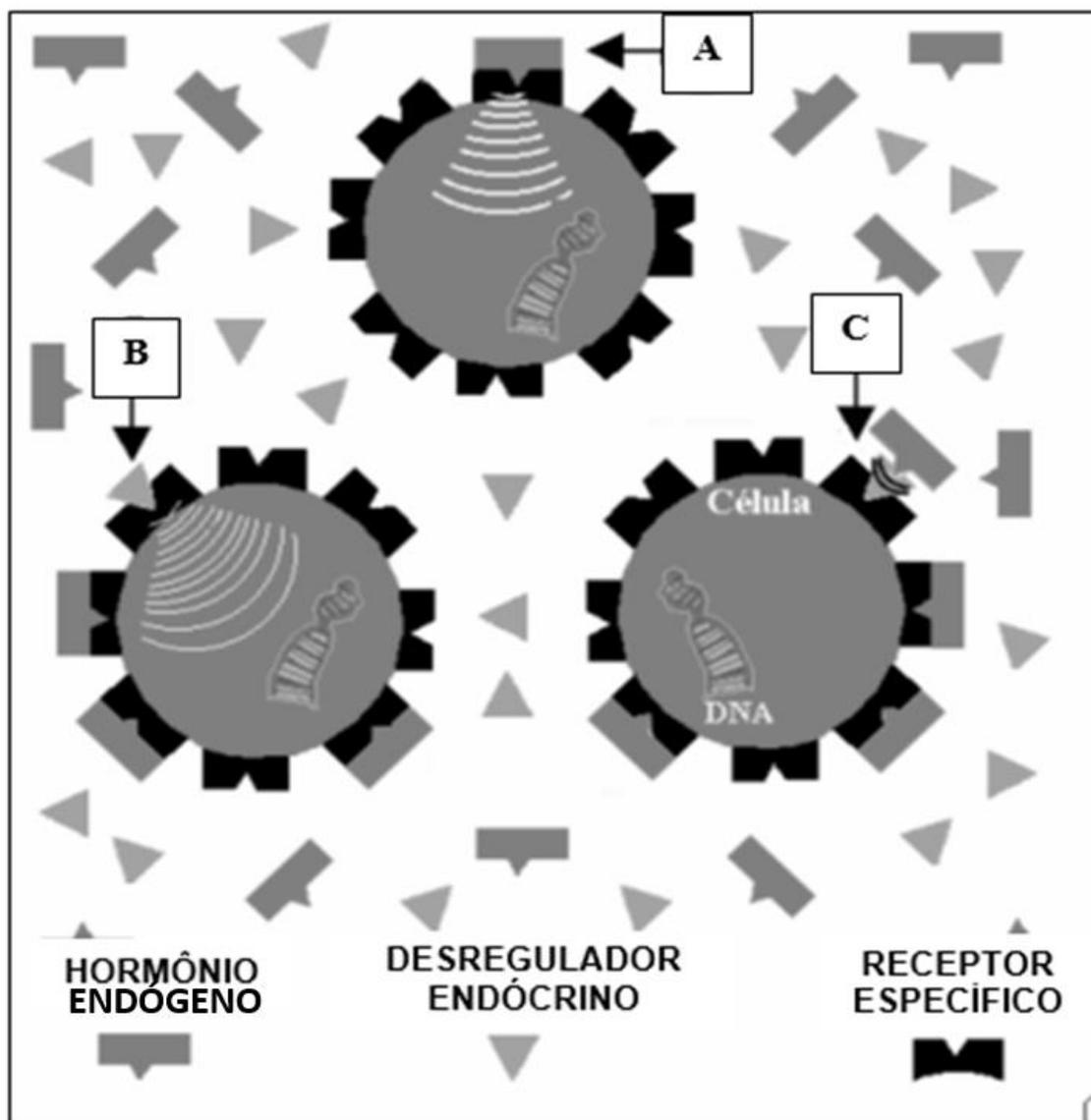
As substâncias classificadas como desreguladores endócrinos, disruptores endócrinos ou interferentes hormonais, naturais e sintéticos, podem ser agrupadas em quatro classes (BILA & DEZOTTI, 2007):

- 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, bifenila policloradas (PCB), alquilfenóis e seus subprodutos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), ftalatos, bisfenol A, entre outros;
- c) Substâncias naturais, como os fitoestrogênios – genisteína e metaresinol e os estrogênios naturais  $17\beta$ -estradiol, estrona e estriol; e
- d) Compostos farmacêuticos, como o dietilestilbestrol (DES) e o  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2).

O sistema endócrino é um mecanismo complexo que coordena e regula a comunicação entre as células, constituído por combinações de glândulas e hormônios, sendo responsável por diferentes funções biológicas, como reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento e metabolismo. Os hormônios são mensageiros químicos que respondem pela comunicação entre diferentes tipos de células, que as identificam através de receptores (estruturas proteicas especializadas em reconhecimento molecular). Depois da aproximação e interação hormônio endógeno-receptor ocorre uma série de reações bioquímicas, levando a respostas biológicas específicas como mostra a Figura 1(A) (REIS FILHO; COUTINHO; VIEIRA, 2006).

Os desreguladores endócrinos podem interferir no funcionamento do sistema endócrino mimetizando a ação de um hormônio endógeno (Figura 1(B)) ou bloqueando os receptores hormonais nas células-alvo dos hormônios (Figura 1(C)). Esses compostos podem ainda, afetar a síntese, o transporte, o metabolismo e a excreção dos hormônios, alterando as suas concentrações naturais no corpo humano (BILA, 2005).

**Figura 1.** Mecanismos de atuação dos desreguladores endócrinos.



Fonte: BILA, 2005 (Adaptado).

Sabe-se que um receptor hormonal possui elevada sensibilidade e afinidade por um hormônio específico produzido no organismo (GHISELLI, 2006). Assim, concentrações extremamente baixas de um determinado hormônio geram efeito, produzindo uma resposta natural. Entretanto, estes receptores hormonais também podem se ligar a outros compostos químicos, explicando o porquê de determinados desreguladores endócrinos presentes no organismo, mesmo em baixíssimas concentrações, serem capazes de gerar efeito, provocando, conseqüentemente, uma resposta (SOUZA, 2011).

Os estrogênios naturais pertencem à classe dos desreguladores endócrinos. Diversas pesquisas demonstram a presença de estrona e  $17\beta$ -estradiol em efluentes e em águas superficiais em várias partes do mundo (BELFROID *et al.*, 1999; TERNES *et al.*, 1999; CUNHA *et al.*, 2017). Eles são normalmente excretados pela urina na forma de conjugados polares inativos por mulheres e, em menor quantidade, por homens, assim como pelas fezes na forma livre, apresentando variações com relação à solubilidade em água, taxa de excreção e catabolismo biológico (SOUZA, 2011).

Dentre os estrógenos, o sintético  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2), desperta maior preocupação devido a sua potência e quantidade continuamente introduzida no ambiente. Esse fármaco foi desenvolvido para uso médico em terapias de reposição hormonal e para fins contraceptivos. O EE2 possui uma melhor conformação para o reconhecimento pelos receptores e, portanto, resulta em respostas máximas, sendo considerado como responsável pela maioria dos efeitos disruptores no meio ambiente (REIS FILHO; COUTINHO; VIEIRA, 2006). A maioria dos estrogênios naturais tem vida curta e não acumula nos tecidos. Por outro lado, estrogênios sintéticos são mais estáveis e permanecem no corpo por mais tempo (FERREIRA, 2008).

### 3.3 OCORRÊNCIA DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS NO MEIO AMBIENTE

O estilo de vida das populações urbanas, caracterizado pelo alto consumo de medicamentos, produtos de higiene pessoal, surfactantes, plastificantes, entre outros, faz do esgoto doméstico uma das principais vias de entrada de inúmeros micropoluentes emergentes no ambiente. Os desreguladores endócrinos podem ser encontrados nas águas superficiais e subterrâneas, em sedimentos, nos lixiviados de aterros sanitários, no lodo biológico, nos efluentes de estações de tratamento de esgoto e conseqüentemente, na água potável (BILA & DEZOTTI, 2007).

Além de serem associados aos efeitos no sistema endócrino, alguns são também persistentes, lipofílicos, bioacumulativos e têm baixa pressão de vapor, o que facilita a dispersão e difusão no meio ambiente (BILA & DEZOTTI, 2007). A persistência dos desreguladores endócrinos deve-se também ao seu uso continuado, pois, são introduzidos no meio ambiente de forma ininterrupta. Existem incertezas quanto às reais fontes desses compostos, no entanto, podem-se deduzir possíveis rotas, como as ilustradas na Figura 2.



**Tabela 1.** Concentração de 17 $\alpha$ -etinilestradiol em diferentes matrizes ambientais.

Matriz	Concentração de 17 $\alpha$ -etinilestradiol	Local	Referência
	23 ng. L <sup>-1</sup>	Brasil	LUCENA, 2013
	<240 $\mu$ g L <sup>-1</sup>	Brasil	SILVA, 2015
Água Superficial	0,25-0,52 ng L <sup>-1</sup>	Estados Unidos	SNYDER <i>et al.</i> , 1999
	<0,1-4,3 ng L <sup>-1</sup>	Países Baixos	BELFROID <i>et al.</i> , 1999
	0,10 – 5,1 ng L <sup>-1</sup>	Alemanha	KUCH <i>et al.</i> , 2001
	1,1 – 2,9 ng L <sup>-1</sup>	França	CARGOUËT <i>et al.</i> , 2004
Água potável	0,15 – 0,50 ng L <sup>-1</sup>	Alemanha	KUCH <i>et al.</i> , 2001
	2 ng L <sup>-1</sup>	Suécia	LARSSON <i>et al.</i> , 1999
	< 0,2-7,6 ng L <sup>-1</sup>	Países Baixos	BELFROID <i>et al.</i> , 1999
	n.d – 16,4 ng L <sup>-1</sup>	Estados Unidos	SURI <i>et al.</i> , 2012
Efluente urbano	75 – 90 ng L <sup>-1</sup>	Canadá	VIGLINO <i>et al.</i> , 2008
	5 – 10 ng L <sup>-1</sup>	Espanha	MULLER <i>et al.</i> , 2008
	<LQ – 154 ng L <sup>-1</sup>	Espanha	PEDROUZO <i>et al.</i> , 2011
	n.d. – 13 ng L <sup>-1</sup>	França	MULLER <i>et al.</i> , 2008
	2,7 – 4,5 ng L <sup>-1</sup>	França	CARGOUËT <i>et al.</i> , 2004
	0,5 – 5 ng L <sup>-1</sup>	Inglaterra	ZHANG <i>et al.</i> , 2006
	0,2-7,0 ng L <sup>-1</sup>	Inglaterra	DESBROW <i>et al.</i> , 1998
	n.d. – 24 ng L <sup>-1</sup>	Luxemburgo	PAILLER <i>et al.</i> , 2009
	0,4 ng L <sup>-1</sup>	Itália	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
	<480 $\mu$ g L <sup>-1</sup>	Brasil	SILVA, 2015
Esgoto doméstico	4,5 ng L <sup>-1</sup>	Suécia	LARSSON <i>et al.</i> , 1999
Lodo ativado	n.d. – 17 ng g <sup>-1</sup>	Alemanha	TERNES <i>et al.</i> , 2002
Sedimento de rio	n.d. – 0,9 ng g <sup>-1</sup>	Alemanha	TERNES <i>et al.</i> , 2002

Fonte: DALLEGRAVE, 2012, BILA; DEZOTTI, 2007 e LUCENA, 2013 (Adaptado).  
n.d.= não detectado; <LQ= menor que o limite mínimo de quantificação

A quantidade de EE2 no efluente da estação de tratamento liberado para o ambiente varia dependendo da época e da eficácia do tratamento, sendo que, uma maior concentração de EE2 é detectada em áreas mais urbanizadas (LIU *et al.*, 2012a; ZUO *et al.*, 2006).

Além do mais, no Brasil, Ternes *et al.* (1999) realizaram o monitoramento de estrogênios na estação de tratamento de esgoto da Penha, no Rio de Janeiro. No esgoto doméstico, os estrogênios 17 $\beta$ -estradiol e estrona foram detectados em concentrações de

0,021 e 0,04  $\mu\text{g. L}^{-1}$ , respectivamente. As taxas de remoção de estrona observadas foram de 67% para o efluente tratado em filtro biológico e 83% para o efluente tratado pelo processo de lodos ativados. Para o 17 $\beta$ -estradiol, estas taxas foram de 92% e 99,9% para o efluente tratado em filtro biológico e para o efluente tratado pelo processo de lodos ativados, respectivamente. Para o 17 $\alpha$ -etinilestradiol, as taxas de remoção na ETE foram de 64% e 78% para o efluente do filtro biológico e para o efluente do tanque de lodos ativados (TERNES *et al.*, 1999).

Após o processo de tratamento de esgoto e seu lançamento nos corpos hídricos, os estrogênios ainda são submetidos a diferentes graus de atenuação natural que podem minimizar o seu impacto ambiental, como por exemplo, a diluição, a eventual adsorção em sólidos em suspensão e em sedimentos, a fotólise e a biodegradação aeróbia (GÓMEZ *et al.*, 2012; PAL *et al.*, 2010 *apud* CUNHA *et al.*, 2017). Mas, há ainda que se considerar a possibilidade de ressuspensão destes compostos para coluna d'água, o que pode torná-los novamente biodisponíveis (CUNHA *et al.*, 2017).

Outra fonte de EE2 são os esterco provenientes da criação de bovinos, por exemplo. Esse hormônio pode ser utilizado para melhorar a produtividade e tratar certas doenças no gado (GADD *et al.*, 2010). Recentemente, pesquisadores apontaram que a quantidade de estrogênio excretada pelo gado é da mesma ordem de magnitude como por seres humanos, ou, em certos casos, podendo até exceder a contribuição humana (BRICIU *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2012a).

Além do mais, a preocupação com as substâncias estrogênicas não pode se restringir apenas à fase aquosa. Legler *et al.* (2002) demonstrou que as substâncias com atividade estrogênica podem acumular-se em sedimentos marinhos e expor os organismos aquáticos aos efeitos estrogênicos. Labadie & Hill (2007) relataram que as concentrações de compostos estrogênicos em sedimentos de leito de rios variaram de < 0,12 a 22,80  $\text{ng. g}^{-1}$ , em sedimentos de estuários de < 0,05 a 2,52  $\text{ng. g}^{-1}$  e de < 0,05 a 3,6  $\text{ng. g}^{-1}$  em áreas marinhas costeiras. Além disso, destaca-se que devido à alta lipofilia e persistência, a maior parte dos compostos estrogênicos, incluindo EE2, podem bioacumular nos organismos (MAZOTTO *et al.*, 2008).

#### 3.4 EFEITOS DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS NO MEIO AMBIENTE

Vários estudos têm relatado os efeitos causados pelos desreguladores endócrinos em animais (peixes, répteis e pássaros) tais como anomalias no sistema reprodutivo, e indução da síntese de vitelogenina, e possíveis efeitos na saúde de humanos como a redução na produção de esperma e o aumento da incidência de alguns tipos de câncer (SOARES *et al.*, 2009; BILA, 2005; SCHNEIDER, SCHÖLER, SCHNEIDER, 2005; GASCÓN, OUBIÑA, BARCELÓ, 1997). Esses efeitos dos desreguladores endócrinos no meio ambiente não dependem somente das suas concentrações, mas também, de outros fatores, tais como, a lipofilicidade, persistência, bioacumulação, tempo de exposição e seus mecanismos de biotransformação e excreção. Algumas substâncias podem sofrer biotransformação resultando em metabólitos ou subprodutos igualmente ou até mais danosos que os compostos originais (BILA & DEZOTTI, 2007).

A exposição a baixos níveis de desreguladores endócrinos pode aumentar no corpo de animais devido à bioacumulação. Por isso, em uma cadeia alimentar, os animais que se encontram no topo podem apresentar concentrações mais altas dessas substâncias do que os organismos da sua base (BILA & DEZOTTI, 2007).

Uma vez presentes nos organismos das fêmeas, essas substâncias podem ser transferidas aos seus embriões, fetos ou filhotes através dos ovos, placenta ou leite materno e, assim, afetar o desenvolvimento fetal. Nos animais aquáticos, a exposição aos poluentes é inevitável, pois grande parte do ciclo reprodutivo ocorre fora do corpo das fêmeas, proporcionando um contato direto durante a fase gestacional (BILA & DEZOTTI, 2007).

Estima-se que mais de 90% dos desreguladores endócrinos sejam absorvidos pelo homem por via digestiva através de alimentos contaminados (REYS, 2001). A exposição pode vir de pesticidas residuais que contaminam frutas e vegetais e, em baixas concentrações, na água potável. Assim, a água potável é outra significativa fonte de exposição a desreguladores endócrinos. As águas superficiais e subterrâneas, principais fontes de suprimento de água, podem ser contaminadas por essas substâncias através do solo (na agricultura ou mesmo em áreas urbanas) e pelo descarte de efluentes industriais e domésticos (BILA & DEZOTTI, 2007).

No entanto, ainda existe o desafio de comprovar por meio de evidências significativas, de que essas substâncias possam causar efeitos danosos em humanos e outros animais e em quais concentrações são significativas para exercerem esses efeitos.

Sanderson *et al.* (2004) demonstraram através de estudos de toxicidade que, entre as principais classes de medicamentos encontradas em amostras ambientais, os

hormônios sexuais estão entre os que podem induzir efeitos mais severos, tanto para humanos quanto para a biota. Dentre eles se destaca o estrogênio 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2). A antecipação da puberdade e o declínio na qualidade do sêmen durante o último século são temas centrais nesta discussão. A existência de sítios receptores para estrógenos em diversos tecidos e a capacidade destes compostos atuarem de modo sinérgico reforçam a preocupação existente com a disrupção endócrina (REIS FILHO; COUTINHO; VIEIRA, 2006; CUNHA *et al.*, 2017).

Diversos biomarcadores em diferentes níveis de respostas biológicas foram extensivamente desenvolvidos e usados como sinais de alerta precoce para a obtenção de um maior conhecimento sobre a toxicidade de EE2 em seres aquáticos (YAN *et al.*, 2012). Estudos de campo e de laboratório forneceram evidências abundantes sobre os efeitos da exposição a esse poluente, como o aumento de vitelogenina em peixes machos e fêmeas, proporções de peixes intersexo, diminuição da produção de óvulos e espermatozóides, redução da qualidade dos gametas, feminização do peixe macho, redução da fertilidade e fecundidade e também mudanças comportamentais (ARIS; SHAMSUDDIN; PRAVEENA, 2014). Esses poluentes podem, ainda, reduzir direta ou indiretamente a sobrevivência, o crescimento do estágio inicial dos organismos, a fertilidade e a eclosão, além de gerar impacto na população (YAN *et al.*, 2012).

Segundo Liu *et al.* (2012b), organismos aquáticos nos estágio inicial da vida são sensíveis à exposição aguda ao estrogênio. Os estágios embrionário e juvenil de organismos aquáticos têm sido utilizados para avaliar a qualidade biológica do meio aquático (água e sedimento), devido à menor tolerância a substâncias tóxicas do que na fase adulta. Por exemplo, todos os juvenis de *Oryzias latipes* sofreram inversão de sexo e desenvolveram um ovário quando expostos a concentrações de EE2 iguais a 100 ng. L<sup>-1</sup> por 2 meses, e diminuíram a produção de ovos, devido à redução do peso gonadal das fêmeas em concentrações de 10 e 100 ng. L<sup>-1</sup> de EE2 (SCHOLZ & GUTZEIT, 2000). Zhang *et al.* (2012) também mostraram que machos da espécie *Paramisgurnus dabryanus* com 2 meses de idade submetidos à exposição por 3 semanas a concentrações de EE2 iguais a 1, 5 e 25 ng. L<sup>-1</sup> tiveram a expressão suprimida de RNA mensageiro testicular. No entanto, a expressão de RNA mensageiro ovariano foi significativamente aumentada quando esses organismos eram exposto a concentração de 1 ng. L<sup>-1</sup> de EE2. Alguns exemplos sobre os efeitos da exposição ao EE2 em diferentes espécies aquáticas são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Efeitos do EE2 em diferentes espécies aquáticas.

Espécie	Concentração EE2 (ng. L <sup>-1</sup> )	Tempo de exposição	Efeitos	Referência
<i>Oryzias latipes</i>	10	2 meses	Redução na eclosão de ovos	SCHOLZ & GUTZEIT, 2000
	100		Ausência de geração de ovos	
<i>Gastrosteus aculeatus</i>	53,7	21 dias	Aumento dos níveis plasmáticos de vitelogenina	ANDERSSON <i>et al.</i> , 2007
<i>Salmo salar</i>	50	3 dias	Aumento dos níveis plasmáticos de vitelogenina	MORTENSEN & ARUKWE, 2007
<i>Danio rerio</i>	0,5; 5,0 e 50	48 horas	Diminuição do comportamento agressivo	COLMAN <i>et al.</i> , 2009
			Diminuição no acasalamento	
<i>Syngnathus scovelli</i>	5 a 25	14 dias	Aumento da expressão do RNAm hepático da proteína vitelogenina	REYHANIAN <i>et al.</i> , 2011
	1 a 100	10 dias	Desenvolvimento de listras laterais iridescentes (normalmente encontradas no sexo feminino)	PARTRIDGE <i>et al.</i> , 2010
<i>Pomatoschistus minutus</i>	24	1 a 4 semanas	Aumento da expressão de vitelogenina	SAARISTO <i>et al.</i> , 2009
<i>Sparus aurata L.</i>	5	29 dias	Aumento da expressão de vitelogenina	CABAS <i>et al.</i> , 2012

A elevação da vitelogenina nos organismos expostos em diferentes concentrações de EE2 já foi relatada em vários estudos (Tabela 2). A vitelogenina é uma proteína precursora do ovócito, que normalmente é produzida apenas em peixes fêmea adultos (HUMBLE *et al.*, 2013; KATSIADAKI *et al.*, 2010; KIM *et al.*, 2010). No entanto, essa proteína também pode ser induzida em indivíduos machos quando expostos a compostos estrogênicos (ANDERSSON *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2010; ROBINSON *et al.*, 2003; LIU *et al.*, 2012b). Uma grande quantidade de vitelogenina no plasma (1,3 mg. mL<sup>-1</sup>) de organismos da espécie *Oncorhynchus mykiss* pôde ser observada quando eles foram expostos a efluente de águas residuais contendo EE2 em concentração igual a 4,5 ng. L<sup>-1</sup> (LARSSON *et al.*, 1999).

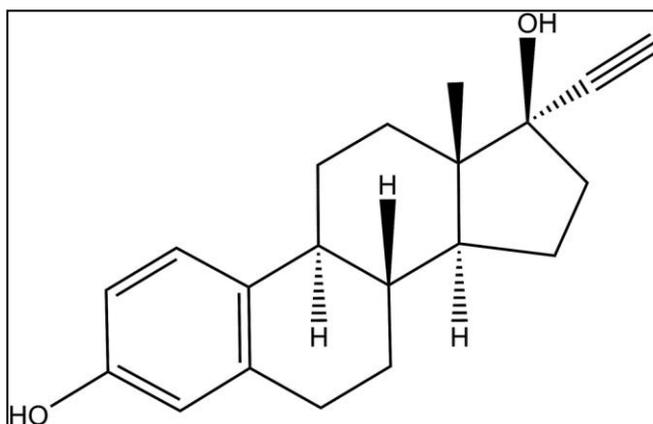
Segundo Partridge *et al.* (2010), o EE2 pode ter impacto ainda sobre o comportamento de acasalamento, afetando a atratividade do macho pelas fêmeas, mesmo em baixas doses de EE2 (1 ng. L<sup>-1</sup>). O EE2 pode afetar a metamorfose e alterar as relações sexuais em anfíbios da espécie *Rana pipiens* durante períodos vulneráveis de desenvolvimento (HOGAN *et al.*, 2008). Os resultados de Hogan *et al.* (2008) mostraram que o desenvolvimento de girinos expostos ao EE2 durante a metamorfose foi retardado imediatamente após a exposição ao esteróide e levou duas semanas a mais para alcançar o clímax metamórfico.

Os vertebrados, incluindo os mamíferos, também demonstraram sensibilidade ao EE2, particularmente durante o desenvolvimento pós-natal. VOSGES *et al.* (2008) relataram que ratos machos que foram expostos ao EE2 pela ingestão de água potável, por 3 semanas, a uma concentração de 0,1 e 1 ppm, apresentaram alterações no processo de reprodução. Os machos expostos a 10 ng/mL de EE2 em água potável, conceberam uma proporção significativamente maior (25%) de ninhadas pequenas (de um a cinco filhotes) do que os machos controle (0-3%). A exposição durante o desenvolvimento (do 7º dia gestacional ao 8º dia pós-natal) a doses micromolares orais de EE2 interromperam permanentemente a formação do trato reprodutivo de ratos machos (LARCHER *et al.*, 2012). Delclos *et al.* (2009) afirmaram que a absorção e o metabolismo desses compostos por ratos e humanos são diferentes devido a diferenças nos níveis séricos. Assim, uma comparação dos níveis ingeridos pode não fornecer uma boa indicação dos níveis de exposição do rato em relação aos níveis de exposição humana (DELCLLOS *et al.*, 2009).

### 3.5 17 $\alpha$ -ETINILESTRADIOL (EE2)

O 17 $\alpha$ -etinilestradiol (C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>) é um hormônio estrogênico sintético que foi desenvolvido a partir da adição de um radical etinil à molécula de 17 $\beta$ -estradiol, no carbono 17 (Figura 3). A adição desse radical confere à molécula um maior potencial estrogênico com relação ao estradiol (COMBALBERT & HERNANDEZ-RAQUET, 2010; WHO, 2012 e IARC, 2007).

**Figura 3.** Fórmula estrutural do hormônio sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol.



Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (Acesso em: 30 de junho de 2018).

Essa substância caracteriza-se por ser um pó de coloração branca a creme, inodoro, com um ponto de fusão que varia de 150 a 154°C. Ela é praticamente insolúvel em água, moderadamente solúvel em etanol, ligeiramente solúvel em metanol, acetona, dioxano e éter dietílico e muito solúvel em clorofórmio (IARC, 2007).

Este estrogênio sintético tem um coeficiente de partição octanol-água (logKow) de 3,67 a 4,2 (*Ministry of Environment Province of British Columbia*, 2009). Sabe-se que o coeficiente de partição octanol-água (logKow) é definido pela relação entre a concentração do composto na fase orgânica (octanol) com a da fase aquosa, sendo assim, ele informa a hidrofobicidade de um composto orgânico. Logo, o logKow do EE2 demonstra que essa molécula tem comportamento hidrofóbico, tendo a tendência de se associar à fase sólida, ou seja, em partículas em suspensão e na matéria orgânica presente na água e nos sedimentos (LIMA & PAULA, 2017; AURIOL *et al.*, 2006).

O 17  $\alpha$ -etinilestradiol apresenta valores de logKd (coeficiente de distribuição) entre 2,65 e 2,86 (HAMID & ESKICIOGLU, 2012) e Koc (coeficiente de adsorção) de 4.770 (SILVA, 2015). Esses coeficientes são parâmetros importantes para descrever o comportamento de um poluente no meio ambiente (LIMA & PAULA, 2017). Tais parâmetros são utilizados para estimar o potencial de sorção do contaminante dissolvido em contato com o solo. Quanto maior o logKd, por exemplo, maior a tendência do contaminante ficar adsorvido ao solo ou ao sedimento (CETESB, 2001). Dessa forma, o EE2 mostra uma afinidade pela fase sólida (IFELEBUEGU, THEOPHILUS & BATEMAN, 2010).

Sabe-se que o impacto dos estrogênios esteróides sobre os peixes que sofrem perturbações endócrinas será fortemente influenciado por sua distribuição entre o

sedimento e a água. Logo, pode-se inferir que a adsorção ao solo, ao sedimento ou ao lodo biológico sejam fatores significativos para a redução da concentração desse estrógeno na fase aquosa e a consequente minimização de sua atividade (URASE & KIKUTA 2005; LAI *et al.* 2000; FROEHNER *et al.*, 2011a).

O processo de biodegradação é considerado o mecanismo mais eficiente para a remoção de hormônios estrogênicos da água (ARNON *et al.*, 2008; FROEHNER *et al.*, 2011a). Os estrogênios naturais, E1 e E2, são facilmente degradados por reação biológica no tratamento das ETEs, com o auxílio de bactérias ou microrganismos sob condições aeróbicas ou anaeróbicas (ARIS; SHAMSUDDIN & PRAVEENA, 2014). No entanto, pesquisas mostraram que o EE2 se torna extremamente estável contra a oxidação no meio ambiente, devido ao grupo etinil, sendo assim, mais resistente ao metabolismo e à degradação (LI *et al.*, 2013; PARTRIDGE *et al.*, 2010; PICAZO *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2011a; ARIS; SHAMSUDDIN & PRAVEENA, 2014). Essa estabilidade da molécula caracteriza o seu potencial de persistência e de bioacumulação no meio ambiente (LAI; SCRIMSHAW & LESTER, 2002; DELL'ACQUA, 2017).

FERGUSON *et al.* (2013) estudaram a flutuação da concentração dos hormônios estrogênicos E1, E2, E3 e EE2 em um estuário, no sudeste da Austrália. Nesse estudo, os autores observaram que a concentração dos estrógenos tendia a ser maior em águas com alta salinidade, baixo oxigênio dissolvido e alto pH, sugerindo que esses compostos tendem a acumular-se nas águas do fundo.

Apesar de possuir meia-vida na água relativamente curta (de 4 a 6 dias), quando comparado a outros compostos orgânicos (como alguns pesticidas), destaca-se o caráter de persistência do EE2, visto que pode ser continuamente introduzido no meio ambiente (REIS FILHO; COUTINHO; VIEIRA, 2006).

Todo o EE2 administrado é excretado na sua forma conjugada (sulfatos e glicuronídeos), sendo esses excretados 40% pela urina e 60% pelas fezes (CANO *et al.*, 1997). Esses conjugados polares são biologicamente menos ativos e mais solúveis em água quando comparados aos estrogênios livres não conjugados (D'ASCENZO *et al.*, 2003; LIMA & PAULA, 2017).

Todavia, estudos comprovam a ocorrência de EE2 em sua forma livre em diferentes matrizes ambientais. Isso porque, as bactérias presentes no meio, principalmente a *Escherichia coli*, são capazes de desconjugar os estrogênios, retornando-os à sua forma livre e biologicamente ativa (D'ASCENZO *et al.*, 2003; LIMA & PAULA, 2017). A ocorrência de tal processo deve-se à capacidade da *E.coli*

em sintetizar uma grande quantidade da enzima  $\beta$ -glucuronidase, responsável por essa reação (LIMA & PAULA, 2017).

Os medicamentos anticoncepcionais orais normalmente apresentam doses de EE2 entre 10 e 50  $\mu\text{g}$ . Quando associado aos progestogênios, esse fármaco é clinicamente utilizado como contraceptivo, no tratamento de sintomas da perimenopausa, na obstrução mamária pós-parto, no sangramento uterino, na terapia hormonal para mulheres com hipogonadismo, e na terapia paliativa para carcinoma maligno de próstata e mama (COGLIANO, 2005; LUCENA, 2013). Estima-se uma média diária per capita de excreção EE2 por mulheres em terapia de reposição hormonal ou como anticoncepcional oral na ordem de 7,15 a 9,10  $\mu\text{g}$ .  $\text{dia}^{-1}$  (JOHNSON et al, 2000). Segundo Froehner *et al.* (2011a) a excreção diária de EE2 pelas mulheres em tratamento pode chegar a 14  $\mu\text{g}$ .

### 3.6 ECOTOXICIDADE DO EE2

Ramade (1977) definiu a Ecotoxicologia como a ciência que tem por objetivo estudar as modalidades de contaminação do ambiente pelos poluentes naturais ou sintéticos, produzidos por atividades humanas, seus mecanismos de ação e seus efeitos sobre o conjunto de seres vivos que habitam a biosfera. Os ensaios ecotoxicológicos têm por objetivo estabelecer as relações dose-efeito e dose-resposta que fundamentam todas as considerações necessárias para a avaliação do risco. Nas exposições ambientais pode-se estimar a dose com base na medição das concentrações ambientais em função do tempo. O termo efeito denomina uma alteração biológica e a resposta indica a proporção de uma população que manifesta um efeito definido (MAGALHÃES & FERRÃO, 2008).

Risco é definido como a probabilidade de um resultado adverso, com base na exposição e na potência do agente perigoso. A avaliação de risco é a avaliação científica sistemática de potenciais efeitos adversos à saúde resultantes da exposição a poluentes que requer uma integração de informação científica qualitativa e quantitativa, ou seja, avalia tanto a ocorrência do contaminante quanto os seus efeitos dose-resposta, que podem ser distintos de acordo com as espécies e matrizes ambientais (CASARETT & DOULL, 2013). A caracterização do risco é um resumo dos componentes de avaliação de risco, ou seja, é uma análise e uma integração das conclusões da avaliação de risco, da dose-resposta e da avaliação da exposição (CASARETT & DOULL, 2013).

A análise de incerteza é um componente essencial na caracterização final de riscos e inclui fatores como variabilidade e falta de conhecimento. A variabilidade refere-se a diferenças verdadeiras, tais como as que se refletem em diferenças temporais, espaciais ou entre os indivíduos. A falta de conhecimento também pode ser discutida como uma fonte de incerteza, porém, esse fator pode ser reduzido com um estudo mais aprofundado (CASARETT & DOULL, 2013).

Sabe-se que o EE2 é antropogênico, não existindo naturalmente nos corpos hídricos. As concentrações encontradas dessa substância em diferentes mananciais estão relacionadas com as suas entradas contínuas através de efluentes da indústria farmacêutica e das estações de tratamento lançados com ou sem tratamento. Com isso, há a difusão desse composto nas águas superficiais, subterrâneas e até mesmo na água potável. Tal poluente também pode ser encontrado ainda em sedimentos marinhos (LAI *et al.*, 2000), no lixiviado de aterros e no lodo de estações de tratamento de efluente que, uma vez utilizado como fertilizante na agricultura, pode promover a contaminação do solo (TERNES *et. al.*, 2002).

Estudos fornecem evidências sobre os efeitos da exposição ao EE2 no ambiente aquático, tais como, aumento da vitelogenina plasmática em peixes machos e fêmeas, alteração da fisiologia do organismo, diminuição da produção de óvulos e espermatozoides, redução da fertilidade e fecundidade, feminização completa do peixe macho e mudanças comportamentais (ARIS; SHAMSUDDIN; PRAVEENA, 2014).

A alta resistência do EE2 à degradação e a sua maior biodisponibilidade oral no corpo humano são características que o tornam eficaz como contraceptivo (DELCLOS *et al.*, 2009). Essa particularidade, no entanto, também contribui para que esse fármaco seja carregado de forma persistente para o meio ambiente através de águas residuais domésticas, por isso, a possibilidade do EE2 ocorrer em diferentes matrizes ambientais, conforme já apresentado na Tabela 1.

Na União Europeia, os procedimentos de autorização de medicamentos incluem o atendimento das Diretivas da Comissão, que preveem o desenvolvimento de uma abordagem estratégica para a poluição da água por substâncias farmacêuticas. Em 2013, foi proposta a inclusão do EE2 na lista de poluentes emergentes prioritários (Diretiva 2013/39/UE). A proposta de inclusão do EE2 foi devido aos potenciais efeitos nocivos da sua presença no meio aquático. Em 2015, a decisão de execução da Comissão Europeia nº 495 incluiu esse poluente na lista de substâncias a serem observadas que podem ter o seu monitoramento em corpos hídricos sistematizado nos termos de uma

política. Uma vez nessa lista, dados sobre esse poluente devem ser reunidos com a finalidade de apoiar futuros exercícios de priorização (AVAR *et al.*, 2016).

Para a proteção da vida aquática, o Ministério do Meio Ambiente da Província Britânica da Columbia recomendou, em 2009, que a concentração média de 17 $\alpha$ -etinilestradiol em água doce não deveria exceder a 0,5 ng. L<sup>-1</sup>, tendo como base a análise de 5 amostras semanais em um período de 30 dias. Além disso, nenhuma das amostras poderia apresentar valor superior a 0,75 ng. L<sup>-1</sup> (MINISTRY OF ENVIRONMENT PROVINCE OF BRITISH COLUMBIA, 2009).

Laurenson *et al.* (2014) buscaram definir a concentração prevista sem efeito (*Predicted no Effect Concentration* – PNEC) do EE2 para toxicidade aquática crônica, com o objetivo de caracterizar o risco de exposição ambiental. O estudo foi organizado e conduzido utilizando diretrizes de avaliação de risco ecológico aquático estabelecido pela Agência Americana de Administração de Alimentos e Remédios (*Foods and Drugs Administration* – FDA) e pela USEPA. A USEPA geralmente descreve o PNEC baseado no limite de toxicidade mais sensível e cientificamente aceitável disponível para um determinado táxon. Esse valor é estabelecido para proteger geralmente mais do que 95% das espécies dentro de uma comunidade aquática, sob o pressuposto de que alguma perda de espécie ( $\leq 5\%$ ) seja tolerável devido às redundâncias funcionais entre as espécies. O resultado de tal estudo foi uma PNEC igual a 0,1 ng. L<sup>-1</sup> de EE2 para toxicidade aquática crônica (LAURENSEN *et al.*, 2014).

Essa concentração foi superior à estabelecida pela Comissão Europeia (2012) de 0,035 ng. L<sup>-1</sup>, menor que a do Ministério do Meio Ambiente da Província Britânica da Columbia (2009) de 0,5 ng. L<sup>-1</sup> e igual à do *Center for Drug Evaluation and Research* – CDER/FDA (2011) (LAURENSEN *et al.*, 2014).

Sabe-se que a cadeia alimentar é subdividida em níveis tróficos. Os organismos que constituem a base da cadeia alimentar, ou seja, o primeiro nível trófico, é representado pelos autótrofos por serem produtores de alimentos. Já o segundo nível trófico é representado pelos consumidores ou heterótrofos. Os organismos que se alimentam dos produtores são os consumidores primários, os organismos que se alimentam desses, são os consumidores secundários e os que se alimentam dos secundários são os consumidores terciários e assim sucessivamente (PAZ, 2006).

Silva (2015) apresenta uma revisão bibliográfica de diversos estudos realizados com diferentes metodologias para a definição da Concentração de Efeito Observado (CEO) para EE2, em animais do segundo e do terceiro níveis tróficos da cadeia

alimentar aquática demonstrados nas Tabelas 3 e 4. A CEO é definida como a menor concentração de uma substância capaz de causar algum efeito deletério estatisticamente significativo nos organismos, em um determinado tempo de exposição e nas condições do teste.

Segundo Silva (2015) a média dos valores de CEO do 17- $\alpha$  etinilestradiol são maiores para os animais representantes do segundo nível trófico (0,50 a 2.106,67  $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) do que para os do terceiro nível trófico (0,00095 a 14,96  $\mu\text{g. L}^{-1}$ ). Sendo os valores mínimos e máximos de CEO iguais a 0,0001 e 3.100  $\mu\text{g. L}^{-1}$ , para o segundo nível trófico, e 0,00003 e 296,43  $\mu\text{g. L}^{-1}$  para o terceiro nível trófico, respectivamente, como mostra a Tabela 3.

Essa tendência pode ser explicada pelo fato dos consumidores secundários serem representados pelos vertebrados, animais que apresentam semelhanças genéticas e morfológicas no metabolismo dos estrógenos, sendo assim, mais sensíveis à ação deste desregulador endócrino (SILVA, 2015). Além disso, a maior parte dos vertebrados tem todas as fases de vida no ambiente aquático, de onde se conclui a exposição contínua desses organismos a esses contaminantes. O mesmo não ocorre com os invertebrados, que compõem grande parte dos consumidores primários, onde parte de ciclo de vida é terrestre. Ao final, muitos consumidores secundários podem estar no topo da cadeia alimentar aquática e tendem a bioacumular poluentes (SILVA, 2015). Sendo assim, em uma perspectiva macro, esses fatores atuam conjuntamente determinando a maior vulnerabilidade dos consumidores secundários à ação do EE2 em ambientes aquáticos (SILVA, 2015).

**Tabela 3.** Animais representantes do segundo e do terceiro nível trófico da cadeia alimentar aquática dos estudos representados na Tabela 4.

Segundo nível trófico		Terceiro nível trófico	
Consumidores primários		Consumidores secundários	
Água salgada	Água doce	Água salgada	Água doce
<i>Tisbe battagliai</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Oryzias melastigma</i>	<i>Lithobates clamitans ssp.</i>
<i>Saccostrea glomeratae</i>	<i>Hyalella azteca</i>	<i>Pomatoschistus minutus</i>	<i>Lithobates pipiens</i>
<i>Mytilus edulis</i>	<i>Chironomus riparius</i>	<i>Fundulus heteroclitus</i>	<i>Lithobates septentrionalis</i>
	<i>Bithynia tentaculata</i>	<i>Syngnathus abaster</i>	<i>Rana temporária</i>
	<i>Marisa cornuarietis</i>	<i>Zoarces viviparus</i>	<i>Xenopus tropicalis</i>
	<i>Radix balthica</i>	<i>Cyprinodon variegatus</i>	<i>Xenopus laevis</i>
	<i>Potamopyrgus antipodarum</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	<i>Rana catesbeiana</i>
		<i>Lipophrys pholis</i>	<i>Alburnus tarichi</i>
			<i>Clarias gariepinus</i>
			<i>Etheostoma caeruleum</i>
			<i>Gobiocypris rarus</i>
			<i>Melanotaenia fluviatilis</i>
			<i>Oreochromis niloticus</i>
			<i>Rutilus rutilus</i>
			<i>Catostomus commersoni</i>
			<i>Danio rerio</i>
			<i>Oryzias latipes</i>
			<i>Pimephales promelas</i>
			<i>Poecilia reticulata</i>
			<i>Salmo trutta</i>
			<i>Salvelinus namaycush</i>
			<i>Cyprinus carpio</i>
			<i>Oncorhynchus mykiss,</i>
			<i>Salmo salar</i>
			<i>Carassius auratus</i>
			<i>Gambusia affinis</i>

Fonte: SILVA, 2015 (Adaptado).

**Tabela 4.** Média dos valores de CEO para o 17- $\alpha$  etinilestradiol em animais do segundo e do terceiro nível trófico da cadeia alimentar aquática descritos na literatura.

Efeito	Consumidores Primários				Consumidores Secundários			
	Segundo Nível Trófico				Terceiro Nível Trófico			
	CEO ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ )				CEO ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ )			
	Média	Mínima	Máxima	N	Média	Mínima	Máxima	N
Celular	--	--	--	--	1,94	0,0025	10	21
População	380,00	20	740	2	<b>0,00095</b>	0,00018	0,1	19
Genético	4,53	0,004	10	4	1,92	0,00005	296,43	247
Reprodução	401,25	0,0001	1000	16	0,09	0,00005	2	86
Desenvolvimento	<b>2.106,67</b>	100	3100	6	1,42	0,00005	10	39
Bioquímico	333,37	0,05	1000	3	0,21	0,0001	10	133
Enzimático	--	--	--	--	<b>14,96</b>	0,005	51,38	12
Crescimento	211,43	0,0001	740	7	0,25	0,00018	10	51
Morfológico	<b>0,50</b>	0,50	0,50	2	0,98	0,00003	50	85
Fisiológico	10,00	--	--	1	--	--	--	--
Comportamento	--	--	--	--	0,01	0,0005	0,025	16
Histológico	0,50	--	--	1	0,03	0,0007	0,1	11
Hormonal	--	--	--	--	0,56	0,002	2,96	24
Injúria	--	--	--	--	10,00	--	--	--
Total				42				745

Fonte: SILVA, 2015. Nota: N - Número de estudos.

### 3.7 METODOLOGIAS DE ANÁLISE DE EE2

As técnicas analíticas para detecção de desreguladores endócrinos em matrizes ambientais avançaram significativamente nos últimos anos. Um obstáculo crítico para a detecção dessas substâncias são os baixos níveis de concentração e a complexidade da matriz, rica em componentes indesejáveis que podem interferir na identificação das baixas concentrações dos analitos. Assim, técnicas laboriosas de preparação das amostras são necessárias, na tentativa de aperfeiçoar o método analítico (HUERTA, RODRÍGUEZ-MOZAZ, & BARCELÓ, 2012).

A metodologia analítica, mais adotada, relatada pela literatura para determinação de hormônios estrogênicos é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS). A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica cromatográfica indispensável

para a detecção de compostos voláteis ou semivoláteis. Uma desvantagem desse método é que se deve evitar a injeção direta da matriz aquosa, devido à provável degradação do desempenho do sistema e das colunas. Logo, exigem-se etapas de preparação das amostras, derivação e/ou extração, e esses processos de tratamento podem acarretar na introdução de erros na análise (LAFLEUR & SCHUG, 2011).

A espectrometria de massas (MS) é o método mais adequado para detecção e quantificação simultânea de misturas de diferentes desreguladores endócrinos em matrizes aquosas, porque proporciona seletividade e sensibilidade para analisar amostras complexas. Isso porque, a espectrometria de massas apresenta duas vantagens que a distingue das demais técnicas: sua detecção é seletiva pela massa de cada composto e ela está sujeita a menos interferências de outros compostos (LAFLEUR & SCHUG, 2011).

A necessidade de analisar amostras aquosas complexas de forma direta pode ser realizada por métodos de separação de fase líquida, incluindo a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a eletroforese capilar. A combinação da HPLC com espectrometria de massa (HPLC-MS) tem sido utilizada com frequência em pesquisas recentes, devido à sensibilidade, especificidade e velocidade que o detector pode oferecer (LAFLEUR & SCHUG, 2011). Outros detectores como, índice de refração, ultravioleta, arranjo de diodos, fluorescência, quimiluminescência e eletroquímico também são utilizados para análise de desreguladores endócrinos. No entanto, essas técnicas apresentam menor sensibilidade quando comparadas aos métodos por massas (LAFLEUR & SCHUG, 2011), apesar de poderem ser específicas quando se deseja determinar somente o EE2.

Assim, a espectrometria de massa é amplamente considerada como a mais sensível. A principal vantagem do HPLC-MS em relação ao CG-MS é que a determinação dos níveis traço de desreguladores endócrinos pode ser feita sem o processo de derivatização da amostra (LAFLEUR & SCHUG, 2011). Porém, tanto a CG-MS quanto a HPLC-MS podem ser afetadas por interferências da matriz, que podem reduzir a sensibilidade e aumentar consideravelmente os limites de detecção desses métodos analíticos (LAFLEUR & SCHUG, 2011).

Alternativamente, os imunoenaios têm sido utilizados para quantificação de hormônios estrogênicos em matrizes aquosas. O método ELISA utiliza o conceito básico de imunologia de uma ligação do antígeno ao seu anticorpo específico, o que

permite a detecção de concentrações mínimas de antígenos (MANICKUM & JOHN, 2015).

O ELISA utiliza antígenos e anticorpos marcados com enzimas para detectar moléculas biológicas. Neste sistema, o antígeno presente na amostra compete com o antígeno acoplado a uma enzima pela ligação aos anticorpos, que por sua vez, estão impregnados nos poços da microplaca. Quando este antígeno se liga ao anticorpo específico, a enzima se desprende e cliva um substrato cromogênico produzindo uma mudança na cor do meio. Alguns métodos utilizam alterações de cor sensíveis a região do visível outras na região do UV. Este indicativo pode mostrar a presença ou a ausência do antígeno no meio. Dessa forma, as medidas quantitativas e qualitativas podem ser avaliadas com base nas leituras colorimétricas (MANICKUM & JOHN, 2015).

Hirobe *et al.* (2004) fizeram uma comparação entre o método ELISA com os métodos HPLC, CG-MS e LC-MS/MS e observou uma boa correlação entre eles. A superestimação causada pela influência das matrizes, considerada como um problema inerente ao método ELISA, pode ser eliminada a partir de um pré-tratamento adequado da amostra e na escolha adequada dos anticorpos (HIROBE, 2004 *apud* MANICKUM & JOHN, 2015). Além do mais, outros estudos comparativos realizados recentemente confirmam que o método ELISA tem uma precisão imuno-analítica bastante aceitável (MANICKUM & JOHN, 2013; MANICKUM, JOHN & TERRY, 2011).

As técnicas químico-analíticas, como HPLC, GC-MS, LC-MS e LC-MS-MS, embora sejam altamente confiáveis, apresentam várias desvantagens, incluindo a instrumentação cara, o grande volume de amostra, a purificação extensiva, a utilização de grandes quantidades de solventes, a necessidade de experiência técnica e de tempo para operação (MANICKUM & JOHN, 2015). Por outro lado, o método ELISA oferece vantagens consideráveis em relação aos procedimentos convencionais, devido à sua sensibilidade, rapidez de análise, requer pequenos volumes de amostras, facilidade de manipulação e de execução dos procedimentos de pré-tratamento da amostra, baixo limite de quantificação e custos aceitáveis. Desse modo, ela pode contribuir para o monitoramento de rotina de EE2 no meio ambiente (MANICKUM & JOHN, 2015).

Em 2008, a USEPA reconheceu o método ELISA como uma técnica a ser utilizada em seus laboratórios regionais, por ser um método potencialmente mais rápido e econômico do que o CG-MS (MANICKUM & JOHN, 2015). E em 2010, em atendimento à regra de monitoramento de contaminantes não regulados, a USEPA divulgou o método de extração de fase sólida e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com ionização por *electrospray* para determinação de hormônios estrogênicos em água potável. Nesse método, o limite de detecção para o EE2 é de 0,33 ng. L<sup>-1</sup> e o de quantificação, 1,3 ng. L<sup>-1</sup> (USEPA, 2010).

Deste modo, na literatura, observa-se que inúmeros trabalhos vêm sendo realizados com diversas metodologias para quantificação do EE2 em matrizes aquosas, havendo variações nos limites de detecção de acordo com a metodologia adotada, como mostra a Tabela 5.

**Tabela 5.** Métodos para determinação de EE2 em matrizes aquosas.

Método	Matriz	Limite de detecção (ng. L <sup>-1</sup> )	Referência
CG-MS	Água superficial	50	MOL <i>et al.</i> , 2000
CG-MS	Água de rio, água potável, efluente	0,02 – 0,1	KUCH <i>et al.</i> , 2001
CG-MS	Efluente	1,5 – 172	FERNANDEZ <i>et al.</i> , 2002
CG-MS/MS	Água ultrapura	0,25	NOPPE <i>et al.</i> , 2007
HPLC-MS/MS	Água deionizada	1,0	VANDERFORD <i>et al.</i> , 2003
HPLC-MS/MS	Água superficial	0,1 – 3,1	ISOBE <i>et al.</i> , 2003
HPLC-MS/MS	Água superficial	0,1 – 0,4	LAGANA <i>et al.</i> , 2004
HPLC-MS/MS	Efluente	0,4 – 2	FARRE <i>et al.</i> , 2007
HPLC-MS/MS	Água e efluente	0,4 - 0,7	SALVADOR <i>et al.</i> , 2007
HPLC-MS/MS	Água deionizada e efluente	0,3 – 0,6	TRENHOLM <i>et al.</i> , 2008
HPLC-MS/MS	Água superficial e efluente	3 – 50	VIGLINO <i>et al.</i> , 2008
HPLC-MS/MS	Água milli-Q e água de rio	0,03 – 0,85	KUSTER <i>et al.</i> , 2009
LC-ESI-MS/MS	Água potável	0,33	USEPA, 2010
ELISA	Efluente, água potável, água bruta	0,2 – 5	SWART & POOL, 2007

Fonte: LAFLEUR & SCHUG, 2011 (Adaptado).

#### 4. ÁREA DE ESTUDO

Situado no Planalto Central, o Distrito Federal possui uma rede hidrográfica formada por nascentes, córregos e ribeirões de pequeno porte. Desde a criação de Brasília, era reconhecida a necessidade de fontes alternativas para a captação de água. A construção da barragem do Paranoá, além de gerar energia e compor a paisagem, tornou-se também uma opção de captação futura para garantia do abastecimento público da cidade.

O Lago Paranoá está situado na bacia do Paranoá, formado a partir do fechamento da barragem do Rio Paranoá, que represou as águas dos córregos Riacho Fundo, Bananal, Cabeça de Veado, Ribeirão do Torto, Ribeirão do Gama, e de outros tributários menores. Ela possui uma área superficial de 48 km<sup>2</sup> e profundidade média de 12 m (FONSECA, 2001).

Devido ao aumento da demanda de uso dos principais mananciais do Distrito Federal, Descoberto e Santa Maria/Torto, iniciaram-se estudos para a utilização do Lago Paranoá como fonte de abastecimento de água. Em 2009, a Agência Nacional de Águas (ANA) no uso das suas atribuições, concedeu à Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB) por meio da Resolução ANA nº 158, de 3 de setembro de 2009, uma outorga de 2,8 m<sup>3</sup>/s para captação de água no Lago Paranoá, com a finalidade de abastecimento público.

O instrumento de outorga prevê que essa estrutura de captação seja instalada próximo à barragem do Paranoá. No entanto, ainda não foi iniciada a construção desse empreendimento. Dessa forma, devido à urgência instaurada pela conjuntura da crise hídrica, a implantação de uma estação de tratamento de água no braço do Torto, do Lago Paranoá (Estação de Tratamento de Água Lago Norte), tratou-se de uma solução emergencial para inserção da água tratada no sistema de adutoras já existente (ADASA, 2017).

Os reservatórios do Descoberto e de Santa Maria são responsáveis pelo abastecimento de cerca de 80% da população do Distrito Federal. Além disso, pequenos sistemas com captação a fio d'água ou com poços tubulares profundos complementam a necessidade de água para abastecimento da população (CAESB, 2014a). Devido à crise hídrica que atingiu o Distrito Federal, em novembro de 2016, por meio da publicação da Resolução ADASA nº 20, de 07 de novembro de 2016, foi declarado o estado de restrição de uso dos recursos hídricos e estabelecido o regime de racionamento do

serviço de abastecimento de água nas localidades atendidas pelos reservatórios do Descoberto e Santa Maria. Com o agravamento dessa crise, em janeiro de 2017, o governo declarou situação de emergência no Distrito Federal, por meio da publicação do Decreto Distrital nº 37.976, de 24 de janeiro de 2017.

Visando ao controle da situação de risco de colapso dos reservatórios do Distrito Federal foi apontada como uma das soluções a transferência de água do Sistema Santa Maria/Torto para o Sistema Descoberto haja vista a possibilidade do uso de um sistema de adução existente entre eles, que operaria no modo reverso ao usualmente utilizado. Diante desse contexto, a instalação de uma captação emergencial no Lago Paranoá apresentou-se como a melhor solução em menor tempo, pois garantiria um volume de captação adicional que permitiria a realização dessa transferência entre os sistemas (ADASA, 2017).

O braço do Torto, situado na região do Lago Norte, foi escolhido como o local para a instalação da captação emergencial devido à possibilidade de transferência da água captada e tratada do Lago Paranoá para a elevatória ETA Brasília. Com isso, o Subsistema Lago Norte passou a ser abastecido pela ETA, reduzindo assim, a demanda de água no reservatório Santa Maria (ADASA, 2017).

Sabe-se que o Lago Paranoá é responsável pela diluição do esgoto tratado de três estações de tratamento do Distrito Federal: ETE Riacho Fundo, ETE-Norte e ETE-Sul, além de receber o aporte da rede de drenagem pluvial da região central de Brasília.

A ETE-Sul foi projetada para uma população de 460 mil habitantes, considerando uma vazão média de projeto igual  $1.500 \text{ L. s}^{-1}$  e atende as regiões administrativas do Guará, Cruzeiro, Núcleo Bandeirante, Candangolândia, Lago Sul, parte de Brasília (Asa Sul e Setor de Clubes e Hotéis Sul), a quadra QN1 do Riacho Fundo, Setor de Indústria e Abastecimento (SIA), Setor Complementar de Indústria e Abastecimento (SCIA), Sudoeste, Octogonal e parte de Águas Claras (CAESB, 2014b).

A ETE-Norte atende as regiões administrativas do Lago Norte, parte de Brasília (Asa Norte, Vila Planalto, Setor de Clubes e Hotéis Norte), Varjão e Taquari, sendo projetada para cerca de 250 mil habitantes, com uma vazão média de projeto igual  $920 \text{ L/s}$  (CAESB, 2014b). Já a ETE Riacho Fundo foi projetada para 43 mil habitantes, com uma vazão média de projeto igual a  $94 \text{ L. s}^{-1}$  e atende o Riacho Fundo (com exceção da quadra QN 1), o Setor Industrial CSG de Taguatinga e o Setor de Mansões de Samambaia (CAESB, 2014b).

As ETEs Sul e Norte operam com um sistema constituído por lodos ativados modificado, denominado sistema Bardenpho, onde promove a remoção biológica de nutrientes (nitrogênio e fósforo), seguida de um polimento final físico-químico através de coagulação-floculação e flotação. O tratamento em nível terciário com remoção principalmente de fósforo objetiva proteger a qualidade das águas do Lago contra o processo de eutrofização (CAESB, 2014b). Como a ETE Riacho Fundo também pertence à bacia de drenagem do Lago Paranoá, seu sistema de tratamento também é terciário (remoção de nutrientes), operando por reatores aeróbios em batelada (CAESB, 2014b).

A Estação de Tratamento de Água Lago Norte iniciou sua operação em 2017. Essa estação tem capacidade de produzir até  $700 \text{ L. s}^{-1}$  de água tratada, sendo constituída pelos sistemas de filtração por filtro disco (pré-tratamento), de ultrafiltração (membranas) e de dosagem química de cloro para desinfecção da água filtrada (CAESB, 2018).

Em estudo realizado nos anos de 2009 e 2010, para avaliação da influência de disruptores endócrinos, medicamentos e produtos de higiene pessoal na qualidade da água do Lago Paranoá, para fins de abastecimento público, constatou-se a presença de micropoluentes que podem acarretar efeitos negativos ao homem e à biota. No entanto, em concentrações, que não representavam riscos (CAESB, 2013).

ABBT-BRAUN *et al.* (2014) verificaram que os contaminantes emergentes não foram observados em quantidades significativas no Lago Paranoá. Contudo, os autores ressaltaram que esses poluentes possuem a tendência de se acumularem, já que esse corpo hídrico recebe continuamente efluentes advindos de estações de tratamento que não dispõem de processos de tratamento para a remoção desses compostos. Além disso, Majewsky *et al.* (2014) constataram uma tendência de um lento aumento de micropoluentes emergentes no Lago Paranoá, sem perspectiva de alcance de um estado estacionário até o ano de 2060.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 COLETA, ARMAZENAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram realizadas duas campanhas de coleta em 2018, uma no mês de abril, em que ocorreu uma precipitação acumulada mensal de 86,9 mm (caracterizando o período chuvoso), e outra no mês de junho, em que não houve registro de precipitação (caracterizando o período seco). Estes dados pluviométricos foram coletados da estação meteorológica situada na barragem do Lago Paranoá (ANA, 2018).

Em cada campanha foram coletadas amostras em 13 pontos, conforme mostrado na Figura 4, com as suas respectivas coordenadas descritas na Tabela 6.

Os pontos de coleta no Lago Paranoá localizaram-se nas proximidades do lançamento dos efluentes tratados das ETEs Sul e Norte (P1, P2, P3 e P4), no exutório do córrego Riacho Fundo (P6) – corpo hídrico receptor dos efluentes da ETE Riacho Fundo, próximo à barragem do Paranoá (P5) – local para onde todas as águas da bacia de drenagem fluem e por estar próximo à instalação da futura captação definitiva para abastecimento público e próximo à bomba de captação (P4) da recém inaugurada Estação de Tratamento de Água (ETA Lago Norte).

As coletas nos pontos do Lago Paranoá foram realizadas com o auxílio de um barco. Já, as amostragens no exutório do córrego Riacho Fundo foram realizadas na margem, devido ao assoreamento desse corpo hídrico. Todas essas amostras foram coletadas na camada superficial.

No mesmo dia, foram coletadas amostras de esgoto bruto e dos efluentes tratados das ETEs Riacho Fundo, Sul e Norte, bem como da água tratada proveniente da ETA Lago Norte (P7 a P13).

As amostras de água coletadas no Lago Paranoá foram caracterizadas em campo com relação ao oxigênio dissolvido (OD), condutividade, pH, turbidez e temperatura com o uso da sonda multiparamétrica EXO 1 (YSI). Essas amostras também foram caracterizadas pela carga colimétrica utilizando a técnica de tubos múltiplos como recomendado pelo *Standart Methods* (APHA, 2012).

As características físico-químicas e microbiológicas das amostras de esgoto bruto, efluente tratado e água tratada foram cedidas pela Companhia de Saneamento de Brasília (CAESB).

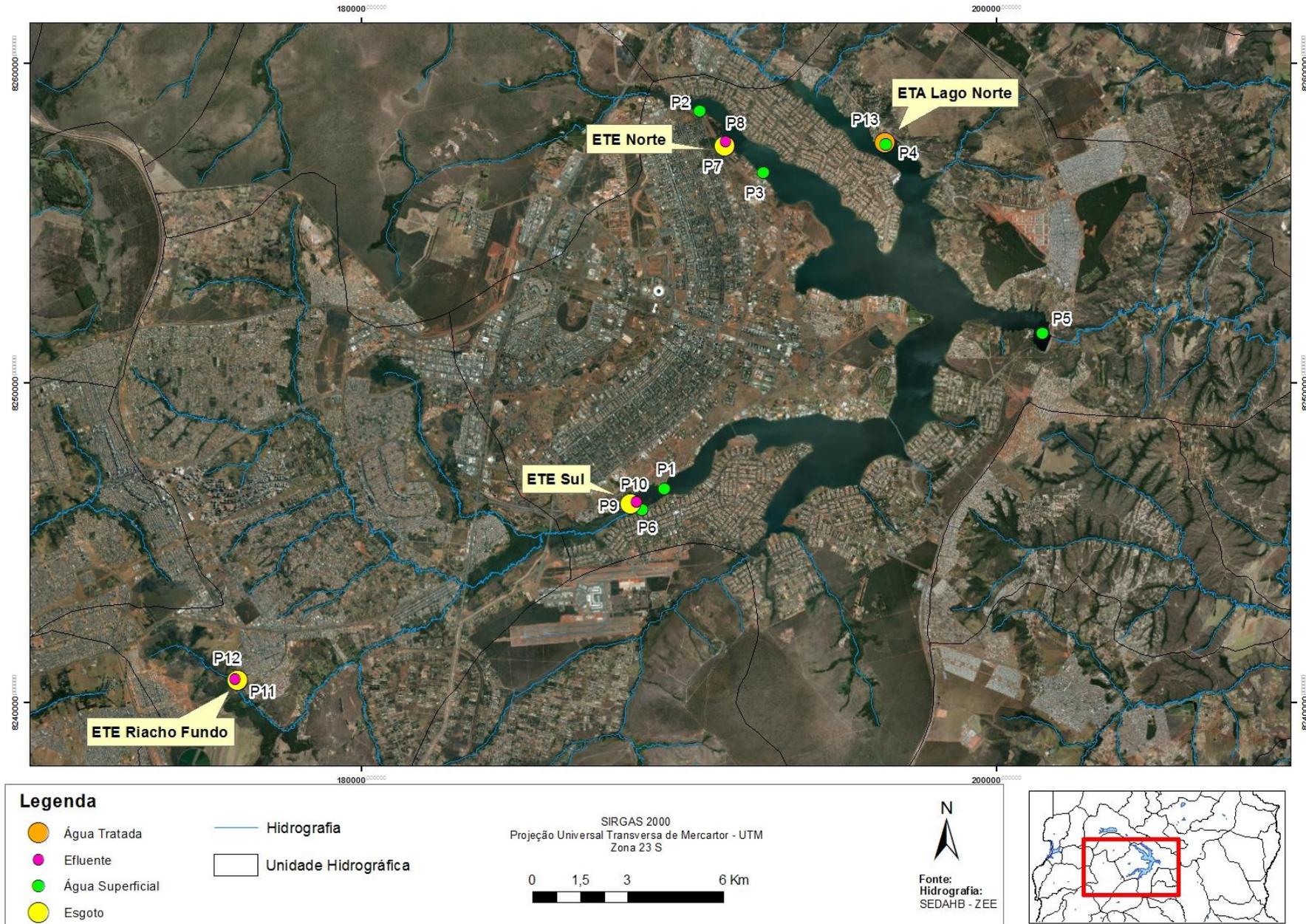
Todas as amostras coletadas foram armazenadas em frascos de vidro âmbar e acondicionadas à 4° C, em câmara fria até o momento de sua análise. As análises foram realizadas no mês de novembro de 2018, no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade de Brasília (UnB).

**Tabela 6.** Denominação e localização dos pontos de coleta das amostras.

Denominação do ponto	Coordenadas geográficas	Descrição da localização
Ponto 1 (P1)	15° 50' 21.02''S 47° 53' 53.82''O	Ponte das Garças
Ponto 2 (P2)	15° 43' 57.48''S 47° 53' 10.57''O	Calçadão da Asa Norte
Ponto 3 (P3)	15° 45' 00.81''S 47° 52' 04.79''O	Minas Tênis Clube
Ponto 4 (P4)	15° 44' 34.47''S 47° 49' 54.85''O	Ponto de captação
Ponto 5 (P5)	15° 47' 48.58''S 47° 47' 11.44''O	Barragem do Lago Paranoá
Ponto 6 (P6)	15° 50' 41.96''S 47° 54' 18.21''O	Exutório do córrego Riacho Fundo
Ponto 7 (P7)	15° 44' 29.28''S 47° 52' 41.20''O	Esgoto ETE Norte
Ponto 8 (P8)	15° 44' 29.28''S 47° 52' 41.20''O	Efluente ETE Norte
Ponto 9 (P9)	15° 50' 33.34''S 47° 54' 26.35''O	Esgoto ETE Sul
Ponto 10 (P10)	15° 50' 33.34''S 47° 54' 26.35''O	Efluente ETE Sul
Ponto 11 (P11)	15° 53' 28.61''S 48° 01' 30.88''O	Esgoto ETE Riacho Fundo
Ponto 12 (P12)	15° 53' 28.61''S 48° 01' 30.88''O	Efluente ETE Riacho Fundo
Ponto 13 (P13)	15° 44' 31.42''S 47° 49' 54.82''O	ETA Lago Norte

Fonte: Elaborado pela autora.

**Figura 4.** Localização dos pontos de coleta das amostras.



Fonte: Elaborado pela autora.

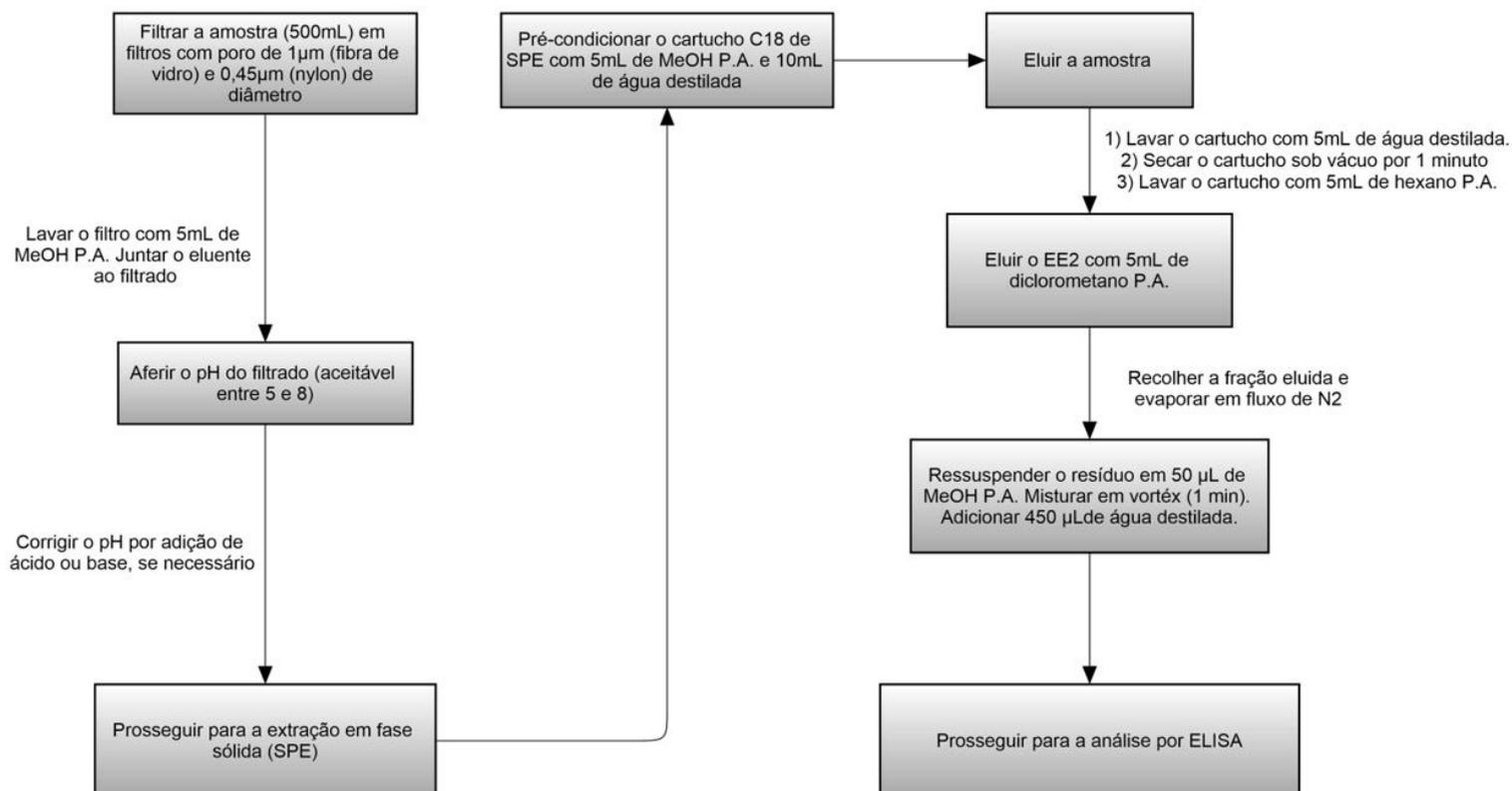
## 5.2 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DO EE2

As amostras foram analisadas em duplicata para a quantificação do EE2 a partir do ensaio de imunoadsorção enzimática ELISA (kit Abraxis Ecologiena, Tokiwa Chemical Industries, Tóquio/ Japão). Teste é validado e aceito pela USEPA (2009). E esse kit tem uma sensibilidade de análise quantitativa de EE2 no intervalo entre 0,05 a 3  $\mu\text{g. L}^{-1}$ .

Esta metodologia é caracterizada como um teste ELISA competitivo e direto. Competitivo, pois o 17- $\alpha$  etinilestradiol presente na amostra compete com o 17- $\alpha$  etinilestradiol conjugado à enzima peroxidase (presente na solução conjugada), pela ligação aos anticorpos monoclonais anti-17- $\alpha$  etinilestradiol, que por sua vez estão impregnados nos poços da microplaca (LUCENA, 2013). Também é direto pois, na ausência ou em baixas concentrações do estrogênio na amostra (abaixo do limite de quantificação), a interação com os anticorpos ocorrerá pelo 17- $\alpha$  etinilestradiol da solução conjugada. Isto gera a enzima na forma livre que é capaz de interagir com o substrato tetrametilbenzidina, metabolizando-o e gerando a cor azul. Esta cor é levada à amarela quando da adição da solução de parada (ácido sulfúrico diluído) (LUCENA, 2013). Assim, quanto maior a intensidade da cor produzida (medida a 450 nm em leitora ELISA) menor a concentração de 17- $\alpha$  etinilestradiol nas amostras (LUCENA, 2013).

Com a finalidade de ampliar o limite de quantificação do método analítico, as amostras foram concentradas em 1.000 vezes. Devido aos aspectos heterogêneos existentes entre as diferentes matrizes aquosas analisadas (água bruta, água tratada, efluente e esgoto), todas as amostras foram submetidas a um pré-tratamento (Figura 5). Deste modo, 500 mL das amostras foram filtrados por duas vezes em membrana de fibra de vidro com poros de 1 $\mu\text{m}$  de diâmetro e, posteriormente, por uma membrana de nylon de 0,45  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Ao término da filtração, as membranas utilizadas foram lavadas com 5 mL de metanol (para recuperação do EE2 adsorvido aos filtros) e esse eluente foi incorporado ao filtrado.

**Figura 5.** Fluxograma da metodologia de pré-tratamento das amostras.



Fonte: Elaborado pela autora.

Ao final desse processo, foi confirmado se o pH do filtrado estava entre 5 e 8. Todos os filtrados das amostras atenderam o limite de pH, não sendo necessário realizar ajustes com adição de ácido ou base. Em seguida, esse filtrado foi submetido à extração em fase sólida (EFS) com cartuchos C18 (500 mg), com auxílio de vácuo proporcionado pelo sistema *Vacuum Manifold* Supelco® (Figura 7). Os cartuchos foram previamente acondicionados com 5 mL de metanol e 10 mL de água destilada.

Após o processo de eluição, os cartuchos foram lavados com 5 mL de água destilada, secos à vácuo por 1 minuto e lavados com 5 mL de hexano. O EE2 foi eluído com 5 mL de diclorometano e o solvente da fração eluída evaporado em fluxo de gás nitrogênio. O resíduo foi ressuspensionado com a adição de 50 µL de metanol e submetido à agitação em vórtex por um período máximo de 1 minuto. Posteriormente, adicionou-se 450 µL de água destilada. Logo, com o processo de pré-tratamento, a amostra inicial com volume 500 mL ficou com o seu volume final de 500 µL (concentração de 1.000 vezes) para ser utilizada no kit ELISA.

**Figura 6.** Extração em Fase Sólida das amostras com auxílio de sistema *Vacuum Manifold*.



Reconstituiu-se o pó conjugado antígeno-enzima com a solução tampão do kit ELISA. Na sequência, adicionou-se aos poços da placa uma mistura de 100  $\mu$ L da solução conjugada com 100  $\mu$ L dos padrões de EE2 ou com 100  $\mu$ L das amostras. A placa foi incubada por 60 minutos à temperatura ambiente (24° C).

Após a incubação, a placa foi lavada com 300  $\mu$ L de solução, preparada com a diluição de 17 mL de solução de lavagem do kit ELISA com 85 mL de água destilada. Esse procedimento de lavagem foi realizado por três vezes.

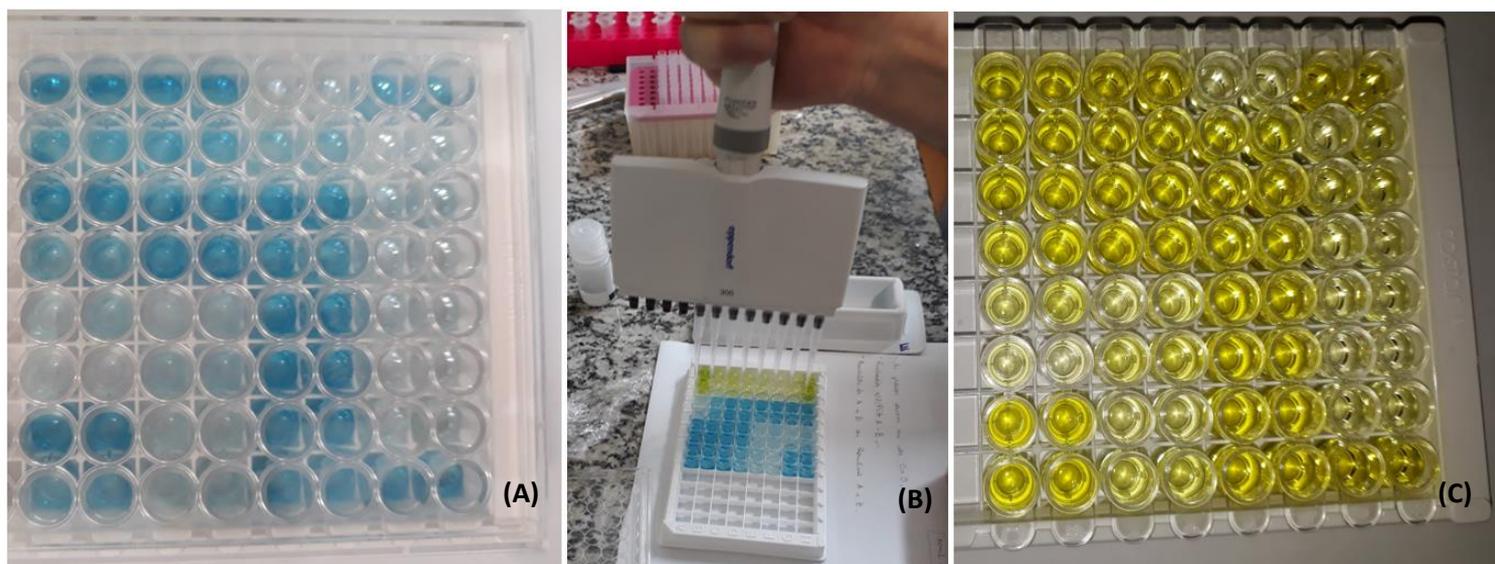
Em seguida, adicionou-se 100  $\mu$ L da solução colorida do kit ELISA em cada poço e a placa foi incubada a temperatura ambiente (24° C) por mais 30 minutos (Figura 7(A)). Logo depois, adicionou-se a solução de parada (Figura 7(B)) do kit ELISA para finalizar a reação (Figura 7(C)). Ao final, a placa foi submetida à leitura da absorbância a 450 nm, em leitora de placas Perkin Elmer Enspire ® 2300.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DO RISCO DE EXPOSIÇÃO INVOLUNTÁRIA AMBIENTAL AO EE2

A caracterização do risco de exposição involuntária ambiental ao 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) foi realizada por meio da comparação das concentrações quantificadas nas amostras de água do Lago Paranoá e na água tratada proveniente da ETA Lago Norte, com as concentrações médias de efeito observado descritas na

literatura para animais aquáticos representantes do segundo e do terceiro nível trófico como mostra a Tabela 7 (SILVA, 2015).

**Figura 7.** Visualização da placa de ELISA (A) após o período de incubação, (B) durante a adição da solução de parada e (C) após a adição da solução de parada e antes da leitura da absorbância.



**Tabela 7.** Concentrações médias de efeito observado (CEO) de 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) em organismos aquáticos.

Consumidores Primários			Consumidores Secundários		
Segundo Nível Trófico			Terceiro Nível Trófico		
CEO ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ )			CEO ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ )		
Média	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima
0,5 – 2.106	0,0001	3.100	0,00095 – 14,96	0,00003	296,43

Fonte: (SILVA, 2015) Adaptado.

Este risco também foi caracterizado por meio da comparação dos resultados quantificados do EE2 nas amostras de água do Lago Paranoá e da ETA Lago Norte, com as concentrações previstas sem efeito propostas pelo *Ministry of Environment Province of British Columbia*, pelo *Center for Drug Evaluation and Research (FDA)* e pela Comissão Europeia como mostra a Tabela 8.

**Tabela 8.** Concentrações previstas sem efeito estabelecidas para o EE2.

Entidade governamental	Ano	Concentração prevista sem efeito (ng. L <sup>-1</sup> )
<i>Ministry of Environment Province of British Columbia</i>	2009	0,5
<i>Center for Drug Evaluation and Research – FDA</i>	2011	0,1
Comissão Europeia	2012	0,035

Fonte: Elaborado pela autora.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DO LAGO PARANOÁ

A Tabela 9 apresenta os resultados analíticos físico-químicos e microbiológicos das amostras coletadas no Lago Paranoá.

Os seis pontos apresentaram pH ligeiramente alcalino. A temperatura em todos os pontos no mês de junho (período seco) foi um pouco inferior à do mês de abril (período chuvoso). Por outro lado, a condutividade, em todas as amostras, foi menor em abril do que em junho.

De forma geral, em todos os pontos analisados foi detectado a presença de coliformes totais e de *E.coli*, sendo que, no mês de abril, as suas respectivas concentrações foram maiores. Destaca-se ainda, que os pontos P1, P2 e P6 apresentaram as maiores cargas microbianas.

**Tabela 9.** Resultados analíticos físico-químicos e microbiológicos.

Denominação do ponto	Descrição da localização	Mês	pH	Temperatura (°C)	Oxigênio Dissolvido (mg. L <sup>-1</sup> )	Condutividade (µS/cm)	Turbidez (NTU)	Coliformes totais (NMP/100mL)	<i>E.coli</i> (NMP/100mL)
Ponto 1 (P1)	Ponte das Garças	Abril	8,31	25,11	5,65	123	25,40	6x10 <sup>4</sup>	< 1,8x10 <sup>4</sup>
		Junho	7,77	24,00	7,18	169	4,82	1,1x10 <sup>3</sup>	< 2,4x10 <sup>2</sup>
Ponto 2 (P2)	Calçadão da Asa Norte	Abril	8,82	25,14	6,29	120	1,10	>1,7x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>
		Junho	7,48	23,56	7,27	151	2,37	4,6x10 <sup>2</sup>	4,3x10 <sup>1</sup>
Ponto 3 (P3)	Minas Tênis Clube	Abril	8,89	25,25	6,18	111	0,70	1,4x10 <sup>2</sup>	1,7x10 <sup>1</sup>
		Junho	7,45	22,34	7,20	141	1,44	1,5x10 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>2</sup>
Ponto 4 (P4)	Ponto de captação emergencial	Abril	8,68	25,01	6,07	97	5,00	1,1x10 <sup>2</sup>	1,1x10 <sup>2</sup>
		Junho	7,42	23,21	7,25	131	1,35	< 3,6x10 <sup>1</sup>	< 3,6x10 <sup>1</sup>
Ponto 5 (P5)	Barragem do Lago Paranoá	Abril	8,73	24,68	6,68	102	*	1,4x10 <sup>2</sup>	4,5x10 <sup>1</sup>
		Junho	7,13	22,71	6,58	133	0,83	< 3,6x10 <sup>1</sup>	< 3,6x10 <sup>1</sup>
Ponto 6 (P6)	Exutório do córrego Riacho Fundo	Abril	8,46	21,41	7,66	99	35,20	4x10 <sup>4</sup>	< 1,8x10 <sup>4</sup>
		Junho	8,74	20,23	7,38	113,4	7,56	4,6x10 <sup>4</sup>	9,6x10 <sup>3</sup>

Fonte: Elaborado pela autora. Nota: (\*) Ausência de dado.

## 6.2 CARACTERIZAÇÃO DO ESGOTO BRUTO E TRATADO DAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO

A Tabela 10 apresenta os valores de coliformes totais, sólidos em suspensão, matéria orgânica (demanda bioquímica de oxigênio e demanda química de oxigênio) e fósforo total no esgoto bruto e tratado das ETE Sul, Norte e Riacho Fundo, bem como, as respectivas eficiências de remoção desses contaminantes nos meses de abril e junho de 2018.

As ETEs Norte e Sul apresentaram maiores eficiências do que a Riacho Fundo. De toda forma, as três ETEs apresentaram eficiências acima de 70% para os parâmetros descritos na Tabela 10, nos dois períodos da campanha. Vale destacar ainda, que a ETE Sul é a de maior capacidade funcionando com uma vazão média de  $1.319 \text{ L. s}^{-1}$ , enquanto que a Norte opera com uma vazão média de  $450 \text{ L. s}^{-1}$  e a Riacho Fundo de  $46 \text{ L. s}^{-1}$ . Sabe-se que a remoção de fósforo total é um ponto crítico nesses processos pois os efluentes tratados dessas estações são descartados diretamente no Lago Paranoá e em todas as ETEs os valores médios estavam abaixo de  $1 \text{ mg. L}^{-1}$  nos dois períodos (secos e úmidos).

**Tabela 10.** Estatística descritiva dos parâmetros de qualidade da água analisados e desempenho das ETEs Riacho Fundo, Sul e Norte.

ETE Riacho Fundo									
Parâmetros	Matriz	Abril				Junho			
		Mínimo	Máximo	Média	Desempenho (%)	Mínimo	Máximo	Média	Desempenho (%)
Coliformes Totais (NMP. 100 mL <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	18.700.000	18.700.000	18.700.000	84	12.835.000	12.835.000	12.835.000	71
	Efluente	33.100	2.890.000	1.004.800		114.450	1.866.500	1.241.561	
DBO (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	401,0	555,0	464,8	95	500,0	700,0	626,7	96
	Efluente	2,0	21,0	8,5		2,0	27,0	8,8	
DQO (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	654,1	1078,1	850,7	81	672,2	1177,5	890,9	81
	Efluente	30,0	78,9	53,5		32,4	100,4	64,9	
Fósforo total (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	7,6	10,0	8,8	86	7,9	11,2	9,6	82
	Efluente	0,2	0,9	0,4		0,2	1,4	0,7	
Sólidos suspensos (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	196,0	442,0	292,2	83	72,0	320,0	214,9	69
	Efluente	5,1	46,0	16,6		6,0	77,0	26,0	
ETE SUL									
Parâmetros	Matriz	Abril				Junho			
		Mínimo	Máximo	Média	Desempenho (%)	Mínimo	Máximo	Média	Desempenho (%)
Coliformes Totais (NMP. 100 mL <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	12.100.000	12.100.000	12.100.000	96	23.560.000	23.560.000	23.560.000	99
	Efluente	684.000	684.000	684.000		258.850	258.850	258.850	
DBO (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	248,0	321,0	284,5	98	328,0	420,0	377,0	98
	Efluente	10,0	10,0	10,0		4,0	7,0	5,8	
DQO (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	507,3	661,6	576,6	92	534,9	849,4	678,1	94
	Efluente	32,3	135,5	46,5		33,3	49,3	42,8	
Fósforo total (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	5,9	9,4	7,1	89	7,6	10,7	8,5	97
	Efluente	0,1	4,8	0,7		0,2	0,5	0,3	
Sólidos suspensos (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	148,0	408,0	256,2	93	192,0	402,0	268,3	98
	Efluente	3,1	103,0	18,6		2,4	11,1	5,9	
ETE NORTE									
Parâmetros	Matriz	Abril				Junho			
		Mínimo	Máximo	Média	Desempenho (%)	Mínimo	Máximo	Média	Desempenho (%)
Coliformes Totais (NMP. 100 mL <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	8140.000	8140.000	8140.000	99	20.055.000	20.055.000	20.055.000	98
	Efluente	128.000	128.000	128.000		403.267	403.267	403.267	
DBO (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	255,0	377,0	317,8	94	449,0	612,0	522,0	96
	Efluente	1,0	4,0	2,5		2,0	8,0	4,3	
DQO (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	373,7	954,6	612,3	94	572,2	1150,3	838,6	96
	Efluente	28,9	60,4	38,3		34,5	43,6	39,8	
Fósforo total (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	5,5	9,6	7,3	96	7,6	10,6	9,0	98
	Efluente	0,2	0,6	0,3		0,0	0,3	0,2	
Sólidos suspensos (mg. L <sup>-1</sup> )	Esgoto bruto	164,0	384,0	272,7	97	204,0	680,0	382,0	98
	Efluente	4,8	24,0	9,4		4,4	16,5	8,3	

Fonte: Elaborado pela autora a partir de dados disponibilizados pela Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal – CAESB.

### 6.3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA TRATADA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO LAGO NORTE

A Tabela 11 apresenta os valores dos parâmetros prioritários da qualidade da água tratada pela ETA Lago Norte, ao longo dos meses de abril e junho. Os valores atenderam ao preconizado pela Portaria nº 2.914/2011.

**Tabela 11.** Estatística descritiva dos parâmetros de qualidade da água da saída do tratamento da ETA Lago Norte.

Parâmetros	Abril			Junho			Portaria nº 2.914/2011
	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média	
Coliformes Totais (P-A/100 mL)	0	0	0	0	0	0	Ausência em 100mL
E.coli (P-A/100 mL)	0	0	0	0	0	0	Ausência em 100mL
Turbidez (uT)	0	0	0	0	0	0	5
Cor aparente (uH)	1	1	1	1	1	1	15
Cloro residual livre (mg/L)	1,23	1,72	1,46	0,93	1,73	1,31	≤ 5

Fonte: Elaborado pela autora a partir de dados disponibilizados pela Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal – CAESB.

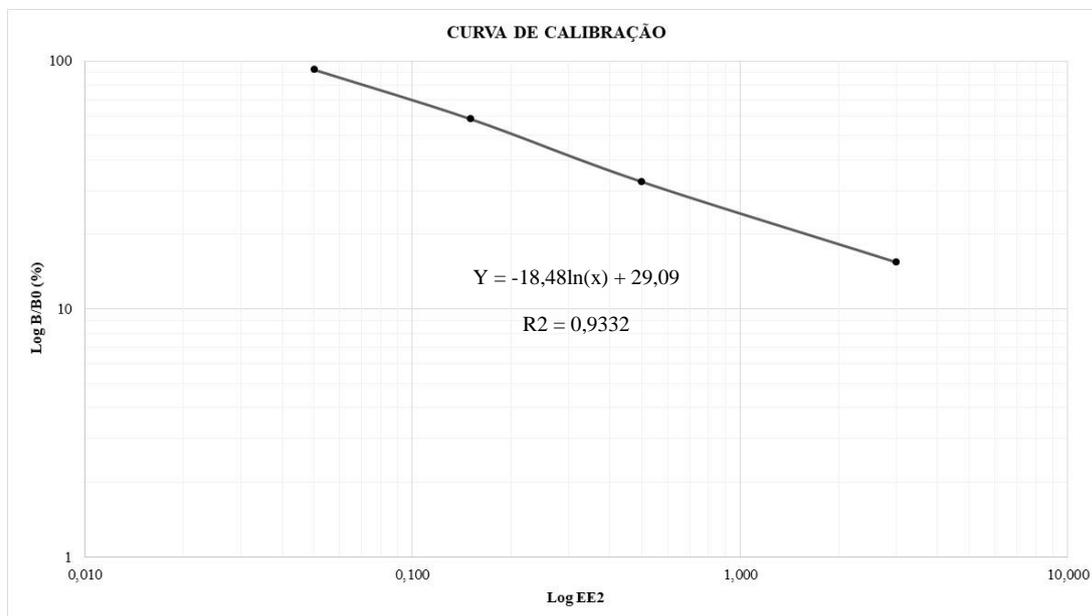
### 6.4 RESULTADOS ANALÍTICOS DAS CONCENTRAÇÕES DO EE2

Com base nos valores da absorbância mensurados e da concentração de cada padrão foi elaborada uma curva de calibração a partir do Log das absorbâncias (eixo Y) e do Log das concentrações (eixo X) como mostra a Figura 8. A curva de calibração gerada obteve um coeficiente de determinação igual a 0,9332 e de correlação igual a 0,9660 (ambos próximos de 1,00) indicando que a curva analítica pode ser utilizada para a quantificação de EE2 nas amostras.

De acordo com o fabricante, os valores mínimo e máximo quantificados por este método são de 0,05 a 3  $\mu\text{g. L}^{-1}$ . Como as amostras foram concentradas em 1.000 vezes pelo sistema de extração de fase sólida, os limites mínimo e máximo de quantificação de EE2 nas amostras foram de 0,05 a 3  $\text{ng. L}^{-1}$ . A absorbância registrada em cada amostra foi dividida por um fator de correção que consiste na taxa de inibição do padrão 0 do EE2. Posteriormente, a concentração obtida a partir do cálculo da equação gerada pela linha de tendência foi dividida pelo fator de concentração (1.000), sendo assim, encontrada a concentração real do analito nas amostras conforme demonstrado na

Tabela 12. A partir dos valores obtidos foi possível realizar um georeferenciamento dos pontos em relação à concentração do EE2 obtida, como mostra a Figura 9.

**Figura 8.** Curva de calibração do EE2.



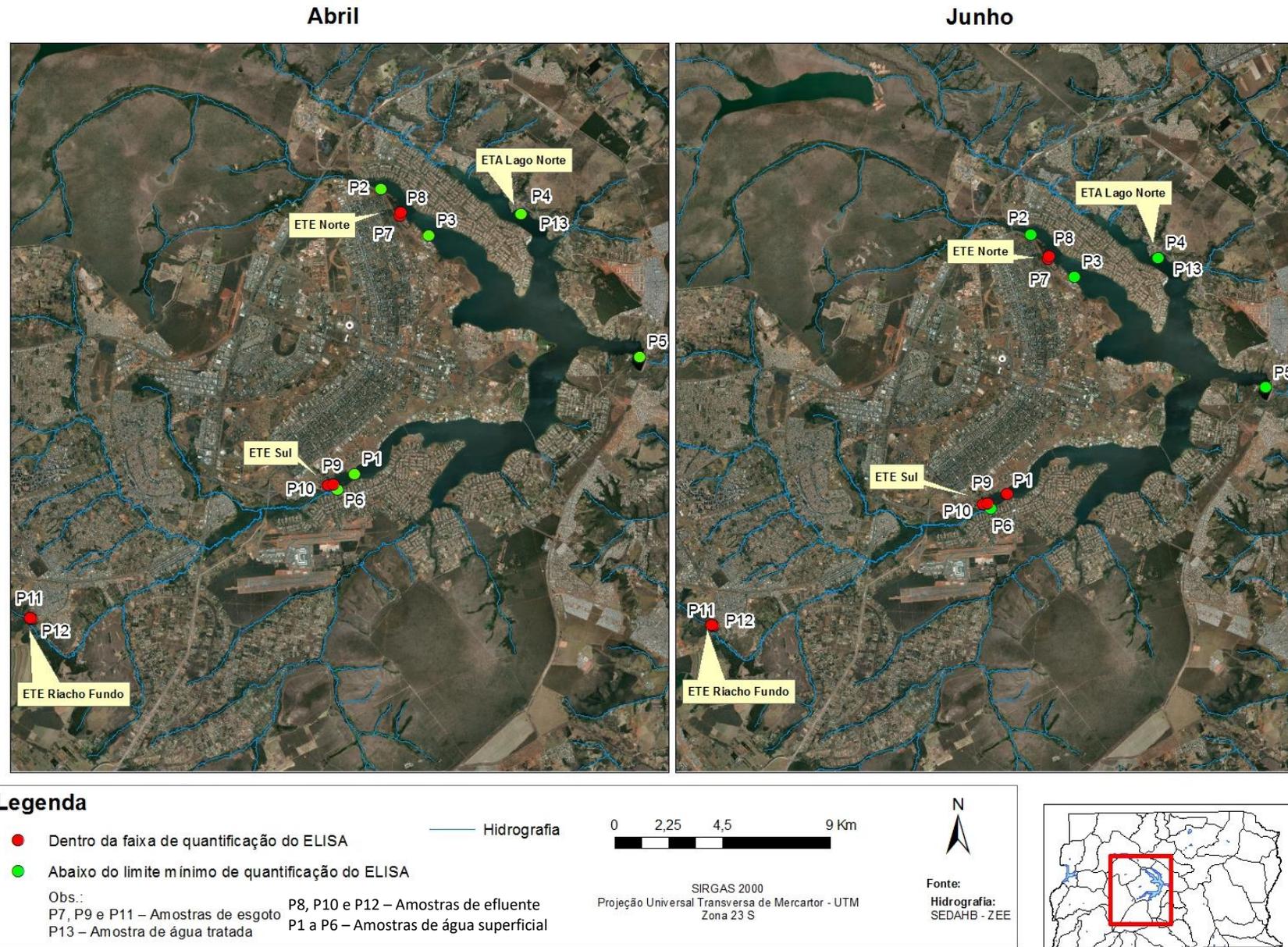
Fonte: Elaborado pela autora.

**Tabela 12.** Concentração de EE2 (ng. L<sup>-1</sup>) nas amostras.

Denominação do ponto	Descrição da localização	Mês	EE2 (ng. L <sup>-1</sup> )
Ponto 1 (P1)	Ponte das Garças	Abril	<LQ
		Junho	0,07
Ponto 2 (P2)	Calçadão da Asa Norte	Abril	<LQ
		Junho	<LQ
Ponto 3 (P3)	Minas Tênis Clube	Abril	<LQ
		Junho	<LQ
Ponto 4 (P4)	Ponto de captação	Abril	<LQ
		Junho	<LQ
Ponto 5 (P5)	Barragem do Lago Paranoá	Abril	<LQ
		Junho	<LQ
Ponto 6 (P6)	Exutório do córrego Riacho Fundo	Abril	<LQ
		Junho	<LQ
Ponto 7 (P7)	Esgoto ETE Norte	Abril	1,34
		Junho	1,31
Ponto 8 (P8)	Efluente ETE Norte	Abril	0,85
		Junho	0,91
Ponto 9 (P9)	Esgoto ETE Sul	Abril	1,43
		Junho	1,55
Ponto 10 (P10)	Efluente ETE Sul	Abril	0,83
		Junho	1,49
Ponto 11 (P11)	Esgoto ETE Riacho Fundo	Abril	1,85
		Junho	2,08
Ponto 12 (P12)	Efluente ETE Riacho Fundo	Abril	0,23
		Junho	1,50
Ponto 13 (P13)	ETA Lago Norte	Abril	<LQ
		Junho	<LQ

Fonte: Elaborado pela autora. Nota: LQ – Limite de quantificação (0,05 a 3,00 ng. L<sup>-1</sup>).

**Figura 9.** Quantificação do EE2 (ng. L<sup>-1</sup>) nos respectivos pontos de coleta.



Fonte: Elaborado pela autora.

No geral, todas as amostras coletadas no Lago Paranoá e a amostra de água tratada tiveram resultados abaixo do limite mínimo de quantificação do método, exceto a amostra do ponto 1 do mês de junho, que apresentou resultado positivo em relação ao EE2. Todas as amostras de esgoto tiveram valores mensuráveis de EE2, destacando-se que, no esgoto bruto foram obtidas maiores concentrações do que no tratado.

A Tabela 13 elucida os valores de EE2 encontrados nos esgotos bruto e tratado das três estações de tratamento de esgoto estudadas. Os valores de EE2 no esgoto bruto variaram entre 1,31 e 2,08  $\mu\text{g. L}^{-1}$ . Embora essas ETEs não tenham sido planejadas para efetuar a remoção do EE2, ao comparar os resultados da concentração desse hormônio no esgoto bruto com o efluente tratado, foi possível estimar o desempenho de remoção dessas estações (Tabela13).

Observa-se que, de forma geral, as ETEs tiveram um melhor desempenho na remoção do EE2 no período chuvoso do que no período seco. Destaca-se ainda, que a ETE Riacho Fundo apresentou o maior desempenho na remoção de EE2 (88%) quando comparado com os demais resultados obtidos pelas ETEs Sul e Norte.

**Tabela 13.** Desempenho das Estações de Tratamento de Esgoto na remoção de EE2.

Estação de tratamento	Mês	EE2 (ng. L <sup>-1</sup> )	EE2 (ng. L <sup>-1</sup> )	Desempenho
		Esgoto	Efluente	
ETE Sul	Abril	1,43	0,83	42%
	Junho	1,55	1,49	4%
ETE Norte	Abril	1,34	0,85	37%
	Junho	1,31	0,91	31%
ETE Riacho Fundo	Abril	1,85	0,23	88%
	Junho	2,08	1,50	28%

Fonte: Elaborado pela autora.

Uma vez que, a amostra de água captada no Lago Paranoá, nas proximidades da bomba de captação da estação de tratamento de água Lago Norte, e a própria água tratada por essa ETA tiveram valores de EE2 abaixo do mensurável pela metodologia utilizada nesse estudo, não foi possível avaliar a eficiência do processo de remoção deste hormônio pela ETA.

## 6.5 CARACTERIZAÇÃO DO RISCO DE EXPOSIÇÃO INVOLUNTÁRIA AMBIENTAL AO EE2

Devido ao fato de ter sido possível quantificar o EE2 em amostras do Lago Paranoá apenas no P1 (Ponte das Garças), no mês de junho, a caracterização do risco de exposição involuntária ambiental levou em consideração apenas esse dado.

A concentração de  $0,07 \text{ ng. L}^{-1}$  é equivalente a  $0,00007 \text{ } \mu\text{g. L}^{-1}$ , logo tal concentração é inferior às concentrações médias de efeito observado (CEO) descritas na literatura para animais aquáticos representantes do segundo ( $0,5 - 2.106 \text{ } \mu\text{g. L}^{-1}$ ) e do terceiro nível trófico ( $0,00095 - 14,96 \text{ } \mu\text{g. L}^{-1}$ ). Por outro lado, a concentração de  $0,07 \text{ ng. L}^{-1}$  é superior à concentração prevista sem efeito proposta pela Comissão Europeia ( $0,035 \text{ ng. L}^{-1}$ ), mas inferior ao preconizado pelo *Center for Drug Evaluation and Research* – FDA ( $0,1 \text{ ng. L}^{-1}$ ) e pelo *Ministry of Environment Province of British Columbia* ( $0,5 \text{ ng. L}^{-1}$ ).

## 7. DISCUSSÃO

Este estudo mediu a concentração do hormônio estrogênico 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) no esgoto e efluentes das estações de tratamento Norte, Sul e Riacho Fundo, nos meses de abril (período chuvoso) e junho (período seco). Buscou ainda, verificar a ocorrência de EE2 em alguns pontos localizados no espelho d'água do Lago, e finalmente, na água tratada proveniente da ETA Lago Norte, recém-instalada nesse manancial.

A partir de pesquisa bibliográfica, verificou-se que este é o primeiro estudo realizado para monitoramento da ocorrência de EE2 com o método ELISA, no Distrito Federal (DF). Além disso, ele é o pioneiro quanto à abrangência das matrizes aquosas analisadas (efluente, esgoto, água superficial e água tratada) para avaliação da ocorrência desse poluente no Lago Paranoá.

Inicialmente, as amostras de água superficial foram caracterizadas nos dois períodos, chuvoso e seco. O pH de todas as amostras estava ligeiramente alcalino, mas dentro do limite estabelecido para reservatórios de água doce, enquadrados como classe II (BRASIL, 2005).

No período seco, a temperatura da água estava um pouco inferior, que é característico do inverno. Sabe-se que temperaturas mais elevadas provocam um aumento da velocidade das reações, em particular as de natureza bioquímica de decomposição de compostos orgânicos. Por outro lado, diminui a solubilidade de gases dissolvidos na água, em particular o oxigênio, base para a composição aeróbia (PIVELI & KATO, 2006). Assim, quando comparados os registros entre meses de abril e junho, observa-se que com exceção dos pontos P5 e P6 (barragem e exutório do córrego Riacho Fundo), os demais apresentaram concentrações de oxigênio dissolvido menores quando as temperaturas registradas foram maiores.

Todos os pontos apontaram maiores valores de turbidez no mês de abril do que no mês de junho. Esses dados podem estar relacionados com a ocorrência de chuva, pois a precipitação favorece a presença material em suspensão.

Em todos os seis pontos amostrados, a condutividade do mês de junho foi superior à do mês de abril e não foi encontrada correlação significativa entre a condutividade com as demais variáveis analisadas neste estudo.

Quanto à análise microbiológica, os pontos P1, P2 e P6 coletados na Ponte das Garças, no Calçadão da Asa Norte e no exutório do córrego Riacho Fundo, respectivamente, apresentaram as maiores concentrações de coliformes totais e de *E.coli* em ambas as coletas.

Essa caracterização sugere, inclusive, que esses pontos estejam impróprios para a balneabilidade, segundo os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 274/2000.

Dentre os 6 pontos amostrados do Lago, apenas o P1 (Ponte das Garças), no mês de junho (período seco), apresentou uma concentração de EE2 dentro da faixa mensurável pelo método ELISA (Tabela 12). A quantificação de EE2 no Lago Paranoá com a metodologia utilizada neste estudo já representa um avanço ao se comparar com estudos anteriormente realizados. Santana (2013) investigou a presença de EE2 no Lago Paranoá e relatou que não houve detecção nas amostras analisadas para um limite de detecção de 7,9 ng. L<sup>-1</sup>. Silva (2015) verificou que o EE2 foi o estrógeno menos detectado em sua pesquisa, em que das 13 amostras de água do Lago analisadas, o EE2 foi encontrado em apenas uma e estava abaixo do limite de quantificação da sua metodologia (242 ng. L<sup>-1</sup>).

Destaca-se ainda, que os estudos de da Costa *et al.* (2016) e Silva (2015) que avaliaram a ocorrência de outros poluentes emergentes, no Lago Paranoá, realizaram amostragem em maiores profundidades, 10 metros e 1 metro, respectivamente, enquanto que neste estudo, as amostras foram coletadas na camada superficial. Sabe-se que o EE2 é uma molécula hidrofóbica que tende a adsorver-se aos sedimentos, às partículas em suspensão, à matéria orgânica presente na água, à fauna subaquática e ao lodo das estações de tratamento (LIMA & PAULA, 2017; AURIOL *et al.*, 2006; ZHANG & ZHOU, 2008; TIEDEKEN, TAHAR, MCHUGH, & ROWAN, 2017). Logo, seria importante a realização de novos estudos com amostras coletadas em maiores profundidades do Lago para confirmar a ocorrência ou não de EE2, bem como, quantificar esse poluente em seus sedimentos.

O EE2 é excretado 40% pela urina e 60% pelas fezes (CANO *et al.*, 1997) e estima-se uma média diária per capita de excreção desse hormônio por mulheres em terapia de reposição hormonal ou em uso de anticoncepcional oral na ordem de 7,15 a 9,10 µg. dia<sup>-1</sup> (JOHNSON *et al.*, 2000). Desse modo, uma das hipóteses quanto à ocorrência de poluentes emergentes, como o EE2, ocorrerem no Lago Paranoá, seria devido ao lançamento de efluentes nesse manancial, mesmo que previamente tratados.

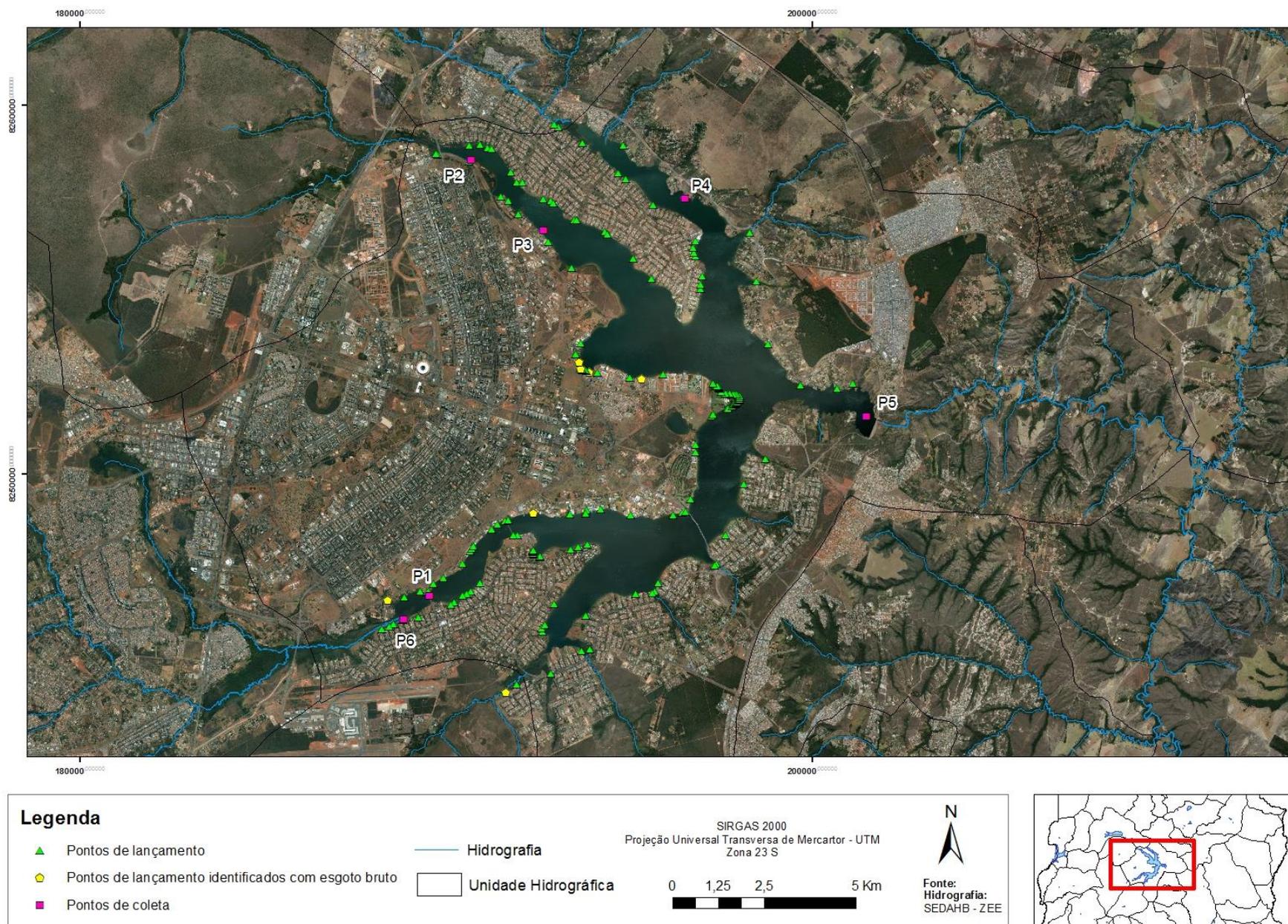
Nos pontos P2, P3 e P6, localizados nas proximidades do ponto de descarte dos efluentes tratados não foi detectado o EE2. Sendo detectado apenas no P1 (no período seco), que fica próximo a três galerias de águas pluviais (GAPs): GAP Parque Asa Sul, GAP ETE Sul e GAP Deck Sul, como mostra a Figura 11.

A ADASA, em ação de fiscalização realizada no ano de 2018, constatou que em torno do Lago existem 158 pontos de lançamento de águas pluviais. Em 4% desses pontos foi verificada a ocorrência de lançamento irregular de esgoto. Dentre esses 7 pontos, um deles

refere-se à GAP Parque Asa Sul (ADASA, 2018). Assim, é possível que a quantificação de EE2 seja decorrente da existência de lançamentos clandestinos de esgotos pelas redes de drenagem próximas ao P1, visto que não foram detectados lançamentos irregulares de esgoto em outros pontos de lançamento de águas pluviais próximos aos demais pontos de coleta no Lago realizados neste estudo (Figura 11).

A concentração detectável na superfície do Lago pode ser reflexo da baixa diluição desses esgotos clandestinos no período seco (junho). A quantificação do EE2 nesse ponto, apenas no período seco, corrobora com o estudo de Sodré et.al (2018) sobre a distribuição sazonal de alguns poluentes emergentes em águas superficiais e potáveis do Distrito Federal, que identificou concentrações significativamente mais altas para todos os contaminantes emergentes analisados durante o período seco. Ainda assim, destaca-se que a concentração de EE2 quantificada no Lago Paranoá está abaixo dos valores relatados por outros estudos realizados nas diversas partes do mundo e no Brasil, bem como, os relatados por Cunha *et al.* (2017) e apresentado na Tabela 14.

**Figura 10.** Localização dos pontos de lançamento de águas pluviais no Lago Paranoá.



Fonte: Elaborado pela autora.

**Tabela 14.** Análise comparativa das concentrações de EE2 nas matrizes aquosas com outros estudos.

Matriz	Concentração 17 $\alpha$ -etinilestradiol (ng. L <sup>-1</sup> )	País	Referência
<b>Esgoto</b>	<b>1,31 - 2,08</b>		
	4,5	Suécia	LARSSON <i>et al.</i> , 1999
	<12,4 – 41,3	Brasil	QUEIROZ <i>et al.</i> , 2012
	600 – 1.260	Brasil	FROEHNER <i>et al.</i> , 2011b
<b>Efluente</b>	3.180	Brasil	PESSOA <i>et al.</i> , 2012
	<b>0,23 - 1,50</b>		
	n.d – 16,4	Estados Unidos	SURI <i>et al.</i> , 2012
	75 – 90	Canadá	VIGLINO <i>et al.</i> , 2008
	5 – 10	Espanha	MULLER <i>et al.</i> , 2008
	<LQ – 154	Espanha	PEDROUZO <i>et al.</i> , 2011
	n.d. – 13	França	MULLER <i>et al.</i> , 2008
	2,7 – 4,5	França	CARGOUËT <i>et al.</i> , 2004
	0,5 – 5	Inglaterra	ZHANG <i>et al.</i> , 2006
	0,2 – 7,0	Inglaterra	DESBROW <i>et al.</i> , 1998
	n.d. – 24	Luxemburgo	PAILLER <i>et al.</i> , 2009
	0,4	Itália	BARONTI <i>et al.</i> , 2000
	2	Suécia	LARSSON <i>et al.</i> , 1999
	< 0,2-7,6	Países Baixos	BELFROID <i>et al.</i> , 1999
	<0,48	Brasil	SILVA, 2015
	n.d	Brasil	CAESB, 2013
	< 12,4	Brasil	QUEIROZ <i>et al.</i> , 2012
	< LD – 470	Brasil	FROEHNER <i>et al.</i> , 2011b
	176	Brasil	PESSOA <i>et al.</i> , 2014
	<b>Água superficial</b>	<b>0,07 ng</b>	
0,25 – 0,52		Estados Unidos	SNYDER <i>et al.</i> , 1999
3,01– 4,67		Estados Unidos	ZUO <i>et al.</i> , 2006
0,10 – 5,1		Alemanha	KUCH <i>et al.</i> , 2001
<0,20		Alemanha	STACHEL <i>et al.</i> , 2003
1,1 – 2,9		França	CARGOUËT <i>et al.</i> , 2004
<0,1 – 4,3		Países Baixos	BELFROID <i>et al.</i> , 1999
23		Brasil	LUCENA, 2013
240		Brasil	SILVA, 2015
n.d – 25.00		Brasil	SODRÉ <i>et al.</i> , 2010
n.d		Brasil	CAESB, 2013
<17 – 4.390		Brasil	MONTAGNER E JARDIM, 2011
< 1 – 54		Brasil	MOREIRA <i>et al.</i> , 2009
< 5 – 64		Brasil	MOREIRA <i>et al.</i> , 2011
n.d – 0,43		China	ZHANG <i>et al.</i> , 2011b
n.d – 24,40		China	LEI <i>et al.</i> , 2009
7.53 – 27,40		Taiwan	CHEN <i>et al.</i> , 2007
<0,30 – 0.40		Holanda	VETHAAK <i>et al.</i> , 2005
0,0 – 0,52		Austrália	YING <i>et al.</i> , 2009
2.00 – 0,01		Irã	JAFARI <i>et al.</i> , 2009
11,70 – 14,00	Turquia	AYDIN AND TALINLI, 2013	
<b>Água potável</b>	<b>&lt;LQ</b>		
	0,15 – 0,50	Alemanha	KUCH <i>et al.</i> , 2001

Fonte: Elaborado pela autora. Notas: n.d.= não detectado; <LQ= menor que o limite de quantificação.

A Tabela 10 demonstra que as concentrações de matéria orgânica (DBO e DQO) e fósforo total no esgoto bruto foram um pouco maiores em junho (período seco) do que em abril (período chuvoso). Isto mostra que, provavelmente, o sistema de esgotamento sanitário possa estar recebendo parte das águas pluviais locais. Isto ocorre independente do dimensionamento do sistema, pois a ETE Sul recebe três vezes mais esgoto do que a ETE Riacho Fundo. Embora, no Brasil, se preconiza o uso de um sistema separador absoluto com uma rede de drenagem separada do sistema de esgotamento sanitário, sabe-se que na prática isso não é observado (RADESCA, 2018).

As concentrações de EE2 encontradas nos esgotos sanitários brutos das três ETEs também tiveram leve variação nas duas campanhas, em que, no período seco, foram maiores do que no período chuvoso (Tabela 13). Mesmo que, na ETE Norte, não tenha sido observada essa mesma tendência, é possível que esse fenômeno também seja notório neste sistema de esgotamento sanitário. Logo, a contribuição de águas pluviais nos sistemas de esgotamento sanitário pode reduzir a carga efetiva de micropoluentes que chega às estações de tratamento de esgotos.

Apesar desta variação, essas concentrações estão próximas às relatadas pela literatura em esgotos brutos de outros países (Tabela 14). Auriol *et al.* (2006) relatam uma variação entre 3 e 7,1 ng. L<sup>-1</sup> de EE2 nos esgotos brutos em alguns países da Europa e Luo *et al.* (2014) relataram que em diferentes países da Europa, da Ásia e nos Estados Unidos as concentrações de EE2 no esgoto bruto variam entre 1 e 3 ng. L<sup>-1</sup>.

Não foram encontrados na literatura dados relativos aos níveis de EE2 em amostras de esgoto doméstico no Distrito Federal. Dessa forma, a presente pesquisa apresenta os primeiros relatos desse contaminante nesse tipo de matriz aquosa no DF.

Cunha *et al.* (2017) sugerem que a variação na concentração de EE2 nos esgotos brutos pode ocorrer em função das políticas de controle de natalidade e de saúde pública adotadas. Neste caso, regiões que adotam os métodos de pílula contraceptiva como controle de natalidade, por exemplo, tem um maior uso de EE2, logo, as concentrações deste contaminante no efluente podem ser maiores. Isto explicaria a amplitude encontrada no Brasil na concentração de EE2 no esgoto bruto (CUNHA *et al.*, 2017).

A Tabela 11 demonstra que as ETEs Norte e Sul apresentaram maiores eficiências de remoção da matéria orgânica e fósforo do que ETE Riacho Fundo, independente do período analisado (chuvoso ou seco). Essas duas ETEs possuem o mesmo sistema de tratamento constituído por um processo tipo Bardenpho com alternância de fases metabólicas (anaeróbia/anóxica/aeróbia) com o propósito de remoção principalmente de fósforo total

(CAESB, 2014b). Essa exigência se deve ao local de descarte do esgoto tratado ser um lago, que pode sofrer efeitos de eutrofização (CAESB, 2014b). Além disso, esses dois sistemas contam ainda com um polimento final por processo físico-químico através da coagulação, floculação e flotação (CAESB, 2014b).

Já a ETE Riacho Fundo opera por meio de reatores sequenciais em batelada alternando as fases anaeróbia e aeróbia também para promover a remoção biológica de fósforo (CAESB, 2014b). Apesar dessa diferença, todas as estações de tratamento reduziram as concentrações de matéria orgânica em termos de DBO e de fósforo a um limiar satisfatório para o seu lançamento no Lago (Tabela 10).

Em relação à eficiência de remoção de EE2 observada nas ETEs (Tabela 13), houve variação de 4 a 88%. A ETE Riacho Fundo apresentou o maior desempenho (88%) registrado no período chuvoso, enquanto que no período seco, a ETE Sul teve o menor desempenho. No geral, a remoção média por todas as ETEs ficou em torno de 40%.

Paula (2017) encontrou uma remoção média de EE2 acima de 80% em um Reator em Batelada Sequencial (RBS) que removia fósforo. Desse modo, a ETE Riacho Fundo que opera com RBS alternando as fases anaeróbia e aeróbia para a remoção de fósforo pode ser um modelo para a mitigação de EE2 no ambiente.

Alguns estudos apontam que a biodegradação é o principal caminho de remoção do EE2 nos sistemas de tratamento de esgotos (PETRIE *et al.*, 2014; TIEDEKEN, TAHAR, MCHUGH, & ROWAN, 2017), mas a sorção pelo biossólido também é um provável caminho de remoção desse composto (MARTÍN *et al.*, 2012 *apud* TIEDEKEN, TAHAR, MCHUGH, & ROWAN, 2017). De acordo com Alvarino *et al.* (2014) a maior biodegradação do composto foi alcançada em condições aeróbicas e Suarez *et al.* (2010) mostraram que as maiores remoções de EE2 ocorreram em ambientes nitrificantes. Outros estudos também informaram que os sistemas aeróbios promovem melhor remoção de EE2 (LI *et al.*, 2013; LUO *et al.*, 2014).

As ETEs Norte, Sul e Riacho Fundo adotam alternância metabólica entre o anaeróbio e o aeróbio para promover a remoção de fósforo e este fato pode favorecer a remoção de EE2 dos esgotos (VAN HAANDEL, 1999; VON SPERLING, 2012). No entanto, o processo composto por um RBS, nesse estudo, mostrou melhor eficiência, inclusive ao se comparar com os sistemas físico-químicos aplicados nas ETEs Norte e Sul.

Paula (2017) associou a remoção de fósforo com a de EE2, mas demonstrou que parte deste composto pode estar sendo carregado com o lodo removido no processo. Portanto, seria

importante avaliar a quantidade de EE2 que possa estar presente nos biossólidos gerados por essas ETEs em futuros estudos.

A concentração de EE2 nas amostras dos efluentes ficou em torno de 0,23 a 1,50 ng. L<sup>-1</sup>, valores inferiores ao quantificado por Silva (2015) nos efluentes da ETE Sul e Norte, 485 e 591 ng. L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Vale destacar ainda, que o esgoto tratado apresentou uma concentração média em torno de 1,0 ng. L<sup>-1</sup> (média de todos) de EE2 (Tabela 12). Assim, EE2 nessa concentração pode estar sendo liberada diariamente no Lago Paranoá, e isso representa um risco ao meio ambiente aquático (LAI; SCRIMSHAW & LESTER, 2002; DELL'ACQUA, 2017), pois essa concentração pode provocar a indução de vitelogenina em peixes machos (CUNHA et al, 2016).

A estação de tratamento de água Lago Norte é composta por um sistema de tratamento por ultrafiltração composto por membranas com capacidade de tratamento constante de 0,70 m<sup>3</sup>. s<sup>-1</sup>. A água tratada proveniente desta ETA apresentou uma boa qualidade para o consumo humano de acordo com a Portaria nº 2914/2011, além de concentrações de EE2 abaixo do limite mínimo de quantificação do método ELISA.

Além disso, o ponto P4 que fica próximo à captação que abastece esta ETA também apresentou concentração abaixo da faixa de quantificação do método analítico. Desse modo, não foi possível avaliar a eficiência de remoção de EE2 desta ETA. Cabe ressaltar, que a microfiltração e a ultrafiltração podem ser eficazes na remoção de hormônios esteróides, incluindo o E2 e o EE2. No entanto, a nanofiltração e os sistemas por osmose reversa são considerados mais eficazes para a remoção de hormônios estrogênicos em água (BRAEKEN & VAN DER BRUGGEN, 2009; DUDZIAK & BODZEK, 2009; KOH *et al.*, 2008; SNYDER *et al.*, 2007).

Somente em um único ponto (P1), e em uma das campanhas foi possível quantificar o EE2, no Lago Paranoá (Tabela 11). No entanto, nesse estudo, verificou-se que concentração média de lançamento de EE2 por meio dos efluentes das ETEs Norte, Sul e Riacho Fundo, no Lago Paranoá, foram respectivamente, 0,93, 1,16 e 0,86 ng. L<sup>-1</sup> (Tabela 12). Assim, essa desproporção entre a concentração de lançamento com a concentração quantificada e não quantificada nas amostras do Lago Paranoá, pode estar relacionada com os processos de atenuação natural do EE2, tais como, a diluição, a eventual adsorção em sólidos em suspensão e em sedimentos, e a biodegradação aeróbia (GÓMEZ *et al.*, 2012; PAL *et al.*, 2010 *apud* CUNHA *et al.*, 2017). Mas, há ainda que se considerar a possibilidade de ressuspensão destes

compostos para coluna d'água, o que pode torná-los novamente biodisponíveis (CUNHA *et al.*, 2017).

A concentração de EE2 no esgoto tratado (em torno de 1,0 ng. L<sup>-1</sup> em média) está abaixo das concentrações médias de efeito observado para animais aquáticos representantes do segundo e do terceiro nível trófico (SILVA, 2015). Entretanto, ao se avaliar as concentrações mínimas de CEO (Tabela 4), verifica-se que alguns estudos registraram efeitos deletérios com concentrações inferiores a 0,07 ng. L<sup>-1</sup> para animais aquáticos do terceiro nível trófico (SILVA, 2015).

Devido à bioacumulação, animais aquáticos do terceiro nível trófico podem ter maior sensibilidade e vulnerabilidade aos efeitos do EE2. Alguns efeitos deletérios podem ser observados em concentrações inferiores a 0,00007 µg. L<sup>-1</sup> (0,07 ng. L<sup>-1</sup>) a nível genético, 0,00005 µg. L<sup>-1</sup> (0,05 ng. L<sup>-1</sup>) na reprodução; 0,00005 µg. L<sup>-1</sup> (0,05 ng. L<sup>-1</sup>) no desenvolvimento e 0,00003 µg. L<sup>-1</sup> (0,03 ng. L<sup>-1</sup>) nas características morfológicas (SILVA, 2015). Além disso, a concentração de 0,07 ng. L<sup>-1</sup> é superior às concentrações previstas sem efeito propostas pela Comissão Europeia (0,035 ng. L<sup>-1</sup>).

Embora tenha se quantificado o EE2 em apenas uma amostra do Lago Paranoá, não se pode subestimar o risco de exposição ambiental a esse poluente, devido ao seu caráter de persistência e de bioacumulação. Assim, reforça-se a necessidade de realização de novas pesquisas que validem metodologias analíticas mais sensíveis na análise de quantificação de hormônios em matrizes ambientais para o desenvolvimento de tecnologias de remoção e uma melhor avaliação dos níveis de risco de exposição involuntária ambiental à biota selvagem e aos seres humanos. Além disso, evidencia-se a necessidade de realização de estudos de ecotoxicidade com organismos existentes no Lago Paranoá, levando-se em consideração o tempo de exposição e as características intrínsecas desse ecossistema e, assim, avaliar de forma mais assertiva e estatisticamente significativa o risco de exposição involuntária ambiental às concentrações de EE2.

Importante destacar ainda, que os estudos acerca dos efeitos do EE2 sobre a reprodução e o desenvolvimento da vida selvagem são limitados e restritos a organismos aquáticos (invertebrados e peixes). Não havendo dados disponíveis sobre os potenciais efeitos de desregulação endócrina do EE2 em organismos terrestres e aéreos, sendo assim, tais efeitos representam uma incerteza (EUROPEAN COMMISSION, 2002).

Como já identificada pela legislação europeia, o gerenciamento do EE2 e de demais poluentes emergentes na água é uma questão relevante que também deve ser abordada na revisão dos Planos de Gestão de Bacias Hidrográficas. Além de ser considerada na revisão

desses planos, ressalta-se também a necessidade de ampliar a discussão desse assunto em uma futura revisão da Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005).

Ademais, a entrada, não somente de EE2, mas também de outros poluentes emergentes no Lago Paranoá tende a aumentar com o crescimento populacional. Atrelado a esse fator, as mudanças climáticas que estão provocando alterações na frequência e nos períodos de chuva e seca reforçam as incertezas quanto à capacidade de suporte do Lago para esses contaminantes.

Logo, recomenda-se o monitoramento dessas tendências futuras com o intuito de neutralizar de forma antecipada os impactos negativos, pois a qualidade da água potável está diretamente relacionada com a qualidade da água bruta. Assim, a minimização da entrada de poluição difusa e o aprimoramento do tratamento das águas residuais são medidas essenciais para assegurar a qualidade da água do Lago Paranoá para as próximas gerações.

## 8. CONCLUSÕES

A concentração de EE2 nos diferentes pontos da água superficial do Lago Paranoá estava abaixo de  $0,05 \text{ ng. L}^{-1}$ , exceto em um ponto, possivelmente em decorrência do lançamento clandestino de esgoto doméstico.

As concentrações de EE2 encontradas nos esgotos sanitários que foram entre 1,43 e  $2,08 \text{ ng. L}^{-1}$  e estão dentro da faixa normalmente citada na literatura, mas bem abaixo de alguns estudos realizados em outras regiões brasileiras.

Nesse estudo, a ETE que apresentou maior desempenho de remoção de EE2 foi a ETE Riacho Fundo, que utiliza RBS como sistema de tratamento com a finalidade de remover fósforo total. Isto sugere que este tipo de processo possa ser promissor na mitigação desse poluente. Por outro lado, as ETEs Norte e Sul que operam com sistema Bardenpho seguido da coagulação/floculação tiveram menores desempenhos.

Apesar da eficiência na remoção de EE2 pelas ETEs, o esgoto tratado ainda apresentou concentração média de  $1,0 \text{ ng. L}^{-1}$  desse hormônio, fato que pode representar um risco ambiental à biota do Lago Paranoá.

Não foi encontrado EE2 na água tratada da ETA Lago Norte, logo, não foi possível avaliar a sua eficiência quanto à remoção deste contaminante.

## **9. RECOMENDAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS**

A partir deste estudo, recomenda-se a realização de novas pesquisas para avaliação da ocorrência de micropoluentes emergentes no Lago Paranoá, para monitorar as tendências futuras de aporte desses compostos ao Lago com o intuito de neutralizar, de forma antecipada, os seus impactos negativos para a qualidade da água e para o ecossistema. Reforça-se ainda, a necessidade de execução de novos estudos para validação de metodologias analíticas mais sensíveis para a quantificação de hormônios em matrizes ambientais, o que consequentemente contribuiria para o desenvolvimento de tecnologias de remoção desses poluentes pelas estações de tratamento.

Devido às características físico-químicas do EE2, sugere-se a realização de estudos com amostras coletadas em diferentes profundidades do Lago, assim como, em seus sedimentos e nos resíduos sólidos das estações de tratamento Sul, Norte e Riacho Fundo.

Outro possível estudo seria a ampliação da frequência e do número de pontos amostrais no espelho do Lago, para que seja possível a realização de uma modelagem de cenários que representem a dispersão do EE2 ao longo de toda a sua área.

Por fim, seria necessária a realização de estudos de ecotoxicidade com seres aquáticos representativos da biota do Lago Paranoá, para avaliar com mais assertividade o risco de exposição involuntária ambiental dessa biota às concentrações de EE2.

## REFERÊNCIAS

ABBT-BRAUN, G.; BÖRNICK, H.; BRANDÃO, C.C.S; CAVALCANTI, C.B.G.; CACALCANTI, C.P.; FRIMMEL, F.H.; MAJEWSKY, M.; STEINGER, B.; TRÖSTER, M.; WROCH, E. Water quality of tropical reservoirs in a changing world – the case of lake Paranoá, Brasília, Brazil. In Lorz, C.; Makeschin, F.; Weiss, H. (eds.) *Interated Water Resource Management in Brazil*. IWA Publishing, U.K. 73-92, 2014.

ADASA. Agência Reguladora de Águas, Energia e Saneamento Básico. Nota Técnica Conjunta nº 024/2017-SEF/SAE – ADASA. Análise do requerimento da Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal – CAESB, por meio da Carta nº 23.748/2017-PRM/PR/CAESB, para uso dos recursos oriundos da Tarifa de Contingência, nos termos do disposto na Resolução ADASA nº 06, de 05 de abril de 2017, para custos de capital adicionais para aumento da capacidade de produção de água e interligação de sistemas. Julho, 2017.

\_\_\_\_\_. Relatórios de fiscalização dos lançamentos pluviais da orla do Lago Paranoá nº 25, 26, 28 e 40 - Superintendência de Drenagem Urbana, 2018.

ALVARINO, T., SUAREZ, S., LEMA, J. M., OMIL, F. Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. *Journal Hazard. Materials*, v. 278, p. 506–513, 2014.

ANA. Agência Nacional de Águas. Sala de Situação. Disponível em: <http://gestorpcd.ana.gov.br>. Acesso em: 15 de novembro de 2018.

ANDERSSON, C., KATSIADAKI, I., LUNDSTEDT-ENKEL, K., ÖRBERG, J. Effects of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol on EROD activity, spiggin and vitellogenin in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Aquat Toxicol*; 83:33–42, 2007.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22<sup>th</sup> ed. Washington, DC, 2012.

ARIS, A., Z., SHAMSUDDIN, A., S., PRAVEENA, S. M. Occurrence of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: A review. *Environment International*, v. 69, p.104–119, 2014.

ARNON, S., DAHAN, O., ELHANANY, S., COHEN, K., PANKRATOV, I., GROSS, A., RONEN, Z., BARAM, S., SHORE, L. S. Transport of testosterone and estrogen from dairy-farm waste lagoons to groundwater. *Environmental Science and Technology*, v. 42, n. 15, p. 5521–5526, 2008.

SALVADOR, A., MORETTON, C., PIRAM, A., FAURE, R. On-line solid-phase extraction with on-support derivatization for high-sensitivity liquid chromatography tandem mass spectrometry of estrogens in influent/effluent of wastewater treatment plants. *Journal of Chromatography A*, v. 1145, n. 1-2, p. 102-109, 2007.

AURIOL, M., FILALI-MEKNASSI, Y., TYAGI, R. D., ADAMS, C. D., SURAMPALLI, R. Y. Endocrine Disrupting Compounds Removal from Wastewater, a New Challenge. *Processes Biochemistry*, v. 41, n. 3, p.525–539, 2006.

AVAR, P., ZRÍNYI, Z., MAÁSZ, G., TAKÁTSY, A., LOVAS, S., G.-TÓTH, L., PIRGER, Z. Estradiol and ethinyl-estradiol contamination in the rivers of the Carpathian Basin in Australia. *Environmental Science Pollution Research*, v. 23, p. 11630–11638, 2016.

AYDIN, E., TALINLI, I. Analysis, occurrence and fate of commonly used pharmaceutical and hormones in the Buyukcekmece Watershed, Turkey. *Chemosphere*, v. 90, n. 6, p. 2004–2012, 2013.

BARONTI, C., CURINI, R., D'ASCENZO, G., DI CORCIA, A., GENTILI, A., SAMPERI, R. Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water. *Environmental Science and Technology*, v. 34, n. 24, p. 5059–5066, 2000.

BELFROID, A., C., VAN DER HORST, A., VETHAAK, A., D., SCHÄFER, A., J., RIJS, G., B., WEGENER, J., COFINO, W., P. Analysis and Occurrence of Estrogenic Hormones an

their Glucuronides in Surface Water and Waste Water in The Netherlands. *The Science Total Environment*, v. 225, p.101-108, 1999.

BERGMAN, A., HEINDEL, J. J., JOBLING, S., KIDD, K. A., ZOELLER, R. T. State of the science of endocrine disrupting chemicals. *Genebra: UNEP; WHO*, 180p, 2012.

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

BILA, D. M. Degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino 17 $\beta$ -estradiol pelo processo de ozonização. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 281 fls., 2005.

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

BRAEKEN, L., VAN DER BRUGGEN, B. Feasibility of nanofiltration for the removal of endocrine disrupting compounds. *Desalination*, v. 240, n. 1–3, p. 127–131, 2009.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000 – Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras. Brasília, 2000.

\_\_\_\_\_. Resolução CONAMA nº 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. Brasília, 2005

\_\_\_\_\_. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011 – Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, 2011.

BRICIU, R., D., KOT-WASIK, A., NAMIESNIK, J. Analytical challenges and recent advances in the determination of estrogens in water environments. *Journal of Chromatographic Science*, v. 47, n. 2, p.127–139, 2009.

CAESB. Companhia de Saneamento do Distrito Federal. Relatório final da avaliação da influência de disruptores endócrinos, medicamentos e produtos de higiene pessoal na qualidade da água do Lago Paranoá, para fins de abastecimento público. Brasília, 2013.

\_\_\_\_\_. Sinopse do Sistema de Abastecimento de Água do Distrito Federal – SIESG. Brasília, 2014a. Disponível em [http://www.caesb.df.gov.br/\\_conteudo/siesg/SIESG2014.pdf](http://www.caesb.df.gov.br/_conteudo/siesg/SIESG2014.pdf). Acesso em: 6 de junho de 2018.

\_\_\_\_\_. Sinopse do Sistema de Esgotamento Sanitário do Distrito Federal – SIESG. Brasília, 2014b. Disponível em [http://www.caesb.df.gov.br/\\_conteudo/siesg/SIESG2014.pdf](http://www.caesb.df.gov.br/_conteudo/siesg/SIESG2014.pdf). Acesso em: 6 de junho de 2018.

\_\_\_\_\_. Sinopse do Sistema de Esgotamento Sanitário do Distrito Federal – SIESG. Brasília, 2014c. Disponível em [http://www.caesb.df.gov.br/\\_conteudo/siesg/SIESG2014.pdf](http://www.caesb.df.gov.br/_conteudo/siesg/SIESG2014.pdf). Acesso em: 6 de junho de 2018.

\_\_\_\_\_. Revista Científica Digital Caesb Inova. Ano1, n. 1, 2018. Disponível em <http://www.caesb.df.gov.br>. Acesso em: 10 de setembro de 2018.

CANO, A., S., ROURA, A., C., CORTIT, L., I. Farmacologia dos contraceptivos hormonais Oral. Capítulo 3. Manual de anticoncepción hormonal oral. Sociedad española de contracepción. Grupo de trabajo sobre anticoncepción oral, 1997.

CARGOUËT, M., PERDIZ, D., MOUATASSIM-SOUALI, A., TAMISIER-KAROLAK, S., LEVI, Y. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Science of The Total Environment*, v. 324, n. 1–3, p. 55–66, 2004.

CASARETT, S. L.; DOULL, J. *The basic science of poisons*. 8ª Edição, 2013.

CETESB. Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2001. Disponível em: <http://cetesb.sp.gov.br/publicacoes-relatorios>. Acesso em: 9 de outubro de 2017.

CHEN, C., Y., WEN, T., Y., WANG, G., S., CHENG, H., W., LIN, Y., H., LIEN, G., W. Determining estrogenic steroids in Taipei waters and removal in drinking water treatment using high-flow solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Science of The Total Environmental*, v. 378, p.352–365, 2007.

COGLIANO, V., GROSSE, Y., BAAN, R., STRAIF, K., SECRETAN, B., ELGHISSASSI, F. Carcinogenicity of combined oestrogen-progestagen contraceptives and menopausal treatment. *The Lancet Oncology*, v. 6, n. 8, p. 552–533, 2005.

COMBALBERT, S., HERNANDEZ-RAQUET, G. Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 86, n. 6, p. 1671–1692, 2010.

CUNHA, D., L.; SILVA, S., M., C, DA; BILA, D., M.; OLIVEIRA, J., L., M.; SARCINELLI, P. N.; LARENTIS, A. L. Regulamentação do estrogênio sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol em matrizes aquática na Europa, Estados Unidos e Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* v. 32, n. 3, p. 1-3. 2016.

CUNHA, D., L., PAULA, L., M., DE, SILVA, S., M., C., DA., BILA, D., M., FONSECA, E. M., DA., OLIVEIRA J. L. M. Ocorrência e remoção de estrogênios por processos de tratamento biológico de esgotos. *Revista Ambiente e Água*, v.12, n.2, p.249-262, 2017.

DA COSTA, N., Y., BOAVENTURA, G., R., MULHOLLAND, D., S., ARAÚJO, D., F., MOREIRA, R., C., A., FAIAL, K., C., F., BOMFIM, E., O. Biogeochemical mechanism controlling trophic state and micropollutant concentrations in a tropical artificial lake. *Environmetal Earth Science*, v. 75, n. 854, p. 1-15, 2016.

DALLEGRAVE, A. Determinação de hormônios estrógenos e progestágenos em amostras ambientais por GC-MS. Tese (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 112 fls., 2012.

D'ASCENZO, G., DI CORCIA, A., GENTILI, A., MANCINI, R., MASTRPASQUA, R. NAZZARI, M., SAMPARI, R. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage

transport and treatment facilities. *Science of the Total Environment*, v. 302, n. 1-3, p. 199-209, 2003.

DELCLOS, K., B., WEIS, C., C., BUCCI, T., J., OLSON, G., MELLICK, P., SADOVOVA, N., LATENDRESSE, J., R., THORN, B., NEWBOLD, R., R. Overlapping but distinct effects of genistein and ethinylestradiol (EE2) in female Sprague-Dawley rats in multigenerational reproductive and chronic toxicity studies. *Reproductive Toxicology*, v. 27, n. 2, p. 117–132, 2009.

DELL'ACQUA, M., M. Efeito do hormônio 17 $\alpha$ -etinilestradiol sobre a biologia de *Chironomus sancticaroli* (*Chironomidae*, *Diptera*). Tese (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Paulo, 75 fls., 2017.

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

DISTRITO FEDERAL. Resolução ADASA nº 20, de 7 de novembro de 2017 – Declara o estado de restrição de uso dos recursos hídricos, estabelece o regime de racionamento do serviço de abastecimento de água nas localidades atendidas pelos reservatórios do Descoberto e Santa Maria. Brasília, 2017.

\_\_\_\_\_. Decreto nº 37.976, de 24 de janeiro de 2017. Decreta situação de emergência e determina restrições para o uso de água no Distrito Federal. Brasília, 2017.

DUDZIAK, M., BODZEK, M. Selected factors affecting the elimination of hormones from water using nanofiltration. *Desalination*, v. 240, n. 1–3, p. 236–243, 2009.

EUROPEAN COMMISSION. Study on the scientific evaluation of 12 substances in the context of endocrine disrupter priority list of actions, 2002. Disponível em: [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances\\_en.htm#priority\\_list](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances_en.htm#priority_list) Acesso em: 10 de setembro de 2018.

FARRE, M., KUSTER, M., BRIX, R., RUBIO, F., LOPEZ DE, A. M., BARCELO, D., J. Evaluation of commercial immunoassays for the detection of estrogens in water by comparison with high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry HPLC-MS/MS (QqQ). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. v. 385, n. 6, p. 1001–1011, 2007.

FERGUSON, E., M., ALLINSON, M., ALLINSON, G., SWEARER, S., E., HASSELL, K., L. Fluctuations in natural and synthetic estrogen concentrations in a tidal estuary in south-eastern Australia. *Water Research*, v. 47, n. 4, p. 1604–1615, 2013.

FERNANDEZ, M., A., LIMAVERDE, A., M., CASTRO, I., B. Ocorrência de imposex em *Thais haemastoma*: possíveis evidências e contaminação ambiental por compostos organotínicos no Rio De Janeiro e em Fortaleza, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, v.18 (2), p.463-476, 2002.

FERREIRA, M., G., M. Remoção da atividade estrogênica de 17 betaestradiol e de etinilestradiol pelos processos de ozonização e O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 173p, 2008.

FONSECA, F., O. Olhares sobre o Lago Paranoá. 1ª edição. Secretaria de Meio Ambiente e Recursos Hídricos – SEMARH-DF. 425p. 2001.

FROEHNER, S., MACHADO, K., S., STEFEN, E., NOLASCO, M. Occurrence of sexual hormones in sediments of mangrove in Brazil. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 219, n. 1–4, p. 591–599, 2011a.

FROEHNER, S., PICCIONI, W., MACHADO, K., S., AISSE, M., M. Removal capacity of caffeine, hormones, and bisphenol by aerobic and anaerobic sewage treatment. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 216, n. 1, p. 463-471, 2011b.

GADD J., B, TREMBLAY L., A, NORTHCOTT G., L. Steroid estrogens, conjugated estrogens and estrogenic activity in farm dairy shed effluents. *Environ Pollut*;158:730–6, 2010.

GAIDO, K., W., LEONARD, L., S., LOVELL, S. Evaluation of Chemicals with Endocrine Modulating Activity in a Yeast-Based Steroid Hormone Receptor Gene Transcription Assay. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 143, p. 205–212, 1997.

GARMSHAUSEN, J., KLOAS, W., HOFFMANN, F. 17 $\alpha$ -ethinylestradiol can disrupt hemoglobin catabolism in amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, v. 171, p. 34-40, 2015.

GASCÓN, J., OUBIÑA, A., BARCELÓ, D. Detection of endocrine-disrupting pesticides by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): application to atrazine. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 16, n. 10, p. 554, 1997.

GHISELLI, G. Avaliação da Qualidade das Águas Destinadas ao Abastecimento Público na Região de Campinas: Ocorrência e Determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal (PFHP). Tese (Doutorado em Química Analítica), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 181 fls., 2006.

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

GIUSTI, A., LAGADIC, L., BARSÍ, A. Investigating apical adverse effects of four endocrine active substances in the freshwater gastropod *Lymnaea stagnalis*. *Science of the Total Environment*, v. 493, p. 147-155, 2014.

GÓMEZ, M., J., HERRERA, S., SOLÉ, D. *et al.* Spatio-temporal evaluation of organic contaminants and their transformation products along a river basin affected by urban, agricultural and industrial pollution. *Science of The Total Environment*, v. 420, p.134–145, 2012.

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. 5813-33, 2012.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, 2002.

HOGAN N., S., DUARTE P., WADE M., G., LEAN D., R., S., TRUDEAU V., L. Estrogenic exposure affects metamorphosis and alters sex ratios in the northern leopard frog (*Rana pipiens*): Identifying critically vulnerable periods of developments. *Gen Comp Endocrinol*;156: 515–23, 2008.

HUERTA, B., RODRÍGUEZ-MOZAZ, S., BARCELÓ, D. Pharmaceuticals in biota in the aquatic environment: Analytical methods and environmental implications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 404, n. 9, p. 2611–2624, 2012.

HUMBLE J., L., HANDS E., SAARISTO M., LINDSTRÖM K., LEHTONEN K., K., DE CERIO O., D. Characterization of genes transcriptionally upregulated in the liver of sand goby (*Pomatoschistus minutus*) by 17 $\alpha$ -ethinylestradiol: Identification of distinct vitellogenin and zona radiata protein transcripts. *Chemosphere*; 90:2722–9, 2013.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Combined estrogen–progestogen contraceptives and combined estrogen–progestogen menopausal therapy. Volume 91. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. World Health Organization. Lyon, France, 2007.

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

HIROBE M., RUBIO F., FUJITA M., SHIRAIISHI H. Development of ELISAs for quantification of surfactants, endocrine disruptors and estrogens, and their application for environmental and biological sample analysis, 2004.

IFELEBUEGU, A., O., THEOPHILUS, S., C., BATEMAN, M., J. Mechanistic evaluation of the sorption properties of endocrine disrupting chemicals in sewage sludge biomass. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 7, pp. 617-622, 2010.

ISOBE T., SHIRAISHI H., YASUDA M., SHINODA A., SUZUKI H., MORITA M. J. Determination of estrogens and their conjugates in water using solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 984(2), pp.195–202, 2003.

JAFARI A., J., ABASABAD R., P, SALEHZADEH A. Endocrine disrupting contaminants in water resources and sewage in Hamadan city of Iran. *Iran J Environ Health Sci Eng*; 2:89–96, 2009.

JOBLING, S., NOLAN, M., TYLER, C. R. Widespread Sexual Disruption in Wild Fish. *Environmental Science Technology*, v. 32, pp. 2498-2506, 1998.

JOHNSON A., BELFROID A., DI CORCIA A. Estimating steroid estrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Science of The Total Environment*. 256 (2–3):163–73, 2000.

JORGENSEN, S., E., HALLING-SORENSEN, B. Drugs in the environment. *Chemosphere*, v. 40, pp. 691-699, 2000.

KATSIADAKI I., WILLIAM T., D., BALL J., S., BEAN T., P., SANDERS M., B., WU H. Hepatic transcriptomic and metabolomic responses in the Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) exposed to ethinyl-estradiol. *Aquat Toxicol*; 97:174–87, 2010.

KIDD, K., A., BLANCHFIELD, P., J., MILLS, K., PALACE, V., P., EVANS, R., E., LAZORCHAK, J., M., FLICK, R., W. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *PNAS*, 104, 21, 8897, 2007.

KIM H., R., PARK Y., J., KIM J. G., CHUNG K., H., OH S.M. Molecular cloning of vitellogenin gene and mRNA expression by 17 $\alpha$ -ethynylestradiol from slender bitterling. *Gen Comp Endocrinol*; 168:484–95, 2010.

KOH, Y., K., K., CHIU, T., Y., BOOBIS, A., CARTMELL, E., SCRIMSHAW, M., D., LESTER, J., N. Treatment and removal strategies for estrogens from wastewater. *Environ. Technol.* 29 (3), 245–267, 2008.

KÖRNER, W., BOLZ, U., SÜßMUTH, W., HILLER, G., SCHULLER, W., HANF, V. Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany. *Chemosphere*, 40(9–11), 1131–1142, 2000.

KUCH H., M., BALLSCHMITER K. Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC–(NCI)–MS in the Picogram per Liter Range. *Environmental Science & Technology*, 35(15):3201–6, 2001.

KUSTER M., DE ALDA M., J., BARCELÓ D. Estrogens and progestrogens in wastewater, sludge, sediments and soil. *Handb Environ Chem.* 5:1–24, 2005.

KUSTER, M., AZEVEDO, D., A., ALDA, M., J., L., NETO, F., R., A., BARCELÓ, D. Analysis of phytoestrogens, progestrogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). *Environment International*, v. 35, 997– 1003, 2009.

LABADIE P., HILL E., M. Analysis of estrogens in river sediments by liquid chromatographyelectrospray ionisation mass spectrometry, Comparison of tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr*; 1141:174–81, 2007.

LAGANA, A., BACALONI, A., LEVA, I., DE, FABERI, A., FAGO, G., MARINO, A. Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters. *Analytica Chimica Acta*, v. 501, n. 1, p.79–88, 2004.

LAI, K., M, JOHNSON, K., L., SCRIMSHAW, M., D., LESTER, J., N. Binding of

Waterborne Steroid Estrogens to Solid Phases in River and Estuarine Systems. *Environmental Science Technology*, v. 34, n. 18, p. 3890-3894, 2000.

LAI, K., M., SCRIMSHAW, M., D., LESTER, J., N. Prediction of the bioaccumulation factors and body burden of natural and synthetic estrogens in aquatic organisms in the river systems. *The Science of the total Environment.*, vol. 289, 159-168 p, 2002.

LAFLEUR, A., D., SCHUG, K., A. A review of separation methods for the determination of estrogens and plastics-derived estrogen mimics from aqueous systems. *Analytica Chimica Acta*, v. 696, n. 1–2, p. 6–26, 2011.

LARCHER S., DELBÈS G., ROBAIRE B., YARGEAU V. Degradation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol by ozonation – Identification of by-products and assessment of their estrogenicity and toxicity. *Environ Int*; 39:66–7, 2012.

LARSSON, D., G., J., ADOLFSSON-ERICI, M., PARKKINEN, J., PETTERSSON, M., BERG, A., H., OLSSON, P., E., FÖRLIN, L. Ethinylestradiol – an undesired fish contraceptive? *Aquat. Toxicol.* 45, 91, 1999.

LAURENSEN, J., P., RAANAN A., B., NAKISSA S. Ethinyl Estradiol and Other Human Pharmaceutical Estrogens in the Aquatic Environment: A Review of Recent Risk Assessment Data. *The AAPS Journal*, v. 16, n. 2, p. 299–310, 2014.

LEI B., HUANG S., ZHOU Y., WANG D., WANG Z. Levels of six estrogens in water and sediment from three rivers in Tianjin area, China. *Chemosphere*; 76:36–42, 2009.

LEGLER, J., DENNEKAMP, M., VETHAAK, A., D., BROWWER, A., KOEMAN, J. H., VAN DER BURG, B., MURK, A., J. Detection of Estrogenic Activity in Sediment-Associated Compounds Using In Vitro Reporter Gene Assays. *The Science Total Environmental*, v. 293, pp. 69-83, 2002.

LIMA, D., PAULA, L., M., DE. Ocorrência e remoção de estrogênios por processos de tratamento biológico de esgotos. *Revista Ambiente & Águas*. v. 12, 2017.

LI, J., JIANG, L., LIU, X., LV, J. Adsorption and aerobic biodegradation of four selected endocrine disrupting chemicals in soil – water system. *Int Biodeterior Biodegrad*, 76:3–7, 2013.

LIU, S., YING G., G., ZHOU L., J., ZHANG R., Q., CHEN Z., F., LAI H., J. Steroids in typical swine farm and their release into the environment. *Water Res*; 46:3754–68, 2012a.

LIU, Y., TAM, N., F., Y., GUAN, Y., GAO, B. Influence of a marine diatom on the embryonic toxicity of 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol to the Abalone *Haliotis diversicolor supertexta*. *Water Air Soil Pollut*; 223:4383–95, 2012b.

LUCENA, W., S. Determinação de estrogênios em afluentes da lagoa de Araruama - RJ. Tese (Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente) – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, 102 fls, 2013.

LUNA, T., O., PLAUTZ, S., C., SALICE, C., J. Chronic effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, fluoxetine, and the mixture on individual and population-level end points in *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 68, n. 4, p. 603-611, 2015.

LUO, Y., GUO, W., NGO, H., H., NGHIEM, L., D., HAI, F., I., ZHANG, J., LIANG, S., WANG, X., C. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Sci. Total Environ*. 473–474, 619–641, 2014.

MAGALHÃES, D., de P., FERRÃO FILHO, A., da S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, v.12, n.3, p.355-381, 2008.

MAJEWSKY, M., CAVALCANTI, C., B., G., CAVALCANTI, C., P., HORN, H., FRIMMEL, F., H., ABBT-BRAUN, G. Estimating the trend of micropollutants in lakes as decision-making support in IWRM: a case study in Lake Paranoá, Brazil. *Environmental Earth Sciences*, 72(12), 4891–4900, 2014.

MANICKUM, T., JOHN, W., TERRY, S. Determination of selected steroid estrogens in treated sewage effluent in the Umsunduzi River water catchment area. *Hydrol Curr, Res* 293:1–7, 2011.

MANICKUM, T., JOHN, W. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disruptor compounds at the localwaste water works Darvill Pietermaritzburg S Africa. *Sci Total Environ*, 468–469:584–597, 2013.

MANICKUM, T.; JOHN, W. The current preference for the immuno-analytical ELISA method for quantitation of steroid hormones (endocrine disruptor compounds) in wastewater in South Africa. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 407, n. 17, p. 4949–4970, 2015.

MAZOTTO, V., GAGNÉ, F., MARINM, G., RICCIARDI, F., BLAISE, C. Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: A review. *Environ Int* 2008; 34:531–45, 2008.

MINISTRY OF ENVIRONMENT PROVINCE OF BRITISH COLUMBIA. Water quality guidelines for pharmaceutically-active compounds (PhACs): 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2). Technical Appendix, 2009.

MOL, H., G., J., SUNARTO, S., STEIJGER, O., M. Determination of Endocrine Disruptors in Water After Derivatization with N-Methyl-N-(Tert.-Butyldimethyltrifluoroacetamide) Using Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection. *Journal Chromatography A*, v. 879, pp. 97-112, 2000.

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.

MOREIRA, D., S., AQUINO, S., F., AFONSO, R., J., SANTOS E., P., DE PÁDUA, V., L. Occurrence of endocrine disrupting compounds in water sources of Belo Horizonte Metropolitan Area, Brazil. *Environmental Technology*, v. 30, n. 10, p. 1041-1049, 2009.

MOREIRA, M., A., AQUINO, S., F., COUTRIM, M., X. Determination of endocrine-disrupting compounds in waters from Rio das Velhas, Brazil, by liquid chromatography/high resolution mass spectrometry (ESILC-IT-TOF/MS). *Environmental Technology*, v. 32, n. 11-12, p. 1409-1417, 2011.

MULLER, M., RABENOELINA, F., BALAGUER, P., PATUREAU, D., LEMENACH, K., BUDZINSKI, H., BARCELÓ, D., de ALDA M., L., KUSTER M., DELGENÈS J., P., HERNANDEZ-RAQUET G. Chemical and biological analysis of endocrine-disrupting hormones and estrogenic activity in an advanced sewage treatment plant. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 27, n. 8, p. 1649-1658, 2008.

NOPPE, H., VERSLYCKE, T., DE WULF, E., VERHEYDEN, K., MONTEYNE, E., VAN CAETER, P., PETER, J., JANSSEN, C., DE BRABANDER, H., *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 1–8, 2007.

PAILLER, J., Y., KREIN, A., PFISTER, L., HOFFMANN, L., GUIGNARD, C. Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg. *Sci Total Environ*, 407:4736–43, 2009.

PAL, A., GIN, K., Y., H., LIN, A., Y., C., REINHARD, M. 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.

PARTRIDGE, C., BOETTCHER, A., JONES, A., G. Short-term exposure to a synthetic estrogen disrupts mating dynamics in a pipefish. *Horm Behav*, 58:800–7, 2010.

PAULA, L., M. de. Avaliação da remoção simultânea de matéria orgânica, nutrientes e 17  $\alpha$ -etinilestradiol pelo sistema de tratamento de esgotos por reator em batelada. Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 97 fls., 2017.

PAZ, A., M., ABEGG, I., FILHO, J. DE P., A., OLIVEIRA, V., L., B. Modelos e modelizações no ensino: um estudo da cadeia alimentar. *Ensaio Pesquisa em Educação em Ciências*, vol 8, nº 2, dezembro, 2006.

PEDROUZO, M., BORRULL, F., POCURULL, E.; MARCÉ, R. M. Presence of pharmaceuticals and hormones in waters from sewage treatment plants. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 217, n. 1-4, p. 267-281, 2011.

PESSOA, G., P., DE SOUZA, N., C., VIDAL, C., B., ALVES, J., A., FIRMINO, P., I., NASCIMENTO, R., F., DOS SANTOS A., B. Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, v. 490, 288-295, 2014.

PETRIE, B., MCADAM, E., J., LESTER, J., N., CARTMELL, E. Assessing potential modifications to the activated sludge process to improve simultaneous removal of a diverse range of micropollutants. *Water Res.* 62, 180–192, 2014.

PICAZO, O., BECERRIL-MONTES, A., HUIDOBRO-PEREZ, D., GARCIA-SEGURA, L.M. Neuroprotective actions of the synthetic estrogen 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol in the Hippocampus. *Cell Mol Neurobiol*, 30:675–82, 2010.

PIVELI, R., P., KATO, M., T. Qualidade das águas e poluição: aspectos físico-químicos. [S.l: s.n.], 2006.

QUEIROZ, F., B., BRANDT, E., M., F., AQUINO, S., F., CHERNICHARO, C., A., AFONSO, R., J. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw sewage and their behavior in UASB reactors operated at different hydraulic retention times. *Water Science & Technology*, v. 6612, p. 2562-2569, 2012.

RADESCA, Fernanda Dias. Uso de sistemas unitários de esgoto e drenagem como estratégia alternativa e escalonada no tempo para o saneamento ambiental. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 176 fls., 2018.

RAMADE, F. Ecotoxicologie. Masson, Paris, France, 205p, 1977.

REIS FILHO, W., COUTINHO, J., A., VIEIRA, E., M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. *Química Nova*, Vol. 29, No. 4, 817-822, 2006.

REYS, L., L. Tóxicos Ambientais Desreguladores do Sistema Endócrino. *RFML Série III*; v. 6 (4), pp. 213-225, 2001.

ROBINSON, C., D., BROWN, E., CRAFT, J., A., DAVIES, I., M., MOFFAT, F., PIRIE, D. Effects of sewage effluents and ethynyl oestradiol upon molecular markers of oestrogenic exposure, maturation and reproductive success in the sand goby (*Pomatoschistus minutus*, Pallas). *Aquat Toxicol*; 62:119–34, 2003.

ROBINSON, B., J., HELLOU, J. Biodegradation of endocrine disrupting compounds in harbour seawater and sediments. *Sci Total Environ*; 407:5713–8, 2009.

SAARISTO, M., CRAFT, J., A., LEHTONEN, K., K., LINDSTRÖM, K. Sand goby (*Pomatoschistus minutus*) males exposed to an endocrine disrupting chemical fail in nest and mate competition. *Horm Behav*; 56:35–321, 2009.

SANDERSON, H., BRAIN, R., A., JOHNSON, D., J., WILSON, C., J., SOLOMON, K., R. *Toxicology*, 203, 27, 2004.

SANTANA, J., da S. Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano do Distrito Federal. Tese (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 101 fls., 2013.

SCHNEIDER, C., SCHÖLER, H., F., SCHNEIDER, R., J. Direct sub-ppt detection of the endocrine disruptor ethinylestradiol in water with a chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay. *Analytica Chimica Acta*, 551(1–2), 92–97, 2005.

SILVA, S., R. Quantificação de substâncias com atividade estrogênica e caracterização da toxicidade embriolarval em zebrafish (*Danio rerio*) nos efluentes das Estações de Tratamento

de Esgotos Sul e Norte e no Lago Paranoá, Brasília-DF. Tese (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 274 fls., 2015.

SNYDER, S., A., KEITH, T., L., VERBRUGGE, D., A., SNYDER, E., M., GROSS, T., S., KANNAN, K., GIESY, J., P. Analytical methods for detection of selected estrogenic compounds in aqueous mixtures. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2814–2820, 1999.

SNYDER, S., A., ADHAM, S., REDDING, A., M., CANNON, F., S., DECAROLIS, J., OPPENHEIMER, J., WERT, E., C., YOON, Y. Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination* 202 (1–3), 156–181, 2007.

SOARES, J., COIMBRA, A., M., REIS-HENRIQUES, M., A., MONTEIRO, N., M., VIEIRA, M., N., OLIVEIRA, J., M., GUEDES-DIAS, P., FONTAÍNHAS-FERNANDES, A., PARRA, S., S., CARVALHO, A., P., CASTRO, L., F., SANTOS, M., M. Disruption of zebrafish (*Danio rerio*) embryonic development after full life-cycle parental exposure to low levels of ethinylestradiol. *Aquatic toxicology*. Amsterdam, Netherlands, v. 95, n. 4, p. 330–338, 2009.

SODRÉ, F., F., LOCATELLI, M., A., F., JARDIM, W., F. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: A sewage-to-tap issue. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 206, n. 1–4, p. 57–67, 2010.

SODRÉ, F., F., PESCARA, I., C., MONTAGNER, C., C., JARDIM, W., F. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Microchem J*; 96:92–8, 2010.

SODRÉ, F., F., SANTANA, J., S., SAMPAIO, T., R., BRANDÃO, C., C., S. Seasonal and spatial distribution of caffeine, atrazine, atenolol and deet in surface and drinking waters from the Brazilian federal district. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(9), 1854–1865, 2018.

SOUZA, N., C. de. Avaliação de Micropoluentes Emergentes em Esgotos e Águas

Superficiais. 183 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 183 fls., 2011.

STACHEL, B., EHRHORN, U., HEEMKEN, O., P., LEPOM, P., REINCKE, H., SAWAL, G. Xenooestrogens in the River Elbe and its tributaries. *Environ Pollut*; 124:497–507, 2003.

SUAREZ, S., LEMA, J., M., OMIL, F. Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. *Water Research*, 44: 3214-3224, 2010.

SURI, R., P., S., SINGH, T., S., CHIMCHIRIAN, R., F. Effect of process conditions on the analysis of free and conjugated estrogen hormones by solid-phase extraction–gas chromatography/mass spectrometry (SPE–GC/MS). *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 184, n. 3, p. 1657-1669, Mar 2012.

SWART, N., POOL, E. Rapid detection of selected steroid hormones from sewage effluents using an ELISA in the Kuils River water catchment area. *J Immunoassay Immunochem*, 28(4):395–408, 2007.

TERNES, T., A., STUMPF, M., MUELLER, J. Behavior and Occurrence of Estrogens in Municipal Sewage Treatment Plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *The Science Total Environment*, v. 225 (1-2), p. 81-90, 1999.

TERNES, T., A., MEISENHEIMER, M., MCDOWELL, D., SACHER, F., BRAUCH, H., PREUSS, G., WILME, U., ZULEI-SEIBERT, N. Removal of Pharmaceuticals during Drinking Water Treatment. *Environmental Science Technology*, v. 36 (17), pp. 3855-3863, 2002.

TIEDEKEN, E., J., TAHAR, A., MCHUGH, B., & ROWAN, N. J. Monitoring, sources, receptors, and control measures for three European Union watch list substances of emerging concern in receiving waters – A 20 year systematic review. *Science of the Total Environment*, 574, 1140–1163, 2017.

TOMŠÍKOVÁ, H., AUFARTOVÁ, J., SOLICH, P., NOVÁKOVÁ, L., SOSA-FERRERA, Z., SANTANA-RODRÍGUEZ, J., J. High-sensitivity analysis of female-steroid hormones in environmental samples. *TrAC Trends Anal. Chem.* 34, 35–58, 2012.

TRENHOLM, R., VANDERFORD, B., HOLADY, J., REXING, D., SNYDER, S. Determination of household chemicals using gas chromatography and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1190(1–2), 253–262, 2008.

URASE, T., KIKUTA, T. Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. *Water Research*, 39(7), pp.1289–1300, 2005.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. 2011. Disponível em: <http://www.epa.gov/esd/bios/pdf/contaminants-biosolids2.pdf>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2018.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Environmental Technology Verification Report. Ethynylestradiol (EE2) microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) Test Kits. Abraxis Ecologiena. Setembro, 2009. Disponível em: [https://archive.epa.gov/nrmrl/archiveetv/web/pdf/ethynylestradiol\\_ee2\\_microplate\\_test\\_kits.pdf](https://archive.epa.gov/nrmrl/archiveetv/web/pdf/ethynylestradiol_ee2_microplate_test_kits.pdf). Acesso em: 25 de novembro de 2018.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Determination of hormones in drinking water by solid phase extraction (spe) and liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). EPA Document N°. 815-B-10-001 November, 2010. Disponível em: <http://water.epa.gov/drink>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2018.

USGS. United States Geological Survey, Disponível em: <http://toxics.usgs.gov/regional/emc/index.html>, 2012. Acesso em: 14 de fevereiro de 2018.

VANDERFORD, B., J., PEARSON, R., A., REXING, D., J., SNYDER, S., A. Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 75, 6274–628, 2003.

VAN HAANDEL, A. E MARAIS, G. O comportamento do sistema de lodo ativado: teoria e aplicações para projetos e operação. Campina Grande, PB. Epgraf, 1999.

VETHAAK, A., D., LAHR, J., SCHRAP, S., M., BELFROID, A., C, RIJS, G., B., J., GERRITSEN, A., DE BOER, J., BULDER, A., S., GRINWIS, G., C., KUIPER, R., V., LEGLER, J., MURK, T., A., PEIJNENBURG, W., VERHAAR, H., J., DE VOOGT, P. An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands. *Chemosphere*; 59:511–24, 2005.

VIGLINO, L., ABOULFADL, K., PRE´VOST, M., SAUVE´, S. Analysis of natural and synthetic estrogenic endocrine disruptors in environmental waters using online preconcentration coupled with LC–APPI-MS/MS. *Talanta*, v. 76, n. 5, p. 1088-1096, Sep. 15, 2008.

VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuais: Volume 4, Lodos ativados. 3ª. Edição. Belo Horizonte, MG. Editora UFMG, 2012.

VOSGES, M., BRAGUER, J., C., COMBARNOUS, Y. Long-term exposure of male rats to low-dose ethinylestradiol (EE2) in drinking water: Effects on ponderal growth and on litter size of progeny. *Reprod Toxicol*; 25:161–8, 2008.

WHO. World Health Organization. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012. Disponível em <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/>. Acesso em: 17 de novembro de 2018.

YAN, Z., LU, G., LIU, J., JIN, S. An integrated assessment of estrogenic contamination and feminization risk in fish in Taihu Lake, China. *Ecotoxicol Environ*; 84:334–40, 2012.

YING, G., G., KOOKANA, R., S., KUMAR, A., MORTIMER, M. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queensland. *Sci Total Environ*; 407(18):5147–55, 2009.

ZHANG, Z., L., HIBBERD, A., ZHOU, J., L. Optimization of derivatisation for the analysis of estrogenic compounds in water by solid-phase extraction gas chromatography- mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, v. 577, n. 1, p. 52-61, 2006.

ZHANG, Y., ZHOU, J., L. Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater. *Chemosphere* 73 (5), 848–853, 2008.

ZHANG, X., GAO, Y., LI, Q., LI, G., GUO, Q., YAN, C. Estrogenic compounds and estrogenicity in surface water, sediments, and organisms from Yudang Lagoon in Xiamen, China. *Arch Environ Contam Toxicol*, 61:93–100, 2011a.

ZHANG, Z., RHIND, S., M., KERR, C., OSPREY, M., KYLE, C., E. Selective pressurized liquid extraction of estrogenic compounds in soil and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta*; 685:29–35, 2011b.

ZHANG, Y., WANG, H., QIN, F., LIU, S., WU, T., LI, M. Molecular characterization of estrogen receptor genes in loach *Paramisgurnus dabryanus* and their expression upon 17 $\alpha$ -ethynylestradiol exposure in juveniles. *Gen Comp Endocrinol*; 178:194–205, 2012.

ZUO, Y., ZHANG, K., DENG, Y. Occurrence and photochemical degradation of 17 $\alpha$  ethynylestradiol in Acushnet River Estuary. *Chemosphere*; 63:1583–90, 2006.