



344 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA PRESENTE EM ÁGUA SUPERFICIAL DA LAGOA DE PIRATININGA, RJ

Daniele Maia Bila ⁽¹⁾

Engenheira Química pela UFRJ. Mestre e doutora em Engenharia Química pela COPPE/UFRJ. Professor Associado do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DESMA/UERJ)

Giovana Ferreira dos Santos ⁽¹⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista pela UERJ.

Allan dos Santos Argolo

Engenheiro Civil pela UERJ. Mestre e doutorando em Engenharia Ambiental pelo Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DEAMB/ UERJ)

Priscila Maria de Oliveira Muniz Cunha

Bióloga. Mestre e Doutoranda em Engenharia Ambiental pelo Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DEAMB/ UERJ) (@gpbioitema)

André Luís de Sá Salomão

Biólogo. Mestre em Engenharia Ambiental (PEAMB/UERJ) e Doutor em Ciências Ambientais (LNU/Sweden). Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Ambiental Sanitária e do Meio Ambiente da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DESMA/ UERJ) (@gpbioitema)

Endereço ⁽¹⁾: Rua São Francisco Xavier 524, 5029-F., Maracanã - Rio de Janeiro - Cep: 20550-900 – Brasil. - e-mail: danielebila@eng.uerj.br

RESUMO

Diversos compostos químicos, incluindo pesticidas, produtos industriais e estrogênios naturais e sintéticos, têm sido classificados como desreguladores endócrinos. A crescente presença desses contaminantes em águas superficiais foi observada em vários países, destacando-se a necessidade do desenvolvimento e aprimoramento de métodos analíticos eficazes na avaliação dos seus potenciais impactos nos organismos aquáticos. Este estudo teve como objetivo analisar e quantificar a atividade estrogênica em águas superficiais da lagoa de Piratininga, em Niterói, Rio de Janeiro, utilizando o ensaio *in vitro* Yeast Estrogen Screen (YES). O estudo foi conduzido por meio da análise de amostras de água superficial, coletadas entre os meses de agosto de 2022 e fevereiro de 2023. Foi observada atividade estrogênica com concentrações de equivalente estradiol (EQ-E2) variando de 15 a 65,4 ng/L nas amostras de agosto de 2022. Na campanha de novembro de 2022, as concentrações foram na faixa de 7,3 a 55,4 ng/L de EQ-E2. As amostras coletadas no mês de fevereiro 2023 passaram por análise em suas fases dissolvida e particulada. No entanto, estas apresentaram um resultado abaixo do limite de detecção do método. Todavia, cabe ressaltar que a necessidade de um monitoramento constante permanece, devido à preocupação com a interação sinérgica dessas substâncias em ambientes aquáticos naturais. A avaliação da citotoxicidade das amostras não detectou inibição do crescimento da levedura, indicando que a quantificação da atividade estrogênica não foi afetada por substâncias citotóxicas. Sendo assim, o ensaio YES revelou-se uma ferramenta eficaz para detectar a presença de desreguladores endócrinos em águas superficiais. Este método tem o potencial de aprofundar a compreensão dos ecossistemas aquáticos e de influenciar a formulação de políticas e regulamentações ambientais mais rigorosas.

PALAVRAS-CHAVE: Hormônios; Xenoestrogênios; Desreguladores endócrinos; Ambientes aquáticos; Ensaio *in vitro* YES.



SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO
DE ENGENHARIA SANITÁRIA
E AMBIENTAL

INTRODUÇÃO

Os contaminantes emergentes, presentes nas matrizes ambientais (solo, água e ar), originam-se de fontes antrópicas e naturais. Tais compostos não são monitorados nos programas de monitoramento tradicionais. No entanto, estes podem desencadear efeitos adversos nos ecossistemas e na saúde humana. Incluem-se hormônios, fármacos, nanomateriais, entre outros (TORGIN, 2018). A poluição por contaminantes emergentes em corpos hídricos é resultado do lançamento de esgoto industrial, doméstico, efluentes de estações de tratamento e infiltração no solo (BERNSTEIN, 2022). A falta de tratamento adequado contribui inclusive para a presença desses contaminantes na água tratada no Brasil (BORGES, 2016), sendo tal contaminação um desafio ligado à modernização social, globalização e superprodução industrial (MAIA, 2020).

A avaliação da atividade estrogênica em águas superficiais é crucial para preservar a vida aquática, a saúde dos ecossistemas e a proteção da saúde humana (LOPES, 2015). Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 3, 6 e 14 da Agenda 2030 destacam a importância de lidar com a contaminação por substâncias com atividade estrogênica, promovendo a sustentabilidade dos ecossistemas aquáticos e a saúde global. Os desreguladores endócrinos (DEs), como os pesticidas e demais produtos químicos, podem alterar o sistema endócrino de seres vivos, podendo afetar o crescimento, o desenvolvimento em geral e a reprodução de diversos organismos (SILVA, 2015).

Existem dois principais grupos de substâncias que podem alterar o funcionamento do sistema endócrino. O primeiro inclui hormônios naturais, como estrogênio, progesterona e testosterona, presentes em humanos e animais, além dos fitoestrogênios encontrados em plantas como a soja. A segunda categoria abrange substâncias sintéticas, que incluem hormônios produzidos artificialmente, usados em contraceptivos orais e na alimentação animal, xenoestrogênios, substâncias químicas fabricadas para uso industrial, agrícola e em produtos de consumo, além de substâncias diversas com potencial de mimetizar os efeitos dos hormônios quando em contato com os receptores hormonais (GHISELLI & JARDIM, 2007).

Diante disso, a necessidade de aplicar métodos analíticos eficientes se torna cada vez mais necessário para avaliar os potenciais impactos dessas substâncias sobre os organismos expostos. Bioensaios *in vitro*, como o Yeast Estrogen Screen (YES), são exemplos de ferramentas que podem ser utilizadas para detectar compostos com atividade estrogênica e citotóxica (CUNHA et al., 2021).

O bioensaio *in vitro* YES permite estimar a atividade estrogênica total de uma mistura de substâncias, utilizando leveduras geneticamente modificadas que contêm o DNA do receptor de estrogênio humano em seu genoma. A reação é desencadeada quando uma substância estrogênica se liga ao receptor de estrogênio humano na levedura *Saccharomyces cerevisiae*, o que induz a produção da enzima β -galactosidase. Esta promove a degradação do substrato cromogênico CPRG (amarelo) presente no meio de análise, resultando na formação do produto CPR (rosa) e a mudança de cor indica a atividade estrogênica na amostra. (VALADARES, 2020).

O objetivo deste estudo foi determinar a atividade estrogênica em amostras de águas superficiais da Lagoa de Piratininga (RJ), utilizando o ensaio *in vitro* YES, assim como, avaliar o percentual da atividade estrogênica na fase dissolvida e na fração de sólidos suspensos de tais amostras.

MATERIAIS E MÉTODOS

A Lagoa de Piratininga está localizada no município de Niterói, inserida na Região Metropolitana do Rio de Janeiro. Esta lagoa, abrange uma área de 2,9 km², apresenta profundidade média de 0,6 metros (PRO SUSTENTÁVEL, s. d) e possui aproximadamente 15 mil habitantes no entorno (TEIXEIRA, 2021). Os principais contaminantes da lagoa são a alta carga orgânica, resultante do despejo irregular de esgoto doméstico e do descarte inadequado de resíduos (PRO SUSTENTÁVEL, s.d).

Três campanhas de coleta de água superficial foram realizadas em cinco pontos distintos (agosto e novembro/2022 e fevereiro/2023) (Figura 1). As amostras foram acidificadas a pH 2 com HCl e armazenadas em refrigerador.





Figura 1– Locais de coleta de água na Lagoa de Piratininga.

As amostras foram filtradas em laboratório (0,70 e 0,45 μm) e, posteriormente, as membranas passaram por extração com metanol assistida por ultrassom. O extrato foi diluído em água ultrapura e acidificado a pH 2 (HCl). Em seguida, as amostras filtradas e extratos dos sólidos suspensos foram submetidos a extração em fase sólida (EFS) com cartucho Strata-X (Phenomenex) e eluídos com acetona. Os analitos foram secos em fluxo de N_2 e reconstituídos com etanol.

O ensaio YES foi realizado segundo metodologia proposta por Routledge e Sumpter (1996), com modificações de Gomes et al. (2023). As análises foram realizadas em capela de fluxo laminar usando microplacas de 96 poços. Os extratos das amostras, obtidos na EFS, foram diluídos em série para obtenção da curva da amostra. Em seguida, 10 μL de cada diluição foram transferidos para a placa de ensaio (Figura 2) em duplicata. A curva do controle positivo 17 β -Estradiol (E2) foi obtida pelo mesmo processo na faixa de 2724 – 1,333 ng L^{-1} e etanol foi utilizado como controle negativo. As amostras e controles foram intercalados para evitar contaminação cruzada.

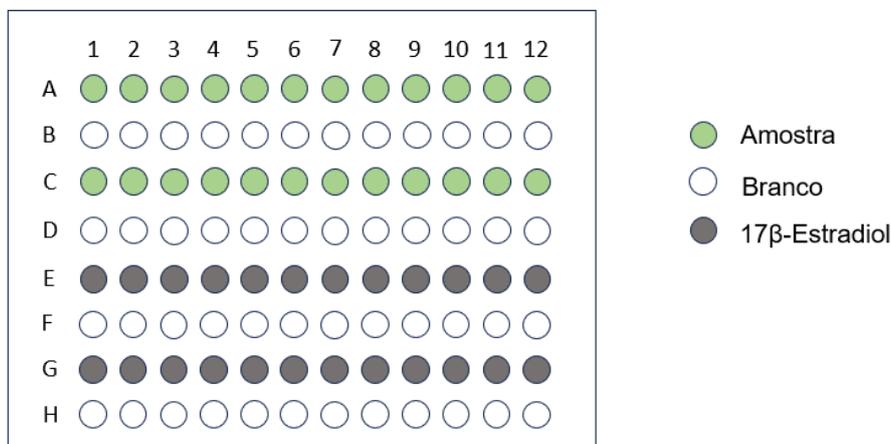


Figura 2 – Exemplo de disposição típica de amostras em uma placa de 96 poços para o ensaio YES.



Após evaporação dos 10 µL, acrescentou-se 200 µL do meio de análise em cada poço da placa. Em seguida, as placas foram devidamente fechadas, seladas e agitadas por 2 minutos em um agitador de placas. Após incubação de 72 horas a 30°C, foram medidas as absorvâncias a 575 nm e a 620 nm para avaliar cor e turbidez, respectivamente, e calcular a absorvância corrigida. Valores de citotoxicidade (inibição do crescimento da levedura) foram obtidos a partir do controle da Abs₆₂₀. Os resultados de atividade estrogênica em equivalente estradiol (EQ-E2) em ng/L foram calculados interpolando-se os dados da curva da amostra com a curva concentração-resposta do 17β-estradiol.

RESULTADOS

A Tabela 2 apresenta os valores de EQ-E2 em ng/L obtidos no ensaio *in vitro* YES para amostras de água superficial coletadas em cinco pontos na lagoa de Piratininga, em três campanhas.

Tabela 1: Valores de EQ-E2 obtidos nas amostras de água superficial da lagoa de Piratininga coletadas no período de agosto de 2022 a fevereiro de 2023.

Coleta	Amostra	EQ-E2 (ng/L)				Total	Citotoxicidade máxima
		Dissolvido		Material Particulado			
		Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão		
Agosto de 2022	P01	65,4	9,2	NR	-	65,4	0%
	P02	38,2	19,2	NR	-	38,2	0%
	P03	28	2,8	NR	-	28	0%
	P04	15	1,4	NR	-	15	12%
	P05	29,9	13,1	NR	-	29,9	0%
Novembro de 2022	P01	55,4	3,9	NR	-	55,4	0%
	P02	30	5,4	NR	-	30	0%
	P03	16,8	1,7	NR	-	16,8	0%
	P04	7,3	1,6	NR	-	7,3	0%
	P05	22,4	2,2	NR	-	22,4	0%
Fevereiro de 2023	P01	< LD	-	< LD	-	< LD	0%
	P02	< LD	-	< LD	-	< LD	0%
	P03	< LD	-	< LD	-	< LD	0%
	P04	< LD	-	< LD	-	< LD	0%
	P05	< LD	-	30,4	3,5	30,4	0%

Legenda: Média: média dos valores de Eq-E2 obtidos a partir das duplicatas das amostras no ensaio; Desvio: desvio padrão da duplicata; Total: soma dos valores de Eq-E2 das fases dissolvida e particulada; Citotoxicidade: inibição do crescimento da levedura no ensaio; NR: não realizado; LD: limite de detecção.

O estudo abordou o emprego do ensaio YES na determinação da atividade estrogênica em amostras ambientais, incluindo a avaliação da citotoxicidade como desafio analítico. Na lagoa de Piratininga, amostras de água superficial não apresentaram citotoxicidade no ensaio, permitindo o cálculo da atividade estrogênica das amostras. Nas amostras obtidas nas duas primeiras coletas, após 72 horas da realização do ensaio, os poços das placas de ensaio apresentaram modificação na coloração indicando a presença de atividade estrogênica. Nos meses de agosto e novembro de 2022, os valores de EQ-E2 médios variaram de 7,3 a 65,4 ng/L. A Figura 3 apresenta os valores máximos de EQ-E2 obtidos nas amostras coletadas em cada ponto de amostragem.



Figura 3– Mapa da Lagoa de Piratininga exibindo as concentrações máximas de EQ-E2 em ng/L quantificadas nas amostras de água superficial em cada ponto de coleta.

Durante a campanha de agosto de 2022, as amostras coletadas no P01 apresentaram valores elevados de EQ-E2, atingindo 65,4 ng/L, e na campanha de novembro, a concentração foi de 55,4 ng/L. Com exceção das amostras P01, P02, P03 e P04 coletadas em fevereiro de 2023, todas as amostras apresentaram valores de EQ-E2 acima da concentração de referência específica EBT (*effect-based trigger value*) de 0,97 ng/L (EQ-E2). Segundo Escher et al. (2018), concentrações acima desse limite podem causar efeitos adversos aos organismos expostos em ecossistemas aquáticos.

As análises de atividade estrogênica realizadas nas amostras coletadas em fevereiro de 2023, tanto no material dissolvido quanto no extrato do material particulado, indicaram que os valores de EQ-E2 estavam majoritariamente abaixo do limite de detecção do ensaio. Isso indica que, nas condições aplicadas do ensaio YES, atividade estrogênica foi virtualmente ausente. Porém, um método mais sensível ou um maior fator de concentração das amostras poderia resultar em resultados quantificáveis. A única exceção foi o ponto P05, que apresentou um valor de 30,4 ng/L de EQ-E2 no material particulado. Diferentes fatores podem influenciar na medição da atividade estrogênica associada ao material particulado, tais como a concentração de sólidos suspensos, sua granulometria e o teor de carbono orgânico (ARGOLO et al., 2021). Tais fatores, assim como especificidades de cada ponto de coleta podem explicar a diferença nos resultados.

A amostra de água superficial coletada no P03 evidenciou uma redução de atividade estrogênica, decaindo de 28 ng/L em agosto para 16,8 ng/L em novembro do mesmo ano. Identificar as causas exatas das variações de cada ponto requer uma análise mais detalhada das fontes de contaminação e das condições ambientais específicas de cada ponto de coleta.

O processo de urbanização no entorno da bacia de drenagem da Lagoa de Piratininga é apontado como fator de contaminação, principalmente com descarte irregular de esgoto não tratado, evidenciando impactos negativos na qualidade da água (BARROS, 2018). Portanto, os altos valores de EQ-E2 obtidos nas amostras de água superficial no presente estudo podem estar relacionadas à presença de compostos estrogênicos no esgoto doméstico *in natura* ou sem o devido tratamento, lançado ao longo da lagoa.

Os resultados do presente estudo destacaram a variação na contribuição de cada ambiente à contaminação por desreguladores endócrinos, sugerindo que os despejos de esgoto, contendo compostos estrogênicos, podem ser as principais fontes de contaminação do corpo hídrico avaliado. A pesquisa ressalta a importância do monitoramento de contaminantes emergentes e sua regulamentação para entender e mitigar impactos na saúde pública e nos ecossistemas aquáticos.



O ensaio YES revelou ser uma metodologia eficaz na avaliação da atividade estrogênica em águas superficiais impactadas pelo lançamento de efluentes domésticos, contribuindo para o avanço do conhecimento e a formulação de regulamentações ambientais relacionadas pela presença dos desreguladores endócrinos no ambiente aquático. As análises das amostras coletadas de agosto de 2022 a fevereiro de 2023 mostraram valores médios de EQ-E2 variando de 7,3 a 65,4 ng/L. Esses resultados levantam preocupações devido à associação entre níveis de EQ-E2 ($EBT > 0,97$ ng/L) e impactos adversos na biota aquática.

Os resultados de EQ-E2 das amostras de água coletadas em fevereiro de 2023 (fase dissolvida e material particulado) indicaram valores abaixo do limite de detecção do ensaio, exceto no ponto P05 (30,4 ng/L de EQ-E2 no material em particulado). No entanto, a detecção limitada ou ausência de valores não descarta a necessidade de preocupação, podendo ser um evento isolado.

Este estudo destacou a importância de expandir a compreensão e regulamentação relacionadas ao descarte e à presença de poluentes emergentes em recursos hídricos, especialmente devido ao potencial estrogênico. A região analisada enfrenta riscos significativos de introdução de contaminantes emergentes, levantando preocupações sobre os impactos na saúde da população local e na biota da área. Esses resultados reforçam a necessidade de um monitoramento contínuo e aprofundado para mitigar os potenciais riscos associados à presença desses poluentes na região da lagoa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARGOLO, A. S. et al. Insights into total estrogenic activity in a sewage-impacted urban stream assessed via ER transcriptional activation assay: Distribution between particulate and dissolved phases. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 208, p. 111574, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111574>.
2. BARROS, Luciana Valéria Cardoso; AQUINO, Maria Eduarda Radler de; QUINTANILHA, Priscila. Estudo de caso Lagoa de Piratininga. 2018. 74 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Composição Paisagística) - Escola de Belas Artes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.
3. BERNSTEIN, A. Contaminantes emergentes na água. *Revista Educação Pública*, Rio de Janeiro, v. 22, nº 34, 13 de setembro de 2022. Disponível em: <https://educacaopublica.cecierj.edu.br/artigos/22/34/contaminantes-emergentes-na-agua>.
4. BORGES, R. M. et al. Uso de filtros de carvão ativado granular associado a microrganismos para remoção de fármacos no tratamento de água de abastecimento.
5. CUNHA, D. L. DA et al. Atividade estrogênica de desreguladores endócrinos em águas superficiais do município de Santa Maria Madalena, Sudeste do Brasil. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 26, n. 1, p. 21–28, 2021.
6. ESCHER, B. I. et al. Effect-based trigger values for in vitro and in vivo bioassays performed on surface water extracts supporting the environmental quality standards (EQS) of the European Water Framework Directive. *Science of the Total Environment*, v. 628–629, 2018.
7. GHISELLI, Gislaïne; JARDIM, Wilson F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Química nova*, v. 30, p. 695-706, 2007.
8. GOMES, Giselle et al. Interferences in the yeast estrogen screen (YES) assay for evaluation of estrogenicity in environmental samples, chemical mixtures, and individual substances. *Toxicology in Vitro*, v. 88, p. 105551, 2023
9. HIRAKAWA, Ikumi et al. Gene expression profiles in the testis associated with testis-ova in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 α -ethinylestradiol. *Chemosphere*, v. 87, n. 7, p. 668-674, 2012.
10. LOPES, Vania Rodrigues. Avaliação da atividade estrogênica em esgotos sanitários e águas de reúso na região metropolitana de São Paulo. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
11. MAIA, Anne Caroline Bruno Laurentino. Regime de responsabilidade pelos danos causados pelos contaminantes emergentes como risco do desenvolvimento / Anne Caroline Bruno Laurentino Maia. – Brasília: Uniceub, 2020.



SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO
DE ENGENHARIA SANITÁRIA
E AMBIENTAL



12. PRO SUSTENTÁVEL. Parque Orla Piratininga Alfredo Sirkis. Disponível em: <<http://www.prosustentavel.niteroi.rj.gov.br/parque-orla-de-piratininga/>>. Acesso em: 25 set. 2023. [s.d.].
13. ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J. P. Estrogenic Activity of Surfactants and Some of their Degradation Products Assessed Using a Recombinant Yeast Screen. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 15, n. 3, p. 241-248, 1996.
14. SILVA, Giselle Gomes Moreira da. Avaliação da qualidade de águas superficiais e de sedimentos quanto à toxicidade e atividade estrogênica. 2015. 121 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental: controle da poluição urbana e industrial) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.
15. TEIXEIRA, Fernanda Augusta Pinto et al. Da natureza-lugar à natureza-sujeito: uma paisagem em fluxo na Lagoa de Itaipu, em Niterói (RJ). 2021.
16. TORGIN, Cristina. Contaminantes emergentes podem ser uma ameaça na água para consumo humano. Estudos socioeconômicos e ambientais. Embrapa Meio Ambiente, 23 mar. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/32796742/contaminantes-emergentes-podem-ser-uma-ameaca-na-agua-para-consumo-humano>. Acesso em: 26 de maio 2024.
17. VALADARES, Louise da Cruz Felix. Avaliação da estrogenicidade, ecotoxicidade e caracterização de sedimentos de praias em Angra dos Reis. 2020. 58 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.