

551 - ATIVIDADE ESTROGÊNICA NA BACIA DO RIO GUANDU: AVALIAÇÃO APÓS UMA DÉCADA COM O ENSAIO IN VITRO YES

Vanessa Lins da Silva⁽¹⁾

Graduanda de Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Júlia Paiva Almeida⁽¹⁾

Graduanda de Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Allan dos Santos Argolo⁽¹⁾

Engenheiro Civil e mestre em Engenharia ambiental pela UERJ. Doutorando em Engenharia Ambiental pela UERJ.

Giselle Gomes⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (RJ). Mestre e Doutora em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Daniele Maia Bila⁽¹⁾

Engenheira Química pela UFRRJ. 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 (DESM/UERJ).

Endereço⁽¹⁾: Rua São Francisco Xavier, 524 - sala 5029F - Maracanã - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 20550-013 - Brasil - Tel: +55 (21) 97977-8281 - e-mail: danielebila@eng.uerj.br

RESUMO

O rio Guandu é um dos principais mananciais do estado do Rio de Janeiro, responsável pelo abastecimento de mais de 9 milhões de habitantes. Embora forneça água para cerca de 80% da população da Região Metropolitana do Rio de Janeiro, o rio enfrenta graves problemas ambientais, em razão dos altos níveis de poluição associados ao crescimento demográfico e industrial na região, além da ineficiência dos serviços de saneamento básico. Efluentes domésticos e industriais vêm causando, ao longo dos anos, o agravamento da degradação da qualidade da água. Isso se deve aos efeitos da mistura de poluentes lançados sem tratamento, muitos dos quais são classificados como Desreguladores Endócrinos (DEs). Os DEs são substâncias exógenas ou misturas que, mesmo em pequenas concentrações, causam alterações no funcionamento do sistema endócrino de seres vivos, resultando em efeitos adversos à saúde dos organismos expostos, de sua prole e subpopulações. A detecção desses compostos no meio ambiente é desafiadora devido às suas baixas concentrações, à ampla variedade de substâncias envolvidas e à ausência de regulamentação específica. Uma alternativa para avaliar a presença de misturas de DEs no ambiente é por meio da análise da atividade estrogênica utilizando bioensaios *in vitro*. No presente trabalho, foi realizada a avaliação da atividade estrogênica das águas do Rio Guandu por meio do bioensaio *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES), além de um estudo comparativo considerando um intervalo de 10 anos. Os resultados apresentados neste estudo indicam elevada atividade estrogênica, com valores de equivalente-estradiol superiores ao valor de *effect-based trigger* (EBT) de 0,97 ng L⁻¹, sugerindo possível risco ao ecossistema aquático.

PALAVRAS-CHAVE: Desreguladores Endócrinos, atividade estrogênica, rio Guandu, *Yeast Estrogen Screen*, água superficial.

INTRODUÇÃO

O rio Guandu é um dos principais mananciais do estado do Rio de Janeiro, sendo a fonte de água de mais de 9 milhões de habitantes. Desta maneira, a Estação de Tratamento de Água (ETA) Guandu fornece cerca de 80% de água potável para a região metropolitana do Rio de Janeiro.

Apesar da importância deste manancial, o rio Guandu tem enfrentado graves problemas ambientais. Este cenário ocorre devido aos altos níveis de poluição causados, principalmente, pelo crescimento demográfico e industrial na região, bem como pela ineficiência de saneamento básico (BACHA *et al.*, 2022). Tais efluentes podem ser tóxicos e também contribuir com o aporte de Desreguladores Endócrinos (DEs), impactando o equilíbrio e a qualidade das águas do manancial. Os DEs são substâncias exógenas ou misturas que causam alterações no

funcionamento do sistema endócrino de seres vivos, causando efeitos adversos para a saúde do organismo exposto, de sua progênie ou de (sub)populações (WHO, 2012). Vale ressaltar que estas substâncias, mesmo em baixas concentrações, da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , podem causar efeito adverso. Os Desreguladores Endócrinos podem ser agrupados em duas classes: (I) naturais, que engloba hormônios femininos e fitoestrogênios e (II) sintéticas, compreendendo alguns tipos de pesticidas e seus subprodutos, dioxinas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, ftalatos, bisfenol-A, metais e fármacos (BILA e DEZOTTI, 2007; KABIR *et al.*, 2015).

O sistema endócrino é responsável pela produção de hormônios - substâncias químicas com funções essenciais para o funcionamento dos organismos. Nesse contexto, a literatura científica alerta para o potencial de DEs em provocar efeitos adversos aos seres vivos. Na perspectiva animal, têm sido observadas consequências como a diminuição na eclosão de ovos de pássaros, peixes e tartarugas; feminização de peixes machos; problemas no sistema reprodutivo em peixes, répteis, pássaros e mamíferos e alterações no sistema imunológico de mamíferos marinhos (VILELA *et al.*, 2018). Em alguns casos, tais efeitos podem levar ao declínio da população. No caso dos seres humanos, os efeitos relatados incluem a redução da contagem de esperma; aumento da incidência de câncer de mama, testículo e próstata; endometriose, síndrome do ovário policístico; e aumento da liberação de prolactina em mulheres (AQUINO *et al.*, 2021; VILELA *et al.*, 2018).

O bioensaio *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES) destaca-se pela capacidade de detectar e quantificar a atividade estrogênica de DEs em amostras ambientais. Trata-se de uma ferramenta para prever a possibilidade de efeitos em organismos expostos; compreender os mecanismos de ação envolvidos; além de ser de fácil aplicação em larga escala para o monitoramento de compostos estrogênicos e seus efeitos no ambiente. O ensaio apresenta, ainda, elevada reprodutibilidade, repetibilidade e sensibilidade em relação às matrizes ambientais. (GOMES *et al.*, 2023).

O ensaio YES utiliza uma linhagem da levedura *Saccharomyces cerevisiae* modificada geneticamente, contendo um receptor de estrogênio (RE) associado a um gene repórter. Na presença de uma substância estrogênica, como um DE, o receptor é ativado, resultando na produção e liberação da enzima β -galactosidase. Esta enzima, por sua vez, metaboliza o substrato cromogênico *red- β -D-galactopyranoside* (CPRG), por meio de hidrólise, gerando o composto clorofenol (CPR) e resultando em uma resposta colorimétrica.

Ao longo da última década, estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar a qualidade da água e os impactos ambientais no rio Guandu, com ênfase na presença de desreguladores endócrinos (SILVA, 2015; LICURGO, 2016). Essas pesquisas indicam uma contaminação do manancial, atribuída principalmente ao aporte de efluentes domésticos e industriais, que têm contribuído significativamente para a degradação da qualidade da água.

Diante desse cenário, o presente estudo foi motivado pela recorrente detecção da presença de DEs nos corpos d'água da bacia do rio Guandu, resultado de décadas de poluição por efluentes domésticos e industriais. Para tanto, foi realizada a avaliação da atividade estrogênica da água utilizando o ensaio *in vitro* YES, além de uma análise comparativa considerando um intervalo de dez anos.

OBJETIVOS

Avaliar a atividade estrogênica de águas superficiais em um trecho da bacia do Rio Guandu, no estado do Rio de Janeiro, utilizando o ensaio *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES), e realizar uma análise comparativa dos resultados obtidos com dados de monitoramento de uma década anterior.

METODOLOGIA UTILIZADA

Em 2023, amostras de água superficial da bacia do Rio Guandu foram coletadas em frascos de vidro âmbar de 1L, previamente descontaminados, em cinco pontos diferentes nos rios Guandu, Poços e Queimados (Tabela 1 e Figura 1). O preparo das amostras foi iniciado em até 24h após a coleta. Os volumes foram acidificados a pH 2 com HCl.

Tabela 1 – Identificação e coordenadas geográficas dos pontos de coleta de amostra.

Ponto	Corpo Hídrico	Coordenadas	Posição relativa
G1	Rio Guandu	22°43'40"S 43°38'26"W	A montante da ETA Guandu
P1	Rio Poços	22°43'46"S 43°37'47"W	
Q1	Rio Queimados	22°43'49"S 43°32'32"W	
G2	Rio Guandu	22°43'41"S 43°37'43"W	
G3	Rio Guandu	22°53'43"S 43°43'54"W	

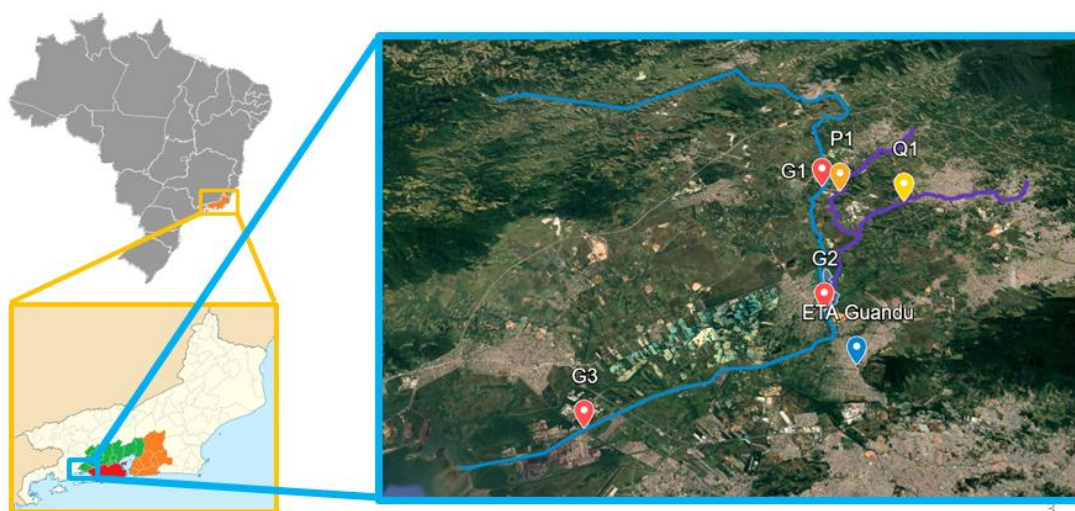


Figura 1: Localização dos pontos de coleta da amostra.

As amostras foram preparadas conforme o protocolo de Gomes *et al.* (2023) (Figura 2). A alíquota de 500 mL de cada amostra foi filtrada por meio do processo de filtração em membranas de fibra de vidro (0,7 µm, Merck) e de nitrocelulose (0,45 µm, Merck), sucessivamente. Após a filtração, as membranas de fibra de vidro foram transferidas para um béquer de 250 mL descontaminado. O material particulado suspenso (MPS) retido nas membranas foi submetido a extração com solvente assistida por ultrassom. Em cada béquer foram adicionados 10 mL de metanol (grau HPLC), sendo coberto com papel alumínio e mantido em banho ultrassônico por 10 minutos. Três ciclos foram realizados e ao final de cada um, o extrato em metanol foi vertido para um balão volumétrico de 250 mL, o qual foi avolumado com água ultrapura. O extrato final diluído foi acidificado a pH 2 com HCL para a extração em fase sólida (EFS).

A EFS das amostras filtradas e dos extratos da membrana foi realizada em sistema de Manifold à vácuo (Agilent Technologies®). Utilizou-se o cartucho Strata-X (sorvente à base de sílica, 500mg/6mL), adquirido da Phenomenex. Os cartuchos foram condicionados com 3x2 mL de hexano, 2 mL de acetona, 3x2mL de metanol e 2x5mL de água ultrapura ajustada para pH 3 com HCl 3M P.A., da Merck. A percolação das amostras foi realizada sob vácuo, em seguida, realizou-se o *clean up* com 10 mL de metanol + água ultrapura (1:9) para remover os possíveis interferentes retidos no Strata-X.

A eluição dos analitos do cartucho Strata-X foi realizada com 2x2mL de acetona. Os eluatos foram secos até a evaporação completa do solvente. Por fim, os analitos foram ressolubilizados com 1 mL de etanol, atingindo o fator de concentração (FC) igual a 500, para serem submetidos ao ensaio YES.

Os reagentes utilizados no YES foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Pureza > 98%). Para a EFS, hexano, metanol e acetona (Grau HPLC) foram fornecidos pela Tedia. A água ultrapura foi obtida de um sistema Milli-Q (Millipore).

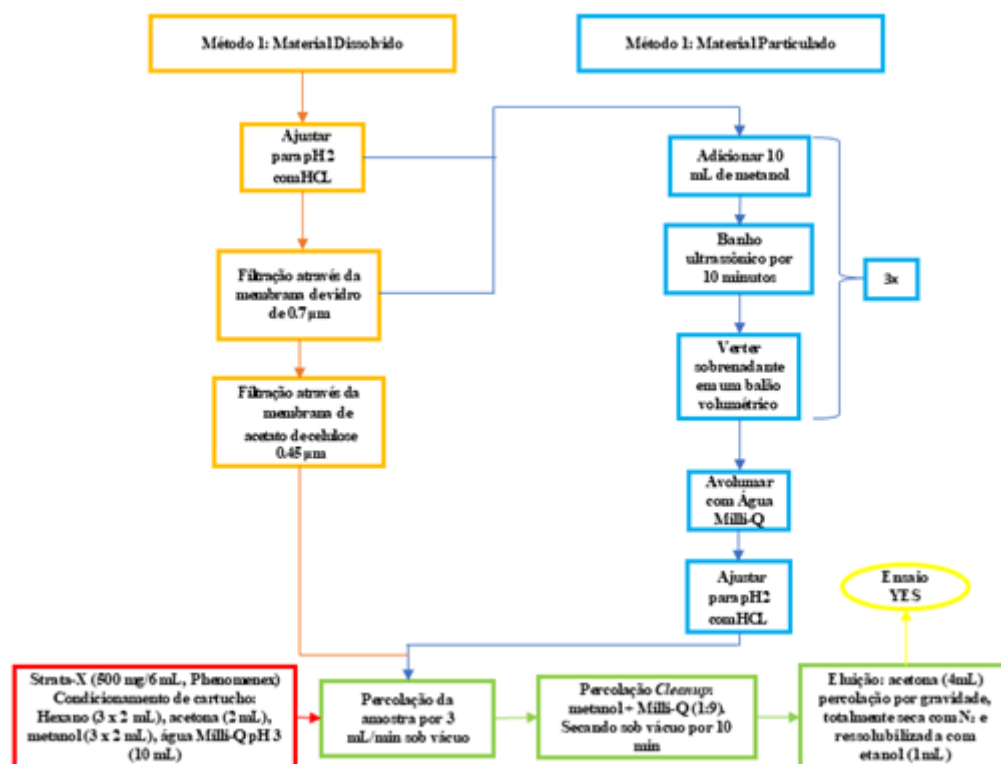


Figura 2: Metodologia de preparo de amostras para avaliação da atividade estrogênica das fases dissolvida e particulada de água superficial com o ensaio YES

Fonte: Adaptado de Gomes *et al.* (2023)

Para a análise da atividade estrogênica, utilizou-se o ensaio YES segundo a metodologia de Gomes et al. (2023) e as soluções manuseadas no ensaio (meio mínimo, glicose, ácido L-aspártico, L-treonina, sulfato de cobre, vitamina, CPRG, meio de cultivo e meio de análise) foram preparadas de acordo com a metodologia de Routledge e Sumpter (1996).

Previamente ao ensaio (24 horas), foi realizado o inóculo da levedura, adicionando-se 10 mL de meio de cultivo e 100 µL do pré-inóculo em um novo frasco de cultivo. Este foi mantido em incubadora com agitação orbital (modelo Q816M20, Quimis) a 28°C e 150 rpm.

Todos os procedimentos do ensaio YES, assim como o procedimento de preparo da levedura, foram realizados na cabine de segurança biológica classe II A1 (Filterflux® SBIIA1) e com materiais estéreis descartáveis, como placas, ponteiros, pipetas graduadas, ou esterilizados, como frascos de vidro.

O ensaio YES foi realizado em microplacas de 96 poços, onde cada fileira foi ocupada por uma amostra em 12 concentrações de diluição seriada, pelo controle negativo (somente etanol) ou pelo controle positivo (12 concentrações de diluição seriada do composto 17β-estradiol (E2) (Figura 3).

Posteriormente, 10 µL de cada poço foram transferidos – em duplicata – para a placa de ensaio, sendo evaporados em fluxo laminar. Para evitar contaminações, os controles negativos foram intercalados entre as fileiras contendo amostras (Figura 2). Em seguida, 200 µL do meio de análise contendo meio de cultivo, leveduras ($1,35 \times 10^6$ células mL⁻¹) e CPRG (100 mg L⁻¹) foram adicionados em cada poço da placa. As placas foram então lacradas, agitadas por 120 segundos em um agitador de placas (IKA® MS-3) e incubadas a 30 °C por 72 horas em estufa (Nova Ética 410).

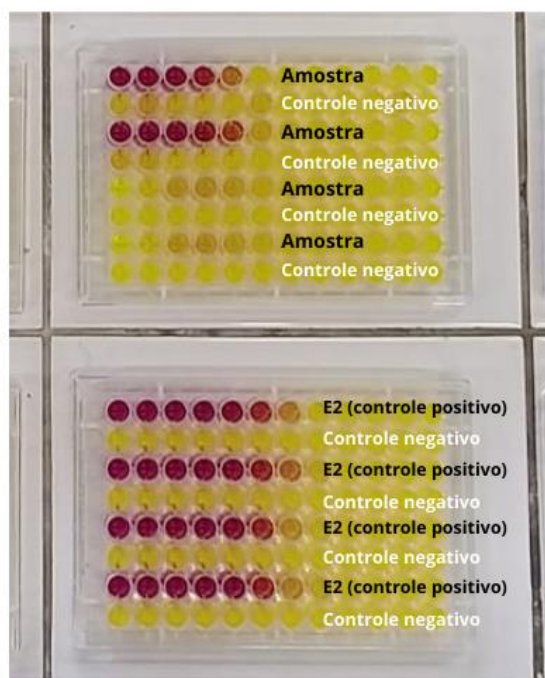


Figura 3: Exemplo de arranjo das placas do ensaio YES

A atividade estrogênica foi avaliada com base na alteração de cor nos poços: de amarelo para vermelho, indicando resposta positiva. Para a análise colorimétrica dos resultados, foram realizadas leituras de absorbância nos comprimentos de onda de 575 nm (cor) e 620 nm (turbidez), utilizando um espectrofotômetro leitor de microplacas VersaMax (Molecular Devices®).

Os dados foram analisados em termos de absorbância corrigida (equação 1).

$$Abs_{corr}(\text{amostra}) = Abs_{575}(\text{amostra}) - (Abs_{620}(\text{amostra}) - Abs_{620}(\text{controle negativo})) \quad \text{Equação (1)}$$

As curvas dose-resposta foram geradas com o Origin® 6.0 (OriginLab), usando absorbâncias médias corrigidas versus concentrações em escala logarítmica. A curva padrão do controle positivo E2 foi ajustada a uma função logística simétrica. Concentrações em equivalentes-estradiol (EQ-E2) das amostras ambientais foram obtidas em $ng\ L^{-1}$ através da interpolação entre a curva dose-resposta do controle E2 e os dados das amostras (equação 2).

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + (x_0/x)^p} + A_2 \quad \text{Equação (2)}$$

Nesse caso, A_1 e A_2 são os valores de absorbância corrigida máxima e mínima da curva de E2 ajustada. O x_0 é a CE50 para E2, em $ng\ L^{-1}$. O termo p é a inclinação da curva sigmoidal. O par ordenado (x,y) é relacionado a uma concentração de amostra e sua resposta na absorbância corrigida.

O EQ-E2 ficou sendo o menor y (absorbância), que elucidou uma resposta agonista, multiplicado pelo fator de diluição (FD) usado no ensaio e dividido pelo fator de concentração (FC) da EFS (equação 3). O fator de concentração utilizado neste trabalho foi de 500 (FC de 500).

$$EQ - E2 = \frac{Y \times FD}{FC} \quad \text{Equação (3)}$$

Os resultados de atividade estrogênica em equivalente-estradiol (EQ-E2) foram então comparados com dados obtidos por Silva (2015) e Licurgo (2016), que investigaram a atividade estrogênica de amostras coletadas ao longo de 2014 e 2015 no Rio Guandu e na Lagoa de Captação e Tomada d'água da ETA Guandu com o ensaio YES. A magnitude dos resultados foi também interpretada considerando o valor de EBT (*effect-based trigger*)

proposto por Escher et al. (2018) para o ensaio YES, acima do qual é considerado que há risco para o ecossistema aquático.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 4 apresenta os valores de EQ-E2 obtidos para as amostras de água superficial, considerando as fases dissolvida e de material particulado suspenso (MPS). Os dados referem-se a três campanhas de coleta realizadas em 2023, e indicam o valor total resultante das análises.

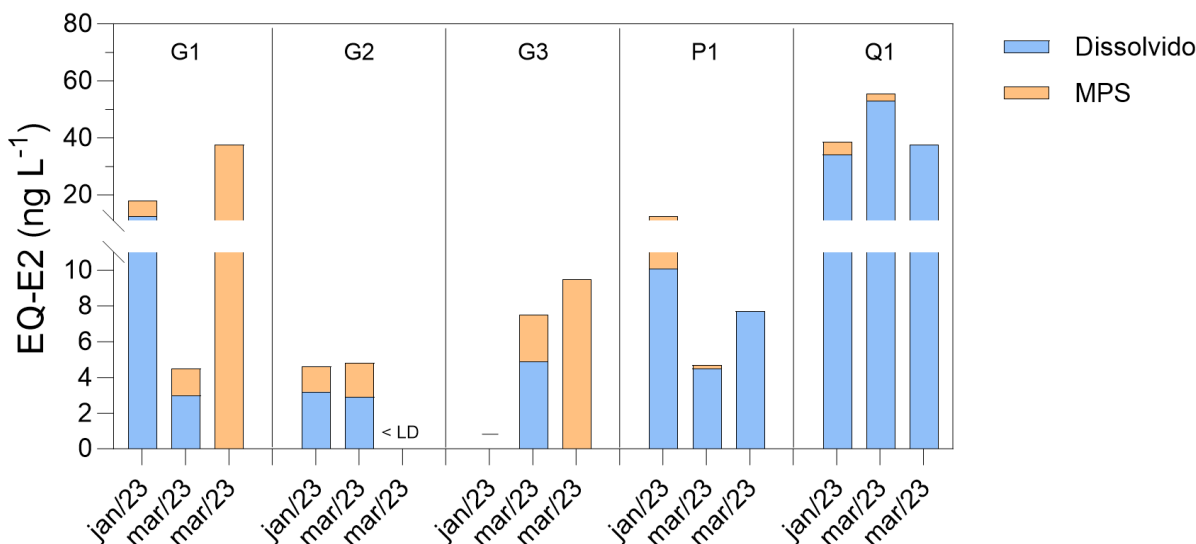


Figura 4: Valores de equivalente-estradiol (EQ-E2) em ng L⁻¹ das fases dissolvida e material particulado suspenso (MPS) obtidas para três coletas nos rios Guandu (G1, G2 e G3), Poços (P1) e Queimados (Q1) realizadas em 2023. LD: Limite de Detecção.

Os valores de EQ-E2 total ao longo do trecho investigado do Rio Guandu variou de 4,5 a 37,7 ng L⁻¹, sendo que uma das amostras apresentou concentração abaixo do limite de detecção do ensaio (1,6 ng L⁻¹). Nos rios dos Poços e Queimados, os valores totais estiveram nas faixas de 4,7 a 12,5 ng L⁻¹ e 37,5 a 55,4 ng L⁻¹, respectivamente, indicando maior ocorrência de substâncias estrogênicas e maior poluição. De modo geral, a maior parte da atividade estrogênica foi quantificada na fase aquosa, que contribuiu com 60 a 100% do EQ-E2 total.

Uma menor contribuição dos sólidos suspensos > 0,7 µm para o EQ-E2 total, em comparação com a fase aquosa, também foi observada em estudo anterior com amostras do rio Maracanã (ARGOLO *et al.*, 2021), embora os autores tenham identificado maiores concentrações associadas a partículas finas, inferiores a 0,7 µm. O fracionamento de substâncias estrogênicas entre as fases dissolvida e material suspenso (MPs) depende de diversos fatores, entre os quais a concentração, a granulometria e a área específica dos sólidos suspensos, o teor de matéria orgânica dissolvida e particulada na amostra, além de propriedades físico-químicas dos poluentes, como coeficientes de partição octanol-água (MA e YATES, 2018).

Considerando apenas a fase aquosa, os valores de EQ-E2 variaram de < LD a 12,4 ng L⁻¹ no Rio Guandu, de 4,5 a 10,1 ng L⁻¹ no Rio dos Poços e de 18,6 a 76,77 ng L⁻¹ no Rio Queimados. Esses resultados incluem duas coletas adicionais, nas quais apenas esta fase aquosa foi analisada, conforme apresentado na Figura 5. Ademais, seis amostras do rio Guandu apresentaram valores de EQ-E2 abaixo do limite de detecção do ensaio, resultando em uma frequência de resposta positiva de 57%. Por outro lado, nos rios dos Poços e Queimados, todas as amostras apresentaram resposta estrogênica, com 100% de ocorrência. (Figura 5.a)

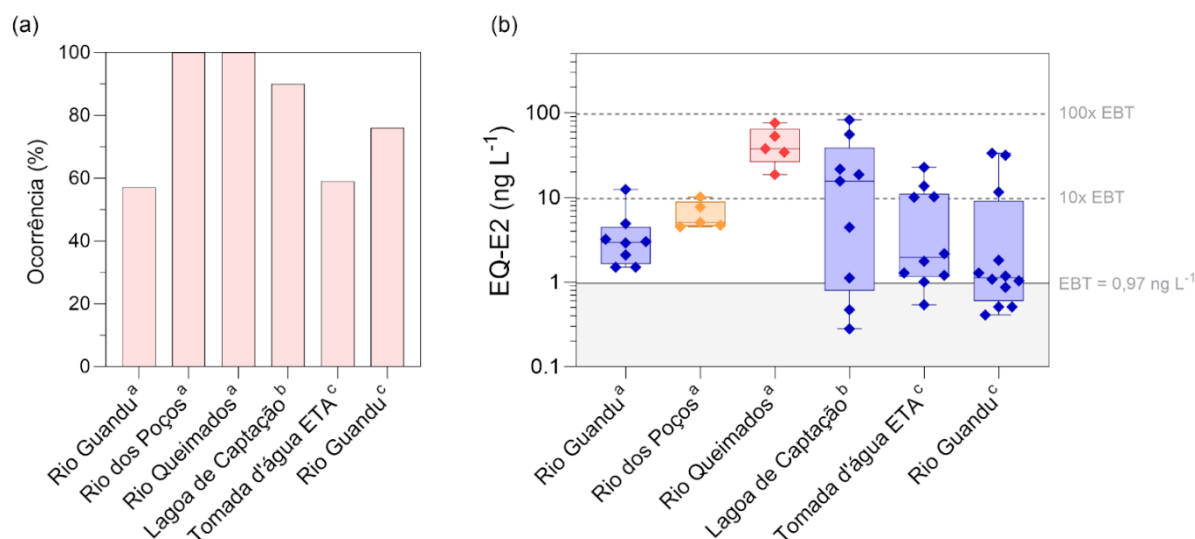


Figura 5: Síntese da análise comparativa da atividade estrogênica de amostras da bacia do Rio Guandu avaliadas com o ensaio YES. (a) Ocorrência de amostras com resposta positiva e equivalente-estradiol (EQ-E2) quantificado em fase aquosa; (b) Valores de EQ-E2 em ng L⁻¹ e sua distribuição representada em boxplot. A área abaixo da linha contínua representa concentrações inferiores ao valor de EBT (*effect-based trigger*) de 0,97 ng L⁻¹ proposto para o ensaio YES.

Legenda: ^a Este estudo; ^b Silva (2015); ^c Licurgo (2016).

Observa-se que, das amostras coletadas em 2023, todas as que tiveram a atividade estrogênica quantificada apresentaram valores de EQ-E2 elevados, superiores ao valor de EBT (0,97 ng L⁻¹), sugerindo risco potencial ao ecossistema aquático (Figura 5.b). Destaca-se, em especial, o rio Queimados, cujos valores foram entre 10 e 100 vezes superiores ao EBT, evidenciando o elevado grau de degradação e poluição do corpo hídrico. O rio dos Poços também apresentou mediana superior à observada no Rio Guandu, demonstrando que a qualidade das águas dos afluentes é, de fato, inferior à do rio principal. Esses rios drenam áreas urbanas da Baixada Fluminense, região marcada por baixos índices de saneamento básico, o que sugere que a poluição está fortemente associada ao lançamento de esgoto *in natura*.

Silva (2015) avaliou a atividade estrogênica de amostras coletadas em 2014 nas proximidades da margem da Lagoa de Captação da ETA Guandu, alimentada tanto pelo rio Guandu quanto por afluentes como o rio dos Poços, via rio Queimados, e o rio Ipiranga. A Figura 5 ilustra que, no presente estudo, embora as amostras avaliadas tenham apresentado maior ocorrência de atividade estrogênica e mediana superior a 10 vezes o valor de EBT, os dados revelam grande variabilidade. Essa variação pode ser atribuída ao fato da qualidade da água nesse local ser fortemente influenciada pela vazão do Rio Guandu, que limita a contribuição das águas dos afluentes mais poluídos.

Ao comparar os resultados obtidos para o Rio Guandu neste estudo com os reportados por Licurgo (2016), com amostras coletadas tanto na tomada d'água da ETA Guandu quanto no próprio curso do rio, observa-se atualmente uma mediana mais elevada (Figura 5.b), o que pode sugerir um depreciação na qualidade da água e intensificação da poluição por compostos estrogênicos. Ademais, o estudo realizado na década passada apresenta dois agrupamentos distintos de amostras: um com concentração mais elevada de EQ-E2 (> 10 vezes o valor de EBT) e outro com níveis mais baixos de poluição. Essa distinção se deve, em parte, à estiagem histórica de 2014, que reduziu significativamente a vazão do rio Guandu (BRITTO *et al.*, 2016) e comprometeu a qualidade da água bruta. Ao se considerar apenas as amostras obtidas no regime de vazão normalizado, as medianas observadas seriam ainda menores, o que ampliaria a diferença em relação ao cenário atual. Contudo, é necessário ampliar a base de dados com novas coletas ao longo do ano para uma avaliação mais robusta do panorama atual.

Os resultados obtidos neste estudo para o rio Guandu são comparáveis aos reportados por ARCHER *et al.* (2020) que avaliou a atividade estrogênica de águas superficiais na África do Sul com o ensaio YES e encontrou valores de EQ-E2 na faixa de 0,2 a 18,9 ng L⁻¹. Além disso, a atividade estrogênica com EQ-E2 máximo de 16 ng L⁻¹

também foi reportada por Dias *et al.* (2015) para o Rio Paraíba do Sul, enquanto a faixa de 0,01 a 40,27 ng L⁻¹ foi encontrada num estudo com 217 amostras de água superficial na China (YAO *et al.*, 2018), ambos com o ensaio YES.

Neste estudo, apenas água bruta foi considerada, não havendo informação sobre a eficiência da ETA Guandu para a remoção de substâncias estrogênicas e seu efeito na água tratada. Não obstante, Tang *et al.* (2023) quantificaram estrogênios naturais e análogos do bisfenol em estações de tratamento de água na China com layout similar a ETA Guandu, contendo coagulação e floculação, filtração e cloração, estimando uma eficiência de 68,2 a 99,9% na remoção de EQ-E2. No pior cenário, as águas do Rio Guandu, que apresentaram o EQ-E2 máximo de 12,4 ng L⁻¹, seriam tratadas e teriam sua atividade estrogênica reduzida ao nível de 3,9 ng L⁻¹, o que ainda é um valor relativamente elevado e pode evidenciar um risco associado. Contudo, esta avaliação teórica deve ser confirmada com mais estudos.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os resultados apresentados neste estudo evidenciam níveis preocupantes de atividade estrogênica nos corpos hídricos da bacia do rio Guandu, com concentrações de equivalente-estradiol (EQ-E2) superiores ao valor de *effect-based trigger* (EBT) de 0,97 ng L⁻¹, indicando risco ao ecossistema aquático. Em particular, o rio Queimados destaca-se como o mais impactado, apresentando valores até 100 vezes superiores ao EBT, o que corrobora seu elevado grau de degradação ambiental. Tal cenário é atribuído, em grande parte, ao lançamento de esgoto *in natura* e à precariedade do saneamento básico em áreas adjacentes.

A análise comparativa sugere uma possível deterioração na qualidade da água do rio Guandu em relação à década passada, evidenciada por uma mediana mais elevada de EQ-E2 no presente estudo. A variabilidade observada ao longo do tempo reforça a influência de fatores hidrológicos, como a vazão do rio Guandu, na qualidade da água nos pontos de coleta. Além disso, os dados indicam que a fase aquosa contribui de forma predominante para os valores totais de EQ-E2, em concordância com estudos anteriores. Ainda assim, ressalta-se a importância de se considerar o fracionamento das substâncias estrogênicas entre as fases dissolvida e particulada.

Diante da relevância da bacia do rio Guandu, os resultados deste estudo reforçam a necessidade de ações integradas para o controle de poluentes estrogênicos, incluindo investimentos em infraestrutura de saneamento, monitoramento contínuo e a implementação de políticas públicas eficazes. Adicionalmente, novas investigações ao longo de diferentes períodos hidrológicos são fundamentais para aprofundar o entendimento sobre a dinâmica das substâncias estrogênicas na bacia e subsidiar estratégias para mitigação de seus impactos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCHER, E.; WOLFAARDT, G.M.; VAN WYK, J.H.; VAN BLERK, N. Investigating (anti)estrogenic activities within South African wastewater and receiving surface waters: Implication for reliable monitoring. *Environmental Pollution*, v. 263, 2020, p. 114424.
- ARGOLO, A.S.; GOMES, G.; BILA, D.M. 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, 2021, p. 111574.
- ARGOLO, A.S.; GOMES, G.; BILA, D.M. (Anti)estrogenic activity impacted by complex environmental matrices: A DOM and multiphase distribution approach. *Chemosphere*, v. 310, 2023, p. 136917.
- BACHA, L.; VENTURA, R.; BARRIOS, M.; SEABRA, J.; TSCHOEKE, D.; GARCIA, G.; MASI, B.; MACEDO, L.; GODOY, J.M. O.; COSENZA, C.; REZENDE C.E. de; LIMA, V.; OTTONI, A.B.; THOMPSON, C.; THOMPSON, F. Risk of Collapse in Water Quality in the Guandu River (Rio de Janeiro, Brazil). *Microbial Ecology*, v. 84, n. 1, 2022, p. 314–324.
- BRITTO, A.L.; FORMIGA-JOHNSON, R.M.; CARNEIRO, P.R.F.. Water supply and hydrosocial scarcity in the Rio de Janeiro Metropolitan Area. *Ambiente & Sociedade*, v. 19, n. 1, 2016.
- DIAS, A.C.V.; GOMES, F.W.; BILA, D.M.; JUNIOR, G.L.S.; DEZOTTI, M. Analysis of estrogenic activity in environmental waters in Rio de Janeiro state (Brazil) using the yeast estrogen screen. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 120, 2015, p. 41-47.
- ESCHER, B.I.; AIT-ISSA S.; BEHNISCH, P.A.; BRACK, W.; BRION, F.; BROUWER, A.; BUCHINGER, S.; CRAWFORD, S.E.; PASQUIER, D.D.; HAMERS, T.; HETTWER, K.; HILSCHEROVA, K.; HOLLERT, H.; KASE, R.; KIENLE, C.; TINDALL, A.J.; TUERK, J.; VAN DER OOST, R.;

- VERMEIRSEN, E.; NEALE, P.A., 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.
- GOMES, G.; ARGOLLO, A.; FELIX, L.; BILA, D.M. 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, 2023, p. 105551.
- LICURGO, F.M.S. *Desenvolvimento de metodologia para detecção de ftalatos e alquilfenóis em águas superficiais utilizando cromatografia gasosa e espectrometria de massas e avaliação de seus potenciais estrogênicos*. Rio de Janeiro, Brasil, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.
- MA, L.; YATES, S.R. Dissolved organic matter and estrogen interactions regulate estrogen removal in the aqueous environment: A review. *Science of the Total Environment*, v. 640–641, 2018, p. 529–542.
- SILVA, G.G.M. *Avaliação da qualidade de águas superficiais e de sedimentos quanto à toxicidade e atividade estrogênica*. Rio de Janeiro, Brasil, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2015.
- TANG, Z.; LIU, Z.H.; WANG, H.; WAN, Y.P.; DANG, Z.; GUO, P.R.; SONG, Y.M.; CHEN, S. Twelve natural estrogens and ten bisphenol analogues in eight drinking water treatment plants: Analytical method, their occurrence and risk evaluation. *Water Research*, v. 243, 2023, p. 120310.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Possible developmental early effects of endocrine disruptors on child health*. WHO, 2012.
- YAO, B.; LI, R.; YAN, S.; CHAN, S.; SONG, W. Occurrence and estrogenic activity of steroid hormones in Chinese streams: A nationwide study based on a combination of chemical and biological tools. *Environment International*, v. 118, 2018, p.

