

II-152 - AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DOS ETROGÊNIOS EM ESGOTO BRUTO E TRATADO EM UMA ETE DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO (RJ)

Mariana Macêdo Barcellos⁽¹⁾

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Mestranda em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Giselle Gomes Moreira da Silva⁽²⁾

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Mestre em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Alexsandro Araujo da Silva⁽³⁾

Graduado em Química. Mestre em Agroquímica pela Universidade Federal de Viçosa. Doutor em Ciências pela Universidade Estadual de Campinas.

Daniele Maia Bila⁽⁴⁾

Graduada em Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Mestre em Engenharia Química pela COPPE/ Universidade Federal do Rio de Janeiro. Doutora em Engenharia Química pela COPPE/ Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Endereço⁽¹⁾: Avenida Prefeito Odenir Francisco da Costa, qd. 32, lt.2. Araçatiba - Maricá - RJ- CEP: 24901-430 – Brasil - Tel: +55 (21) 986198288 - e-mail: mariana.m.barcellos@gmail.com

RESUMO

Diversos resíduos de compostos químicos, estrogênios naturais e sintéticos considerados contaminantes emergentes têm sido encontrados em matrizes ambientais. Embora detectados em concentrações a nível de traço, esses micropoluentes são capazes de promover alterações no sistema endócrino, interferindo no crescimento, reprodução e desenvolvimento dos organismos a eles expostos. A identificação dos desreguladores endócrinos pode ser realizada por métodos analíticos que envolvem técnicas de concentração e extração dos analitos aliadas aos ensaios de cromatografia. Além disso, ensaios *in vitro* como o YES (*Yeast estrogen screen*) permitem determinar a atividade estrogênica dos compostos em amostras ambientais. Neste trabalho analisou-se a presença da atividade estrogênica pelo ensaio YES em esgoto bruto e tratado de uma ETE do município do Rio de Janeiro, e as análises cromatográficas foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-FLU). Utilizando o teste estatístico de correlação de *Spearman* foi possível avaliar a relação entre os parâmetros físico-químicos e as concentrações dos estrogênios nos efluentes. Quanto aos resultados obtidos pelo ensaio *in vitro* YES, apenas uma amostra dentre as 10 analisadas não apresentou atividade estrogênica. O maior valor de EQ-E2 encontrado foi de 5,9 ng.L⁻¹ para o esgoto bruto. O estrogênio predominantemente detectado foi o estriol, em concentrações variando entre 0,261 a 7,136 µg.L⁻¹. O 17 α-etinilestradiol foi detectado em sete das 20 amostras analisadas, tendo a menor concentração de 0,0006 µg.L⁻¹ e a maior de 0,564 µg.L⁻¹. O 17β-estradiol foi detectada em apenas duas amostras, sendo uma de esgoto bruto e outra de esgoto tratado, com concentrações respectivas de 0,64 µg.L⁻¹ e 0,0007 µg.L⁻¹. Diante da avaliação das concentrações encontradas, levando em consideração que a maioria das amostras apresenta estrogenicidade e ainda que os processos convencionais de tratamento não removem completamente os micropoluentes, convém propor que mais estudos sejam voltados para esse assunto, focando na implementação de tratamentos eficazes para a remoção, afim de reduzir a presença dos mesmos em matrizes ambientais e, consequentemente, os efeitos danosos aos organismos a ele expostos.

PALAVRAS-CHAVE: Desreguladores endócrinos, Esgoto doméstico, Ensaio *in vitro* YES, CLAE-FLU.

INTRODUÇÃO

Os recursos hídricos são, usualmente, o destino dos descartes de diversos contaminantes oriundos de fontes poluidoras domésticas e/ou industrial. Resíduos de compostos de medicamentos, cosméticos, produtos de limpeza, derivados de práticas agrícolas e alguns dos estrogênios naturais são considerados “contaminantes emergentes” que podem expor a saúde humana a diferentes riscos. (ONESIOS, et al., 2009; LIMA, 2013; WATKINSON et al., 2007). No Brasil, assim como em outros países em desenvolvimento, a preocupação com esse tipo de problema deve ser ainda maior visto a precariedade das condições de saneamento e o consequente despejo de efluentes sem tratamento prévio adequado no ambiente natural. Segundo dados do IBGE (2010), 808 dentre os 1668 municípios da região sudeste brasileira dispõem de instalação de tratamento de água e esgoto, e em apenas 461 estações realiza-se o tratamento biológico. Além disso, as estações de tratamento de água do Brasil não são projetadas para obter uma elevada eficiência na remoção de microcontaminantes, mas são voltadas para remover material particulado e dissolvido, o que exige um aprofundamento dos estudos dedicados a esses processos (YOON et al., 2007; DIAS et al., 2015).

Os chamados desreguladores endócrinos (DEs) fazem parte do grupo dos contaminantes emergentes encontrados em matrizes ambientais na ordem de microgramas por litro ($\mu\text{g L}^{-1}$) ou nanogramas por litro (ng L^{-1}) e possuem a capacidade de promover alterações no sistema endócrino, interferindo no crescimento, reprodução e desenvolvimento dos organismos a eles expostos (KOIFMAN e PAUMGARTTEN, 2002; LEITE e AFONSO, 2010). Os produtos industriais, alguns fármacos, plastificantes, produtos de higiene pessoal, pesticidas, estrogênios naturais e sintéticos são exemplos de compostos que exibem atividade estrogênica, ou seja, são capazes de produzirem respostas quando ligados a um receptor de estrogênio (BECK et al., 2006; BILA e DEZOTTI, 2007).

Os estrogênios podem ser divididos em naturais, como o 17β -estradiol, estriol e estrona, e sintético, como 17α -etinilestradiol, ambos são frequentemente introduzidos no esgoto através da urina e das fezes de mulheres, homens e animais e apresentam elevada estrogenicidade (BILA e DEZOTTI, 2007; REIS FILHO, 2006; SCHLEICHER, 2013).

Embora haja uma dificuldade na identificação desses compostos em ambientes naturais, métodos analíticos envolvendo técnicas de concentração de analitos e de detecção por cromatografia vem sendo desenvolvidos para determinação e quantificação desses microcontaminantes (VIRKUTYTE et al., 2010; WATKINSON et al., 2007).

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a ocorrência e quantificar a presença dos estrogênios naturais e sintéticos no esgoto bruto e tratado de uma ETE (Estação de Tratamento de Esgoto) do município do Rio de Janeiro pelo emprego de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de fluorescência (CLAE-FLU) e determinar a atividade estrogênica pelo ensaio *in vitro* YES.

MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas de amostras foram realizadas em uma estação de tratamento localizada no município do Rio de Janeiro no período de junho a dezembro de 2015. As amostras de esgoto bruto foram coletadas na entrada da estação, na elevatória e as de esgoto tratado foram coletadas no decantador secundário. Foram realizadas amostragens simples, não respeitando o tempo de detenção hidráulica da ETE. Para auxiliar na compreensão, as amostras foram identificadas de acordo com a data e o local de coleta, os códigos estão representados na Tabela 1. Foram coletadas 10 amostras de esgoto bruto e 10 amostras de esgoto tratado.

Tabela 1: Identificação das amostras de esgoto bruto e tratado coletas na ETE no período de junho a dezembro de 2015

Código utilizado para amostras de esgoto bruto da ETE	Código utilizado para amostras de esgoto tratado coletadas na saída do decantador secundário da ETE	Data da coleta
1E	1S	01/06/2015
2E	2S	15/06/2015
3E	3S	01/07/2015
4E	4S	20/07/2015
5E	5S	03/08/2015
6E	6S	17/08/2015
7E	7S	18/09/2015
8E	8S	09/10/2015
9E	9S	22/12/2015
10E	10S	29/12/2015

Anterior ao processo de coleta das amostras seguiu-se um protocolo de limpeza e descontaminação de vidrarias com uso de solventes a fim de garantir a integridade dos resultados. As amostras foram coletas em frascos âmbar de 1 litro e preservadas com 10 mL de metanol. Após a coleta, os frascos foram mantidos em isopores com gelo durante o transporte até o laboratório onde foram mantidos na geladeira a 4°C para futuras análises. O fluxograma apresentado na Figura 1 mostra as etapas de preparo das amostras até o extrato final para a realização do ensaio YES e para análises cromatográficas.

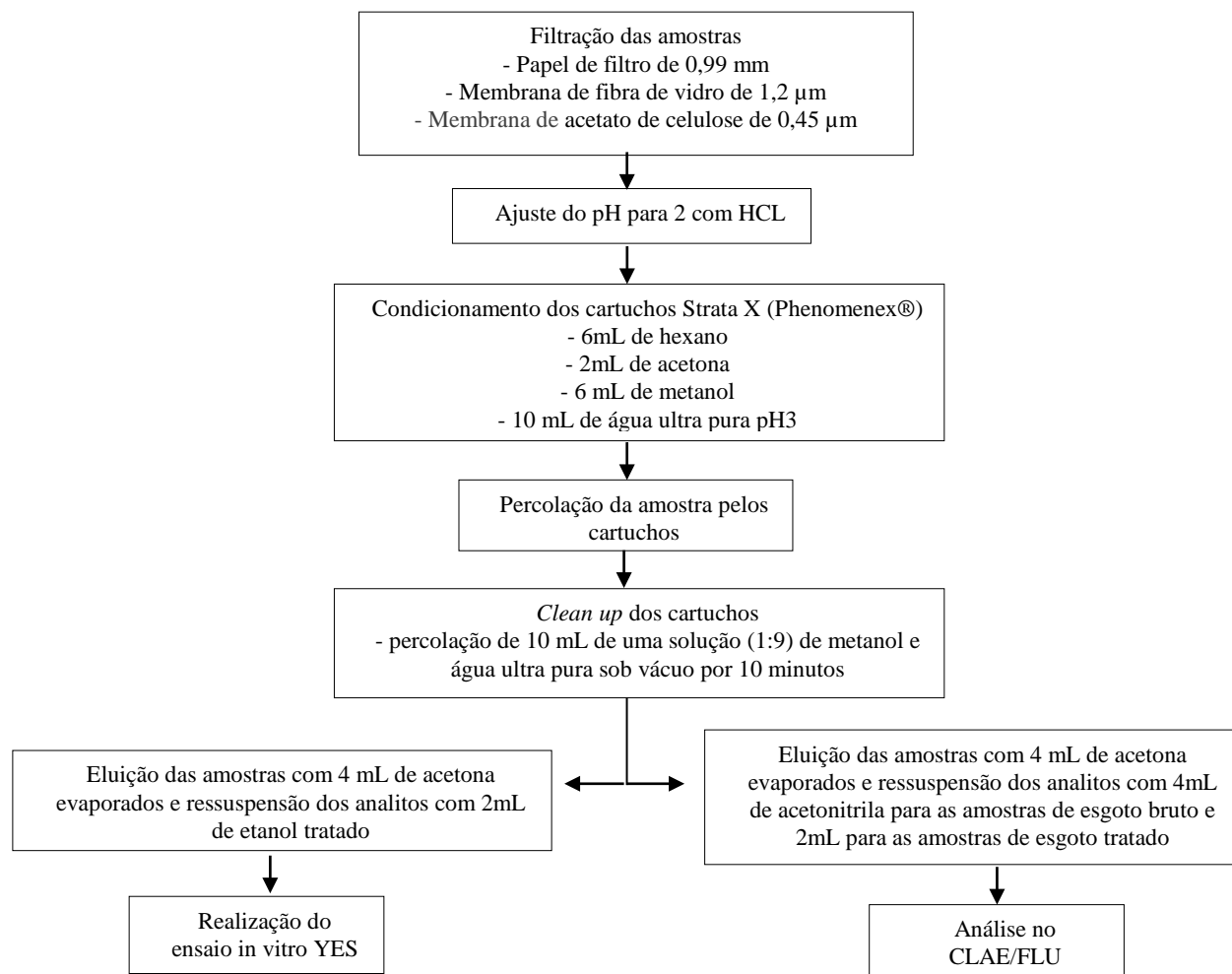


Figura 1: Fluxograma da metodologia analítica utilizada no preparo das amostras para o ensaio YES e para as análises cromatográficas

Durante a etapa de extração os analitos de interesse são concentrados, portanto, com base nas concentrações obtidas pela CLAE-FLU as concentrações na amostra foram calculadas pela equação 1.

$$[EI] = R \times V_{res.} / V_{ext.} \quad \text{equação (1)}$$

Onde: [E] representa a concentração da amostra, R a resposta obtida pelo cromatógrafo, V_{res} o volume de ressuspensão e V_{ext} o volume de amostra usado na EFS.

O ensaio *in vitro* YES foi realizado com 10, do total de 20 amostras coletadas (esgoto bruto e tratado) seguindo os procedimentos descritos por Routledge e Sumpter (1996) com algumas modificações. Todos os ensaios foram realizados em duplicata em microplacas de 96 poços com fundo chato estéril. As análises foram realizadas em uma capela de fluxo laminar previamente descontaminada com álcool a 70% e mantida por 15 minutos sob luz UV. Com relação às análises dos resultados do ensaio *in vitro* YES, após a leitura da absorvância foi possível calcular a absorvância corrigida das amostras em cada poço da placa, para isso utilizou-se a equação 2.

$$A_{\text{corrigida Amostra}} = A_{575\text{Amostra}} - (A_{620\text{Amostra}} - A_{620\text{Branco}}) \quad \text{equação (2)}$$

Onde:

$A_{\text{corrigida Amostra}}$ é a absorvância corrigida da amostra obtida pelo espectrofotômetro, $A_{575\text{Amostra}}$ é a absorvância da amostra no comprimento de onda de 575nm, $A_{620\text{Amostra}}$ é a absorvância da amostra no comprimento de onda de 620 nm e $A_{620\text{Branco}}$ é a absorvância do branco no comprimento de onda de 620 nm.

Construiu-se a curva dose-resposta utilizando o programa Origin®6.0 através da correlação entre os valores de absorvância corrigida em cada poço e as concentrações em escala logarítmica. A concentração do composto que elucida 50% da atividade estrogênica corresponde aos valores calculados de CE_{50} . Tanto para o 17 β -estradiol quanto para as substâncias padrões, o CE_{50} foi expresso em ng.L⁻¹. Para o cálculo da concentração de equivalente de 17 β -estradiol (EQ-E2) nas amostras, ou seja, a concentração desse estrogênio necessária para elucidar a mesma resposta na amostra do ensaio YES utilizou-se a equação 3

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + (x/x_0)^p} + A_2 \quad \text{equação (3)}$$

Onde: A_1 representa a máxima indução da atividade estrogênica (β galactosidade); A_2 é a mínima indução, ou seja, o limite de detecção; y é o valor de $Abs_{\text{corrAmostra}}$; x significa a concentração da substância estrogênica no ensaio; x_0 é o valor do CE_{50} e p é a inclinação da região mediana da curva como estimado de uma regressão linear/log da parte linear da curva dose-resposta (BILA, 2005).

A potência relativa foi determinada para avaliar o potencial estrogênico das amostras comparando-as ao controle positivo 17 β estradiol, para isso, utilizou-se a equação 4:

$$PR = CE_{50} (17\beta\text{estradiol}) / CE_{50} (\text{amostra}) \quad \text{equação (4)}$$

A interpretação do valor resultante da Equação 4 baseia-se no preceito: se o valor da PR for maior que 1 a substância em análise possui maior estrogenicidade do que o controle positivo (17 β -estradiol), se for menor que 1, possui menor estrogenicidade.

É possível que os compostos presentes na amostra analisada causem toxicidade e inibam o crescimento da levedura utilizada no ensaio, se isso acontecer, o fundo dos poços da placa apresentará ausência de turbidez, significando que ocorreu toxicidade. Para o cálculo da toxicidade utilizou-se a equação 5 apresentada por Frische e colaboradores (2009):

$$\text{Toxicidade} = 1 - (Abs_{620} (\text{amostra}) / Abs_{620} (\text{branco})) \quad \text{equação (5)}$$

As análises por cromatografia líquida foram realizadas em um cromatógrafo da marca Waters Corporation® composto por um amostrador automático; detector Diode Array (DAD); detector de fluorescência (FLU); forno para coluna cromatográfica; redutor de pulso; bomba binária com 2 pistões. A metodologia utilizada para detecção e quantificação dos compostos estrogênicos (17 β -estradiol, 17 α -estradiol e estriol) seguiu o trabalho desenvolvido por Oliveira (2015), empregou-se a coluna cromatográfica Novapak PAH (4,6 x 250 mm, 5 microns), e modificou-se as condições de eluição em modo gradiente, utilizando como fase móvel água ultra pura (H₂O) e acetonitrila (ACN) e com fluxo de 1mL/min. As condições cromatográficas podem ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2: Condições cromatográficas utilizadas na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-FLU)

Tempo (min.)	ACN (%)	Água ultrapura (%)
Início	40	60
6	50	50
9	30	70
13	40	60
15	40	60

O preparo da curva analítica se deu pela injeção de uma solução mix padrão contendo, aproximadamente, 50 µg/L de cada estrogênio sendo realizadas cinco diluições.

Para a estimativa do Limite de Detecção (LQ) e do Limite de Quantificação (LD), utilizou-se uma planilha desenvolvida por Ribeiro et al., 2008, seguindo as normas da ANVISA (2003) e INMETRO (2010) que baseia em parâmetros da curva analítica, apresentando maior confiabilidade estatística, por considerar o intervalo de confiança da regressão. Optou-se pelo limite de 95% de confiabilidade aceitável.

Para as amostras coletadas na ETE foram analisados os seguintes parâmetros físico-químicos: Demanda Química de Oxigênio (DQO), pH, turbidez, SDT, SST carbono orgânico dissolvido, nitrogênio amoniacal e fósforo total. A Tabela 3 apresenta os parâmetros físico-químicos analisados com as respectivas metodologias descritas em APHA (2012):

Tabela 3: Parâmetros físico-químicos analisados nas amostras de esgoto bruto e tratado e respectivas metodologias de acordo com o APHA (2012).

Parâmetro	Equipamento	APHA, 2012
pH	pHmetro	Método 4500 – H+B
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Digestor de DQO e espectrofotômetro	Método 5220D
Turbidez	Turbidímetro	Método 2130B
SDT / SST	Bomba de vácuo, estufa, mufla, balança analítica e aparatos de filtração	Métodos 2540C ,2540D
Carbono orgânico dissolvido	TOC – V CPN Shimadzu, aparatos de filtração e bomba a vácuo	Método 2120D
Nitrogênio amoniacal	Eletrodo íon-seletivo de amônia	Método 4500- NH3D
Fósforo total	Placa de aquecimento e espectrofotômetro	Método 4500- P E

Para avaliar o nível de correlação entre os parâmetros DQO, COD e turbidez e as concentrações dos estrogênicos detectadas pela cromatografia líquida de alta eficiência, utilizou-se o teste estatístico de correlação de *Spearman*. Esse teste correlaciona duas variáveis com o objetivo de verificar se há índice de monotonicidade, ou seja, quando houver correlação positiva o aumento do valor de X corresponderá ao aumento do valor de Y, quando houver correlação negativa, o aumento do valor de X corresponderá a redução do valor de Y (LIRA e NETO, 2006). Para o cálculo da correlação de *Spearman*, utilizou-se a equação 6

$$\hat{\rho}_s = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

equação (6)

Onde: ρ é o coeficiente de correlação de Spearman; d^2 é a diferença entre as ordenações; n é o número de pares de ordenações.

O resultado deve estar no intervalo entre -1 e 1, onde -1 indica uma correlação negativa e 1 indica uma correlação positiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a realização de cada ensaio determinou-se uma curva dose-resposta do 17β -estradiol como o controle positivo. O limite de detecção do ensaio foi de $10,13 \pm 3,65 \text{ ng.L}^{-1}$. As faixas de concentração, a CE50 e a potência relativa (PR) encontrados para cada estrogênio podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4: Faixa de concentração, CE50 e potência relativa encontrada para cada estrogênio analisado

Estrogênio	Faixa de concentração	CE50	PR
17β -estradiol	2724 a $1,3301 \text{ ng.L}^{-1}$	$48,3 \pm 9,6 \text{ ng.L}^{-1}$	1
17α -etinilestradiol	2724 a $1,3301 \text{ ng.L}^{-1}$	$50,2 \text{ ng.L}^{-1}$	0,96
estrona	7500 a $3,662 \text{ ng.L}^{-1}$	114 ng.L^{-1}	0,42

Apenas uma amostra, a 1E, dentre as 10 analisadas não apresentou atividade estrogênica. O maior valor de EQ-E2 foi $5,9 \text{ ng.L}^{-1}$ encontrado na amostra de esgoto bruto 6E e o menor foi $0,03 \text{ ng.L}^{-1}$ encontrado na amostra de esgoto tratado 4S. Outros autores que estudaram amostras de efluentes de ETE encontraram concentrações consideravelmente maiores, como $34,1 \text{ ng.L}^{-1}$ (PAWLOWSKI et al., 2004) e 100 ng.L^{-1} (RUTISHAUSER et al., 2004). A Figura 2 apresenta os valores médios encontrados para o equivalente estradiol (EQ-E2) nas amostras de esgoto bruto e efluente de ETE.

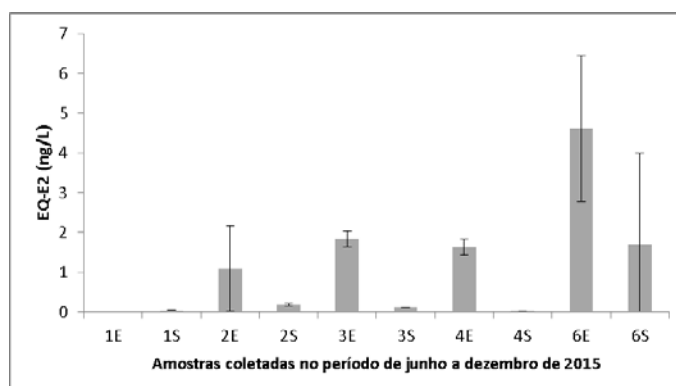


Figura 2: Valores médios de equivalente estradiol (EQ-E2) obtidos no ensaio YES das amostras de esgoto bruto e efluente de ETE coletados no período de junho a dezembro de 2015

Dentre as amostras de esgoto bruto, a que apresentou maior toxicidade foi a 4E, tendo 92% de inibição da levedura no primeiro poço seguido de 72% no segundo poço e apenas no terceiro poço não houve mais inibição. Embora apenas 3, dentre as 10 amostras coletadas tenha apresentado toxicidade, segundo Bistan e colaboradores (2011) este comportamento é frequentemente percebido quando se analisa amostras extraídas de efluente de esgoto sanitário. Outra amostra que também apresentou uma considerável toxicidade foi a 3E tendo 87% de inibição da levedura na amostra 100% concentrada, porém no poço seguinte não houve mais inibição.

Dentre as amostras de esgoto tratado, somente a amostra 1S apresentou inibição no crescimento da levedura apresentando 5% de toxicidade, porém no poço subsequente a toxicidade não foi mais observada. A estimativa da toxicidade de todas as amostras está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5: Estimativa da toxicidade das amostras de esgoto bruto e tratado coletadas na ETE no ensaio YES

Concentração da amostra no poço na placa de 96 poços				
Nome da amostra		100%	50%	25%
Esgoto bruto	1E	-0,17	*	*
	2E	-0,03	*	*
	3E	0,87	-0,04	*
	4E	0,92	0,72	-0,21
	6E	-0,20	*	*
Esgoto tratado	1E	0,05	-0,01	*
	2E	-0,08	*	*
	3E	-0,06	*	*
	4E	-0,01	*	*
	6E	-0,09	*	*

(*) Toxicidade não observada

Com relação aos resultados obtidos pela cromatografia líquida de alta eficiência, a Tabela 6 mostra os valores do coeficiente de correlação da curva analítica, o tempo de retenção, a equação da reta e os limites de quantificação e detecção encontrados. Os valores do coeficiente de correlação (R^2) foram acima de 0,90 demonstrando linearidade, segundo os parâmetros estabelecidos pelo INMETRO (2010).

Tabela 6: Coeficiente de correlação, tempo de retenção, equação da reta, limite de quantificação e limite de detecção para os três estrogênios obtidos em uma mesma corrida cromatográfica.

Estrogênio	Coeficiente de correlação (R^2)	Tempo de Retenção (min.)	Equação da reta	LQ	LD
E3	0,996	3,951	$y = 6,21 \times 10^4 x - 4,27 \times 10^4$	$3,71 \mu\text{g.L}^{-1}$	$2,51 \mu\text{g.L}^{-1}$
E2	0,998	7,806	$y = 4,15 \times 10^4 x - 2,87 \times 10^4$	$1,44 \mu\text{g.L}^{-1}$	$2,12 \mu\text{g.L}^{-1}$
EE2	0,996	3,951	$y = 3,92 \times 10^4 x - 9,6 \times 10^4$	$4,9 \mu\text{g.L}^{-1}$	$7,2 \mu\text{g.L}^{-1}$

A Tabela 7 apresenta a faixa da média das concentrações dos estrogênios encontrada nas amostras de esgoto bruto e tratado no período de junho a dezembro de 2015.

Tabela 7: Faixa das concentrações dos estrogênios encontradas nas amostras de esgoto bruto e tratado coletadas da ETE no período de junho a dezembro de 2015

Esgoto Bruto	
Estrogênio	Faixa de concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
E3	0,261 – 7,136
E2	0,644
EE2	0,224
Esgoto Tratado	
Estrogênio	Faixa de concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
E3	0,117 – 3,150
E2	0,0007
EE2	0,0006 – 0,564

Baseado no trabalho de Metcalfe e colaboradores (2001), nove dentre as vinte amostras coletadas apresentam concentrações de E3 que poderiam causar edema em alguns órgãos de peixes da espécie *Oryzias latipes* (Medaka) e hermafroditismo, ainda, todas as concentrações do EE2 encontradas seriam tóxicas para essa espécie. Cinco, dentre as sete concentrações detectadas de EE2 seriam capazes de provocar atraso na gametogênese de peixes da espécie *Danio rerio* (HILL e JANZ, 2003). Comparando as concentrações de E2 encontradas por esse trabalho em efluente de ETE com as encontradas por Souza (2011) e Pessoa (2012), detectou-se uma concentração menor do que as encontradas por esses autores. Em contrapartida, para a amostra de esgoto tratado as concentrações de E2 encontradas foram superiores as encontradas por Pessoa (2012). Todas as concentrações encontradas de EE2 foram inferiores as encontradas por Ghiselli (2006) em esgoto bruto e tratado de uma ETE de São Paulo e Souza (2011) no Ceará.

A análise da correlação de *Spearman* permitiu observar que existe uma correlação positiva entre DQO, COT e turbidez e as concentrações dos estrogênios, pois todos os valores obtidos foram positivos (Tabela 8). Desta forma, quanto maior os valores desses parâmetros, maior é a concentração.

Tabela 8: Resultados do teste de correlação de Spearman entre parâmetros físico-químicos e concentração dos estrogênios.

Par de variáveis	N (amostras)	Correlação de <i>Spearman</i>
DQO x [E3]	19	0,6456
DQO x [EE2]	7	0,4286
DQO x [E2]	2	1
COT x [E3]	19	0,3575
COT x [EE2]	7	0,6071
COT x [E2]	2	1
Turbidez x [E3]	19	0,1860
Turbidez x [EE2]	7	0,4286
Turbidez x [E2]	2	1

CONCLUSÃO

No que concerne ao ensaio *in vitro* YES, para além dos resultados encontrados por outros autores, após as análises das amostras de esgoto bruto e tratado da ETE foi possível ratificar que esse teste atua como uma ferramenta adequada para identificar substâncias com potencial estrogênico. Em nove dentre dez amostras analisadas foram identificadas a presença de substâncias desreguladoras endócrinas, onde a única que não apresentou resposta estrogênica não demonstrou toxicidade, comprovando que ela não apresenta compostos estrogênicos em níveis detectáveis pelo método. Embora as amostras sejam de esgoto bruto, é imprescindível que haja estudos complementares para propor a implementação de tratamentos eficazes visto que os processos convencionais existentes nas ETEs não são eficientes para a remoção dessas substâncias.

Embora o estrogênio detectado com maior frequência tenha sido o estriol, a cromatografia líquida de alta eficiência mostrou-se satisfatória para determinar e quantificar os estrogênios presente nas amostras de esgoto bruto e tratado, mostrando elevados níveis de concentração dos mesmos.

Portanto, além da importância de mais estudos voltados para a implementação de tratamentos eficazes buscando alcançar a remoção desses micropoluentes em ETEs, salienta-se a necessidade de integrar o ensaio *in vitro* YES com técnicas analíticas complementares, assim como os ensaios *in vivo*, que possibilitem uma maior compreensão sobre os efeitos dessas substâncias presentes na matriz ambiental estudada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPERJ e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA; AWWA; WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22th edição. 1360 p. 2012.
2. ANVISA. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução RE nº 899, de 29 de Maio. Brasil: D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo. 2003.
3. BECK, I.-C.; BRUHN, R.; GANDRASS, J. Analysis of estrogenic activity in coastal surface waters of the Baltic Sea using the yeast estrogen screen. *Chemosphere*, v. 63, p. 1870-78, 2006.
4. BILA, D. M. Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17 β -Estradiol pelo Processo de Ozonização. Rio de Janeiro, 2005. Tese de doutorado - Universidade Federal do Rio de Janeiro/COOPE, 2005.
5. BISTAN, M.; PODGORELEC, M.; LOGAR, R.M.; TISLER, T. Yeast Estrogen Screen Assay as a tool for detecting estrogenic activity in water bodies. *Food Technol. Biotechnol.* p.427-433, 2012.
6. BILA, D.M. e DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Química Nova*, v. 30, p. 651-666, 2007.
7. DIAS, A.C.V.; GOMES, F.W.; BILA, D.M.; SANT'ANNA JR, G.L; DEZOTTI, M. Analysis of estrogenic activity in environmental waters in Rio de Janeiro state (Brazil) using yeast estrogen screen. *Ecotoxicology and environmental safety*, p. 41-47, 2015.
8. GHISELLI, G.; JARDIM, W.F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Química Nova*, 30: 695-706, 2007.
9. HILL, L. Jr.; JANZ, D.M. Developmental estrogenic exposure in zebrafish (Daniorerio): I. Effects on sex ratio and breeding success. *Aquatic Toxicology*, v. 63, p.417-429. 2003.
10. IBGE, 2010. Brazilian Institute of Geography and Statistics. Census 2010, Rio de Janeiro, Brazil.
11. INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos. 3. ed. [S.l.]: Coordenação Geral de Acreditação, 2010. DOQ-CGCRE-008.
12. KOIFMAN, S.; PAUMGARTTEN, F.J.R. O impacto dos desreguladores endócrinos ambientais sobre a saúde pública. *Cadernos de Saúde Pública*, p. 354-355, 2002.
13. LEITE, G. S.; AFONSO, R. J. C.F.; AQUINO, S. F. Caracterização de contaminantes presentes em sistemas de tratamento de esgotos, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tandem em alta resolução. *Química nova*, v. 33, n. 3, p. 734-738, 2010.
14. LIMA, D.R.S. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos de águas naturais por clarificação associada à adsorção em carvão ativado em pó. Ouro Preto, 2013. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Ouro Preto, 2013.
15. NASCENTES, A. L. Tratamento combinado de lixiviado de aterro sanitário e esgoto doméstico. Rio de Janeiro, 2013. Tese de doutorado - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.
16. ONESIOS, K. M.; Yu, J. T.; BOUWER, E. J., Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. *Biodegradation*, v. 20, p. 441 – 466, 2009.
17. PESSOA, G.P. Avaliação de desreguladores endócrinos e do micropolvente colesterol em estações de tratamento de esgoto sanitário. Fortaleza, 2012. Tese de doutorado - Universidade Federal do Ceará, 2012.
18. PAWLOWSKI, S.; TERNES, T.A.; BONERZ, M.; RASTALL, A.C.; ERDINGER, L.; BRAUNBECK, T. Estrogenicity of solid phase-extracted water samples from two municipal sewage treatment plant



- effluents and river Rhine water using the yeast estrogen screen. *Toxicology in Vitro*, v. 18, p. 129–138, 2004
19. ROUTLEDGE, E.J.; SUMPTER, J.P. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast assay. *Environ. Toxicol. Chem.* v.15, 241-248, 1996.
 20. RUTISHAUSER, B.V., PESONEN M., ESCHER B.I., et al. Comparative analysis of estrogenic activity in sewage treatment plant effluents involving three in vitro assays and chemical analysis of steroids. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 23, n. 4, p. 857–864, 2004.
 21. SOUZA, N, C. Avaliação de micropoluentes emergentes em esgoto e águas superficiais. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2011. Tese de Doutorado.
 22. VIRKUTYTE, J.; VARMA, R. S.; JEGATHEESAN, V (Eds.). *Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater*. Londres: IWA Publishing, 483 p, 2010.
 23. YOON, Y., WESTERHOFF, P., SNYDER, S.A., WERT, E.C., YOON, J. Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes *Desalination* v. 202, n. 1-3, p. 16 - 23, 2007
 24. WATKINSON, A. J., MURBYC, E. J., COSTANZO, S. D. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research*, v. 41, p. 4164 – 4176, 2007.