

IV-151 - IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS NA SUB-BACIA DO RIBEIRÃO VERMELHO EM LAVRAS-MG

Fernando Neris Rodrigues ⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pelo Centro Universitário de Formiga (UNIFOR/MG), Mestre e Doutorando em Recursos Hídricos em Sistemas Agrícolas (Saneamento Ambiental) pela Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Fátima Resende Luiz Fia

Engenheira Agrícola pela Universidade Federal de Lavras (UFLA), Mestre e Doutora em Engenharia Agrícola (Recursos Hídricos e Ambientais) pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Professora Adjunta do Departamento de Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Jacineumo Falcão de Oliveira

Engenheiro Agrícola e Ambiental pela Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), Mestre e Doutorando em Recursos Hídricos em Sistemas Agrícolas (Saneamento Ambiental) pela Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Ronaldo Fia

Engenheiro Agrícola e Ambiental pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Doutor em Engenharia Agrícola (Recursos Hídricos e Ambientais) pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), Professor Associado do Departamento de Recursos Hídricos e Saneamento da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Isael Aparecido Rosa

Licenciado em Química pela Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Mestre em Química pela UNIFAL, Doutor em Química pela Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Endereço⁽¹⁾: Departamento de recursos Hídricos e Saneamento, Campus da UFLA - Lavras - MG - CEP: 37.200-000 - Brasil - Tel: (35) 3829-1684 - e-mail: fernandoneris99@hotmail.com

RESUMO

O desenvolvimento de novos produtos seja de higiene pessoal sejam hormônios sintéticos, têm contribuído para a melhora da qualidade de vida da população. Entretanto, estes compostos excretados no ambiente não têm sido removidos dos efluentes pelas técnicas convencionais, o que têm causa aumento na concentração nas águas superficiais. Tendo vista este cenário, o presente trabalho teve como objetivo identificar e quantificar desreguladores endócrinos ao longo da sub-bacia do Ribeirão Vermelho do município de Lavras-MG em diferentes épocas do ano. Amostras de água superficial foram coletadas de janeiro a setembro de 2017, totalizando 6 campanhas, em nove pontos ao longo da sub-bacia, sendo cinco no curso de água principal (Ribeirão Vermelho), assim identificados: (P1) Nascente, (P2) Montante ETE Ribeirão Vermelho, (P3), Jusante ETE Ribeirão Vermelho, (P4) Jusante ETE abatedouro suíno; e quatro nos principais tributários, assim denominados: (T1) Córrego Campestre, (T2) Córrego Centenário, (T3) Córrego do Matadouro, (T4) Córrego da Nutrilli. Após a coleta de dados, evidenciou-se que os meses de janeiro, fevereiro e março foram caracterizados como período chuvoso, com precipitação média mensal de 127 mm, e os meses de julho, agosto e setembro caracterizados como período seco, com precipitação média mensal de 11 mm. Os resultados mostram que em todos os pontos de coleta de todas as amostragens realizadas, foi encontrado pelo menos um dos desreguladores endócrinos em estudo (17 α -Ethinylestradiol / Estrona), indicando assim, a influência do uso e ocupação do solo ao longo da sub-bacia do Ribeirão Vermelho. A maior concentração de 17 α -Ethinylestradiol ($5,75 \mu\text{L}^{-1}$) encontrada foi no ponto T2 (Córrego Centenário) na amostragem de julho no período seco. Para a Estrona, a maior concentração encontrada ($1,50 \mu\text{L}^{-1}$) foi no ponto P4 (Jusante a ETE do abatedouro suíno) na amostragem de março no período chuvoso. Estes resultados indicam que as concentrações dos desreguladores endócrino são influenciadas pela sazonalidade da região, no período seco as vazões dos pontos amostrados são inferiores as do período chuvoso, o que diminui a capacidade de diluição do composto, aumentando sua concentração no período.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade de Água, Hormônios, Compostos Emergentes.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de medicamentos, produtos de higiene pessoal, defensivos agrícolas e aditivos alimentares, entre outros, trouxe muitos benefícios para os seres humanos. Contudo, um aspecto que deve ser considerado é que após o seu uso, esses acabam atingindo o ambiente, seja na forma sólida, líquida ou gasosa, tornando-se poluentes (RAVICHANDRAN et al., 2019).

Desde o final do século passado produtos da indústria química e farmacêutica destacam-se como micro poluentes emergentes no ambiente aquático, acarretando efeitos adversos ao meio ambiente aquático e à saúde pública. Com isso é possível identificar a presença de desreguladores endócrinos, mas só agora com alguns estudos científicos foi comprovada a sua importância ambiental (FERNANDINO; HATTORI, 2019).

Os desreguladores endócrinos são substâncias que podem interferir no sistema endócrino de seres vivos, incluindo os seres humanos. Estes podem ser sintéticos ou naturais e mesmo em pequenas proporções, podem causar diversos problemas como feminilidade dos peixes, problemas na reprodução como diminuição de espermatozoide e até mesmo câncer (TIWARI et al., 2012).

Pouco ainda se sabe sobre a ação dos desreguladores endócrinos, e quais são os compostos que possuem essa capacidade, mesmo porque muitas dessas substâncias acabam se misturando e reagindo como meio, o que torna mais difícil a identificação e a identificação dos efeitos no meio, que podem ser potencializados em relação aos seres humanos e animais. Também não há legislação que se aplique a estes componentes no Brasil. Portanto, é de extrema importância a pesquisa sobre o assunto, para a comprovação dos efeitos sobre o sistema endócrino dos animais e dos seres humanos, bem como o estabelecimento de uma legislação mais específica e eficaz, pois este problema da vida moderna pode colocar a existência de muitas espécies em risco.

Assim, o monitoramento dessas substâncias químicas orgânicas sintéticas residuais em matrizes ambientais tem sido abordado em trabalhos de pesquisas desde o final da década de 90 (KAVIOCK, 1999), tornando-se um tema bastante discutido devido ao fato de muitas dessas substâncias serem frequentemente encontradas em águas residuárias tratadas, águas de abastecimento, solo, sedimento e águas naturais em concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ (RASHEED et al., 2019).

O objetivo do presente trabalho foi identificar e quantificar desreguladores endócrinos ao longo da sub-bacia do Ribeirão Vermelho do município de Lavras-MG em diferentes épocas do ano.

MATERIAIS E MÉTODOS

A sub-bacia hidrográfica do Ribeirão Vermelho compreende um espaço geográfico com características urbanas e rurais. A nascente do Ribeirão Vermelho está localizada na zona urbana, e assim como seus afluentes, o Ribeirão corta o perímetro urbano do município de Lavras – MG que, pelo censo de 2010, apresentou cerca de 90.000 habitantes (BRASIL, 2010). O curso d'água deságua no Rio Grande, um dos principais formadores da Bacia Hidrográfica do Paraná.

Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é classificado como Cwb, temperado chuvoso (mesotérmico) com inverno seco e verão chuvoso, subtropical. A temperatura anual varia de 19,3°C, tendo nos meses mais quente e mais frio, temperaturas médias de 21,3 e 15,1°C, respectivamente, e a precipitação total anual média de 1530 mm (ALVARES et al., 2013).

O município de Lavras – MG conta com duas estações de tratamento de esgotos domésticos (ETE) em diferentes fases de operação. Uma delas está situada na sub-bacia do Ribeirão Vermelho, onde lança seu efluente tratado. Outra possível fonte de poluição do Ribeirão Vermelho é o lançamento do efluente tratado de um abatedouro suíno.

Programa de amostragem

Para a análise da água, foram coletadas amostras em nove pontos ao longo da sub-bacia, sendo cinco no curso de água principal (Ribeirão Vermelho), assim identificados: (P1) Nascente, (P2) Montante ETE Ribeirão Vermelho, (P3), Jusante ETE Ribeirão Vermelho, (P4) Jusante ETE abatedouro suíno; e quatro nos principais tributários, assim denominados: (T1) Córrego Campestre, (T2) Córrego Centenário, (T3) Córrego do Matadouro, (T4) Córrego da Nutrilli.

As amostras coletadas para avaliação das condições ambientais e sanitárias foram do tipo simples, coletadas próximas à superfície dos cursos de água (0,20 a 0,30 m de profundidade). As coletas foram realizadas em 6 campanhas abrangendo dois períodos de janeiro a março/2017 e de junho a setembro/2017. Para caracterização dos períodos da pesquisa, os dados de precipitação foram coletados no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

Extração e concentração dos analitos

Devido às baixas concentrações e ao grande número de compostos orgânicos presentes nas matrizes ambientais, os desreguladores endócrinos requerem um processo de extração prévia à detecção, para isso foi utilizada a metodologia desenvolvida por ROUTLEDGE (1998), que descreveu a aplicação de técnicas para identificação de substâncias endócrinas ativas. A extração em fase sólida foi utilizada para concentrar e isolar analitos presentes em amostras complexas. Para isso, foram utilizados cartuchos com fase estacionária de sílica gel quimicamente ligada ao grupo orgânico apolar C18. Dessa forma, os desreguladores endócrinos não polares ficaram retidos na fase sólida não polar, enquanto as impurezas que são polares serão eluídas. Como eluente para os desreguladores endócrinos, foi utilizado como solvente o acetato de etila.

Para a concentração dos desreguladores endócrinos no cartucho foi necessário primeiramente a filtração da água coletada em um microfiltro de fibra de vidro, em seguida o ajuste do pH da amostra de água a um valor igual a 3 utilizando ácido sulfúrico diluído (1:1 v/v), em seguida 1 litro de amostra de água passou pelo cartucho C18 a uma taxa de fluxo de 5 mL min⁻¹, que previamente foi acondicionado com 10 mL de acetato de etila (2x5 mL), com o objetivo de promover o arranjo das cadeias carbônicas do adsorvente, de forma a facilitar o acesso a estas cadeias e viabilizar uma recuperação eficiente do analito.

Após a extração, foi eluído 3x5 mL de acetato de etila, secado com Na₂SO₄, e concentrado a 1 mL e armazenada para próxima etapa que é a identificação e quantificação dos desreguladores endócrinos. Esta etapa foi conduzida no Laboratório de Qualidade de Água do Núcleo de Engenharia Ambiental e Sanitária do Departamento de Engenharia da Universidade Federal de Lavras.

Identificação e quantificação dos desreguladores endócrinos

Para identificar e quantificar foi utilizado a cromatografia líquida de alta eficiência, o cromatógrafo instalado no Centro de Análises e Prospecção Química do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, é constituído de bomba quaternária LC-20AT, degaseificador DGU-20A5, injetor SIL-20A, controladora CBM-20A, forno CTO-20AC, detector de arranjo de diodos SPD-20A. A coluna utilizada foi Zorbax Elipse XDB-C18 (4,6 x 250mm, 5µm) (nº série: USNH044732) Agilent e pré-coluna Shim Pack GVP-ODS C-18 (4,6 x 10mm) Shimadzu. Os parâmetros utilizados no cromatógrafo foram: Fase móvel - Fase A - Água Ultra-Pura e Fase B - Acetonitrila grau HPLC; Gradiente: 10-55%B (0,01 – 4 min), 55%B (4-12 min), 100%B (12-16 min), 10%B (16-20 min); Fluxo - 1,0 mL min⁻¹; Temperatura do forno 25°C; Volume injetado: 20 µL; DAD: UV - 214 nm. Para a quantificação foi construída uma curva analítica a partir de uma solução padrão estoque (1.000 µg mL⁻¹) de cada substância a ser analisada (17 α-Ethynylestradiol e Estrona). A solução foi injetada em triplicata. A razão das áreas dos picos (17 α-Ethynylestradiol / Estrona) foi disposta em gráfico versus a concentração de estradiol.

RESULTADOS

Caracterização dos períodos da pesquisa

Com os dados consultados no site do INMET de precipitação total mensal na sub-bacia do Ribeirão Água Limpa, foi possível realizar a caracterização dos períodos da pesquisa. Os meses de janeiro, fevereiro e março foram caracterizados como período chuvoso, com precipitação média mensal de 127 mm, e os meses de julho, agosto e setembro caracterizados como período seco, com precipitação média mensal de 11 mm.

Esta caracterização torna-se importante devido à variação de vazão nos cursos d'água, que pode levar à diluição dos desreguladores endócrinos no período chuvoso, reduzindo a concentração dos mesmos; bem como o aumento de concentração no período seco, tendo em vista que a principal contribuição para estes compostos serem os esgotos sanitários.

Identificação e quantificação de desreguladores endócrinos

Na Tabela 1 estão descritos os tempos de retenção obtidos para os compostos, bem como as equações e os coeficientes de determinação (r^2) obtidos para as curvas analítica.

Tabela 1 – Tempos de retenção (t_R), e equações e coeficientes de determinação (r^2) para as curvas de calibração para quantificação dos desreguladores endócrinos estudados.

Composto	t_R (min)	Equação da reta	r^2
Estrona	11,578	$y = 32222x - 3354,1$	$R^2 = 0,9998$
17 α -Ethinylestradiol	10,604	$y = 29442x - 3504,5$	$R^2 = 0,9997$

Como pode ser observado na Tabela 2, os resultados mostram que em todos os pontos de coleta de todas as amostragens realizadas, foi encontrado pelo menos um dos desreguladores endócrinos em estudo, indicando assim, a influência do uso e ocupação do solo ao longo da sub-bacia do Ribeirão da Vermelho.

Tabela 2 – Valores de concentrações dos analitos, 17 α -Ethinylestradiol e Estrona nas amostras de água da sub-bacia do Ribeirão da Vermelho.

Pontos	17 α -Ethinylestradiol						Estrona					
	Chuvoso			Seco			Chuvoso			Seco		
	jan-17	fev-17	mar-17	jul-17	ago-17	set-17	jan-17	fev-17	mar-17	jul-17	ago-17	set-17
	μL^{-1}											
P1	n.d	n.d	n.d	1,85	3,41	n.d	n.d	n.d	0,61	n.d	3,01	n.d
T1	n.d	n.d	n.d	2,65	4,27	1,08	n.d	n.d	1,30	n.d	0,98	0,62
T2	n.d	0,73	n.d	5,75	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	1,58	n.d
T3	1,59	0,82	n.d	0,00	0,46	n.d	1,40	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
P2	n.d	n.d	n.d	1,68	0,76	n.d	0,89	n.d	1,20	1,01	0,67	n.d
P3	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,91	n.d	n.d	n.d	0,69	n.d
P4	n.d	n.d	0,62	n.d	2,41	n.d	n.d	n.d	1,50	n.d	0,74	n.d
T4	n.d	0,91	n.d	2,55	n.d	1,11	0,91	n.d	n.d	n.d	1,27	n.d
P5	1,44	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,88	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d

nd: não detectado.

Como pode ser observado, os resultados mostram que em todos os pontos de coleta de todas as amostragens realizadas, foi encontrado pelo menos um dos desreguladores endócrinos em estudo, indicando assim, a influência do uso e ocupação do solo ao longo da sub-bacia do Ribeirão da Vermelho.

A maior concentração de 17 α -Ethinylestradiol ($5,75 \mu L^{-1}$) encontrada foi no ponto T2 (Córrego Centenário) na amostragem de julho no período seco. O Córrego Centenário tem sua principal nascente e sua foz localizadas no perímetro urbano de grande densidade populacional, o que provavelmente contribuiu para este resultado. A maior concentração Estrona ($1,50 \mu L^{-1}$) encontrada no ponto P4 (Jusante a ETE do abatedouro suíno) na amostragem de março no período chuvoso. A localização do P4 no Ribeirão Vermelho, é onde ocorre a última contribuição significativa de fontes poluidoras, como os lançamentos dos efluentes tratados domésticos e do abatedouro suínos das ETE's, do município e de uma indústria local, respectivamente. O que caracteriza o local como o ponto mais susceptível a poluição por desreguladores endócrinos.

O município de Lavras-MG como já mencionado anteriormente, tem coleta e tratamento dos efluentes domésticos, no entanto, possui somente tratamento preliminar, primário e secundário; e como a maioria das estações de tratamento de esgotos brasileiras não adota pós-tratamento, sistemas físicos como a microfiltração ou processos oxidativos avançados, os mais eficientes na remoção dessas substâncias (BELGIORNO et al., 2007; AQUINO et al., 2013).

Os valores dos desreguladores endócrinos encontrados no presente trabalho, estão próximos de alguns encontrados em outros estudos. Na cidade de Campinas – SP em análises de amostras de águas superficiais, foram encontradas concentrações de 17 β -estradiol, estriol, e 17 α -ethinylestradiol variando os valores entre 3,5-5,0; 1,9-6,0 e 1,2-3,5 $\mu g L^{-1}$, respectivamente (GHISELLI; JARDIM, 2007). E inferiores aos resultados encontrados por Cais (2016) que identificou e quantificou concentrações significativamente relevantes dos estrogênios estriol e estrona, 400.000 e 320.000 μL^{-1} , respectivamente, em águas superficiais do Lago de Furnas no município de Alfenas – MG.

Os resultados das concentrações do 17 α -Ethinylestradiol em média foram mais elevados no período seco ($2,15 \pm 1,62 \mu\text{L}^{-1}$) em relação ao período chuvoso ($1,02 \pm 0,40 \mu\text{L}^{-1}$). Os resultados do Estrona também em média foram mais elevados no período seco ($1,18 \pm 0,76 \mu\text{L}^{-1}$) em relação ao período chuvoso ($1,07 \pm 0,29 \mu\text{L}^{-1}$).

Estes resultados indicando, que as concentrações dos desreguladores endócrino são influenciadas pela sazonalidade da região, no período seco as vazões dos pontos amostrados são inferiores às do período chuvoso, o que diminui a capacidade de diluição do composto, aumentando sua concentração no período.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam a influência do uso e ocupação do solo ao longo da sub-bacia do Ribeirão da Vermelho, pois esses compostos têm como origem despejos de esgotos domésticos nos cursos d'água.

A sazonalidade influenciou apenas as concentrações do desregulador endócrino 17 α -Ethinylestradiol. Os resultados mais elevados foram encontrados no período seco.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo apoio financeiro concedido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
2. AQUINO, S.F.; EMANUEL M. F.; BRANDT, E.M.F.; CARLOS A. L.; CHERNICHARO, C.A.L. Destino e mecanismos de remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 18, p.5-9, 2013.
3. BELGIORNO, V.; RIZZO, L.; FATTA, D.; DELLA ROCCA, C.; LOFRANO, G.; NIKOLAOU, A.; NADDEO, V.; MERIC, S. Review on endocrine disrupting emerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photo catalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse. *Desalination*, v.215, p.166-176, 2007.
4. BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Censo Demográfico 2010. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.
5. CAIS, T. A. **Determinação de hormônios estrogênicos em águas superficiais do Lago de Furnas no município de Alfenas – MG**. Dissertação. Universidade Federal de Itajubá. 2016.
6. DANIEL, M. DA S.; LIMA, E. C. DE. Determinação simultânea de estriol, b-estradiol, 17 α -etinilestradiol e estrona empregando-se extração em fase sólida (SPE) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). *Ambiente & Água*, v. 9, n. 4, p. 688-695, 2014.
7. FERNANDINO, J.I.; HATTORI, R.S. Sex determination in Neotropical fish: Implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment. *General and Comparative Endocrinology*, v.273, p.172–183, 2019.
8. GHISELLI, G.; JARDIM, W.F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Química Nova*, v.30, n.3, p.695-706, 2007.
9. KAVIOCK, R.J. Overview of endocrine disruptor research activity in the United States. *Chemosphere*, v.39, n.8, p.1227-1236, 1999.
10. RASHEED, T.; BILAL, M.; NABEEL, F.; ADEEL, M.; IQBAL, H.M.N. Environmentally-related contaminants of high concern: Potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. *Environment International*, v.122, p.52–66, 2019.
11. RAVICHANDRAN, G.; LAKSHMANAN, D.K.; RAJU, K.; ELANGO VAN, A.; NAMBI RAJAN, G.; DEVANESAN, A.A.; THILAGAR, S. Food advanced glycation end products as potential endocrine disruptors: Na emerging threat to contemporary and future generation. *Environment International*, v.123, p.486–500, 2019.
12. ROUTLEDGE, E.J.; SHEAHAND, D.C.D.; BRIGHTY, G.C.; WALDOCK, M.; SUMPTER, J.P. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science & Technology*, v.32, p.1559-1565, 1998.

13. TIWARI, D.; KAMBLE, J.; CHILGUNDE, S.; PATIL, P.; MARU, G.; KAWLE, D.; VANAGE, G. Clastogenic and mutagenic effects of bisphenol A: an endocrine disruptor. **Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.**, v.743, n.1, p.83–90, 2012.