



# UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DINÂMICA DOS OCEANOS E DA TERRA

#### DANIELI LIMA DA CUNHA

AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E IMPACTO DE CONTAMINANTES NO SISTEMA LAGUNAR ITAIPU-PIRATININGA, ESTADO DO RIO DE JANEIRO - BRASIL

#### DANIELI LIMA DA CUNHA

# AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E IMPACTO DE CONTAMINANTES NO SISTEMA LAGUNAR ITAIPU-PIRATININGA, ESTADO DO RIO DE JANEIRO - BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração: Biogeoquímica: Poluição Ambiental.

Orientador: Dr. Estefan Monteiro da Fonseca

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Daniele Maia Bila

# AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA E IMPACTO DE CONTAMINANTES NO SISTEMA LAGUNAR ITAIPU-PIRATININGA, ESTADO DO RIO DE JANEIRO - BRASIL

#### C972a Cunha, Danieli Lima da

Avaliação da ocorrência e impacto de contaminantes no sistema lagunar Itaipu-Piratininga, Estado do Rio de Janeiro - Brasil / Danieli Lima da Cunha; Estefan Monteiro da Fonseca, orientador; Daniele Maia Bila, coorientadora. Niterói, 2018. 108 f.: il.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

DOI: http://dx.doi.org/10.22409/PPGDOT .2018.d.11302153773

1. Contaminantes. 2. Toxicidade aguda. 3. Atividade estrogênica. 4. Sistema lagunar Itaipu-Piratininga. 5. Produção intelectual. I. Monteiro da Fonseca, Estefan, orientador. II. Maia Bila, Daniele, coorientadora. III. Universidade Federal Fluminense. Instituto de Geociências. IV. Título.

CDD -

Nome: Danieli Lima da Cunha

Título: Avaliação da ocorrência e impacto de contaminantes no sistema lagunar Itaipu-Piratininga, Estado do Rio de Janeiro – Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de Concentração: Biogeoquímica: Poluição Ambiental.

Aprovada em 13 de dezembro de 2018.

#### Banca Examinadora:

Prof. Dr. Estefan Monteiro da Fonseca (Orientador)
Universidade Federal Fluminense – UFF

Prof. Dr. Daniele Maia Bila (Coorientadora)
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Prof. Dr. Carlos Augusto Ramos e Silva
Universidade Federal Fluminense - UFF

Dr. Marília Nascimento
Universidade Federal Fluminense - UFF

Prof. Dr. Sarah Dario Alves Daflon
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à pessoa a qual devo grande parte de minhas conquistas acadêmicas, meu marido Samuel. Companheiro e amigo de todas as horas, boas e ruins, que sempre me ajudou a acreditar em meu potencial e a me reerguer frente às adversidades. Modi, essa vitória também é sua!

A Deus pela vida, saúde e força para conseguir conquistar este objetivo.

A minha família (Rosileni, Damião e Mariana) pela criação, amor e carinho. E aos meus sogros (Soraya e Isaias) que sempre me querem bem e me apoiam nos desafios da vida.

Aos meus orientadores Estefan e Dani pela orientação, paciência, confiança e amizade. Foi e é sempre uma honra trabalhar com vocês e poder evoluir através de seus ensinamentos e experiência.

A minha amiga do coração, Manuzinha, quero expressar o meu reconhecimento pelo companheirismo de todos esses anos. E à Giulia (Pequena), que esteve ao nosso lado compartilhando momentos únicos e importantes reflexões.

A minhas queridinhas da UFF Marília (Mainha), Ana Dalva e Rejany que sempre estiveram presentes me ajudando, aconselhando e incentivando.

Aos colegas do LES/UERJ, Gisele, Louise, Ana Carol, Carol, Allan, Sidney, Victor, Camila, Gabi, Thamiris e Dani pelos vários momentos de trabalho e descontração que compartilhamos, e que tornaram a vida no laboratório mais leve.

Às Professoras, Natividade e Laura, da Universidade do Porto, que gentilmente abriram as portas para me receber e transmitir conhecimentos, durante os três meses que ali estive.

Aos Professores Robson, Sérgio e Ananda da Universidade Federal de Ouro Preto pelo treinamento oferecido para a determinação de contaminantes emergentes em matrizes aquáticas.

Ao Carlinhos por ter me ajudado na logística de coleta das amostras e ao Dutra e Rafael pela parceria nas coletas das amostras dos testemunhos na lagoa de Piratininga.

Ao Prof. Gilberto e Paulo Bidegain pela disposição em contribuir com a pesquisa e pela significativa transmissão de conhecimentos sobre as lagoas.

À UFF por todo conhecimento adquirido e à UERJ por ser fundamental em dividir seus conhecimentos e infraestrutura para realização das análises.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

E a todos os demais que direta e indiretamente, contribuíram para minha formação acadêmica.

Muito Obrigada!



#### LISTA DE SIGLAS

AINEs Anti-inflamatórios não esteroidais

ARE Avaliação de Risco Ecológico

BSTFA Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida

CE<sub>50</sub> Concentração de efeito

CG-EM Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

CLIP Subcomitê do Sistema Lagunar Itaipu-Piratininga

COD Carbono Orgânico Dissolvido

COT Carbono Orgânico Total

CPRG Galactopiranosídeo vermelhoβ-D-clorofenol

DBO Demanda Bioquímica de Oxigênio

DEs Desreguladores Endócrinos

DQO Demanda Química de Oxigênio

EDTA Ácido etilenodiaminotetracético

EFS Extração em Fase Sólida

EQ-E2 Equivalente estradiol

ETEs Estação de Tratamento de Esgoto

FC Fator de concentração

HPAs Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

HPLC High Performance Liquid Chromatography

ICP-MS Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente

I<sub>geo</sub> Índice de geoacumulação

IOMC Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals

IUPAC International Union of Pure and Applied Chemistry

Kd Coeficiente de distribuição

K<sub>ow</sub> Coeficiente de partição octanol/água

LD Limite de Detecção

LES Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental

MPS Material Particulado Suspenso

NKT Nitrogênio de Kjedahl total

NOAEL No observed adverse effect level

OD Oxigênio Dissolvido

ORP Overall Risk Probability

PCBs Bifenilas policloradas

PEL Probable effects level

pKa Constante de dissociação

PLI Índice de carga de poluição

POPs Poluentes Orgânicos Persistentes

PT Fósforo total

RAFA Reator anaeróbio de fluxo ascendente

RBS Reatores em bateladas sequenciais

REh Receptor de estrogênio humano

STD Sólidos Totais Dissolvidos

TDH Tempo de Detenção Hidráulica

TEL Threshold effects level

TMCS Trimetilclorossilano

TRS Tempo de Retenção dos Sólidos

UASB Upflow anaerobic sludge blanket reactor

UERJ Universidade Estadual do Rio de Janeiro

US EPA United States Environmental Protection Agency

VTG Vitelogenina

YES Yeast Estrogen Screen

# SUMÁRIO

. <u>APRESENSENTAÇÃO</u>	11
. <u>OBJETIVOS</u>	
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
. <u>METODOLOGIA</u>	13
. <u>ARTIGOS</u>	
- OCORRÊNCIA E REMOÇÃO DE ESTROGÊNIOS POR PROCESSOS I TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTOS ( <i>ARTIGO 1</i> )	
- CONCENTRAÇÃO DE CONTAMINANTES E TOXICIDADE DE SEDIMENTOS N SISTEMA LAGUNAR ITAIPU-PIRATININGA, SUDESTE DO BRASIL (ARTIGO 2)	
- OCORRÊNCIA E ATIVIDADE ESTROGÊNICA DE CONTAMINANTI EMERGENTES NA ÁGUA E SEDIMENTOS DE DUAS LAGOAS COSTEIRAS SUDEST DO BRASIL ( <i>ARTIGO 3</i> )	ГΕ
. <u>CONSIDERAÇÕES FINAIS.</u> 10	)4
. <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u> 10	)7

#### 1. <u>APRESENTAÇÃO</u>

A crescente expansão demográfica e industrial trouxe como consequência o comprometimento da qualidade das águas (Casals-Casas & Desvergne, 2011; Miranda & Monteggia, 2007). Hoje, a poluição hídrica constitui um dos mais sérios problemas ambientais e ecológicos, sendo a interferência humana a principal fonte desta poluição (Von Sperling, 1996).

Neste contexto, além daqueles parâmetros e poluentes amplamente monitorados e já internalizados nos dispositivos legais e rotinas de fiscalização dos órgãos de controle ambiental, o desenvolvimento da química trouxe consigo uma gama de novos poluentes. Segundo o Instituto de Meio Ambiente e Sustentabilidade da Comissão Europeia, anualmente uma parte das 300 milhões de toneladas de compostos sintéticos usados em produtos de consumo tem como destino final os corpos hídricos (JRC, 2008).

Até o início da década de 1990, os poluentes orgânicos persistentes (POPs) e metais pesados estavam no foco de interesse de vários países, e acabaram fazendo parte de programas de monitoramento da qualidade das águas. Ações com intuito de minimizar os efeitos destes contaminantes, com adoção de medidas apropriadas e eliminação das fontes de poluição, reduziram significativamente suas emissões (Barceló & Petrovic, 2008). Contudo, com o aprimoramento de tecnologias e métodos analíticos, foi possível detectar novos compostos em matrizes ambientais. Estes foram classificados como contaminantes emergentes, compostos estes que, mesmo em baixas concentrações, podem desencadear uma série de efeitos adversos nos organismos a eles expostos (Nilsen et al., 2018; Geissen et al., 2015). Assim, os mesmos ganharam destaque entre vários pesquisadores que vem lutando para que os órgãos ambientais também os enquadrem em dispositivos legais (Cunha et al., 2016).

A maioria dos efeitos destes poluentes, regulamentados ou não, são atribuídos à exposição crônica que ocorrem geralmente em baixas concentrações, o que torna ainda mais complexas as análises (Montagner et al., 2017). Os efeitos ecotoxicológicos envolvidos estão associados a alterações bioquímicas, histopatológicas, morfológicas e até comportamentais das espécies aquáticas, e em diferentes fases da vida (Wang et al., 2019; Varol et al., 2018; Paschoalini et al., 2018; Kwak et al. 2018; Sun et al., 2018; Franks et al., 2018). Em face desta ameaça ambiental faz-se cada vez mais necessário que se conheçam os níveis de ocorrência de tais compostos em matrizes aquáticas e seus potenciais riscos associados.

Interessada nesta temática, ao final de minha graduação, iniciei os estudos sobre a introdução, ocorrência e potenciais efeitos dos fármacos no meio hídrico. Já no mestrado, direcionei meu olhar ao consumo de estrogênios (contraceptivos orais e medicamentos para terapia de reposição hormonal), suas vias de introdução nos corpos hídricos e impactos à biota aquática.

Tendo em vista que os efluentes domésticos são a principal via de introdução destes e tantos outros contaminantes, senti a necessidade de conhecer melhor o processo e tecnologias de saneamento. Assim, ao fazer uma especialização nesta área, pude estudar mais a fundo as diferentes técnicas de tratamento de água e esgoto e suas capacidades de remoção/atenuação de estrogênios.

Neste contexto de gradual envolvimento com a referida temática, e partindo da compreensão de que os ecossistemas estuarinos sofrem grandes impactos – uma vez que as atividades humanas encontram-se frequentemente associadas a estas regiões – ingressei no programa de Doutorado em Dinâmica dos Oceanos e da Terra para desenvolver este estudo que buscou investigar a presença de 51 contaminantes, orgânicos e inorgânicos, e avaliar seus impactos ambientais no sistema lagunar Itaipu-Piratininga – Niterói, RJ.

#### 2. OBJETIVOS

#### 2.1 OBJETIVO GERAL

Na condução desta pesquisa de doutorado objetivou-se avaliar a qualidade das águas e sedimentos do sistema lagunar Itaipu-Piratininga. Para tal, além dos tradicionais parâmetros físico-químicos, foi investigada a presença de fármacos, desreguladores endócrinos (DEs), pesticidas organoclorados, bifenilas policloradas (PCBs), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e metais pesados, avaliando seus potenciais impactos à biota aquática.

#### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como parte do processo de desenvolvimento desta pesquisa, objetivou-se alcançar os seguintes resultados/desdobramentos:

- Revisar a literatura sobre a ocorrência de estrogênios em matrizes aquáticas e a capacidade de remoção destas substâncias em estação de tratamento de esgoto (ETE);
  - Otimizar, por meio de testes experimentais, o processo de extração em fase sólida (EFS);
- Implementar, no Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LES/UERJ), a metodologia de análise para a determinação de fármacos e DEs em material particulado suspenso (MPS);
- Realizar um diagnóstico da qualidade da água do sistema lagunar, em duas campanhas amostrais, com as seguintes estratégias:
  - a) Análise de parâmetros físico-químicos da água e dos sedimentos;
  - b) Identificação e quantificação de 39 contaminantes (pesticidas organoclorados, PCBs, HPAs e metais pesados) em sedimentos superficiais e testemunhos;
  - c) Identificação e quantificação de 12 contaminantes emergentes nas três matrizes ambientais (água, MPS e sedimento superficial);
  - d) Análise da atividade estrogênica pelo Ensaio *Yeast Estrogen Screen* (YES) nas três matrizes ambientais; e,
  - e) Análise de toxicidade aguda por meio de ensaios com a bactéria *Aliivibrio fischeri* (Microtox) para as amostras de sedimentos superficiais.
  - Avaliar os possíveis impactos da presença destes contaminantes no sistema lagunar; e,

• Contribuir com a ampliação do conhecimento sobre o referido sistema e os compostos de interesse, de modo a subsidiar a evolução de dispositivos legais e ações preventivas e mitigadoras.

#### 3. METODOLOGIA

Para alcançar os objetivos supracitados, o desenvolvimento e resultados do presente estudo foram divididos em três artigos, com seus respectivos procedimentos metodológicos sucintamente descritos abaixo<sup>1</sup>:

#### • Artigo 1

Foi construído a partir de uma pesquisa bibliográfica, baseada em artigos científicos e livros publicados na base de dados Pubmed, Periódicos Capes e Science Direct, uma revisão sobre a ocorrência dos estrogênios (estrona, estradiol, estriol e etinilestradiol) em esgotos brutos/tratados e em águas superficiais, bem como sobre sua capacidade de remoção por diferentes processos de tratamento biológico de esgotos.

#### • Artigo 2

Avaliou a qualidade dos sedimentos (superficiais e testemunhos) através da determinação da presença de 39 contaminantes, dentre eles pesticidas organoclorados, PCBs, HPAs e metais pesados, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e por espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Além disso, foram analisados os parâmetros físico-químicos nitrogênio de Kjedahl total (método 4500N – APHA, 1998), teor de fósforo total (ICP-MS), teor de carbono orgânico total (Manual Embrapa, 1997) e a granulometria (NBR 6457 - ABNT, 1986). A toxicidade aguda também foi realizada com a bactéria luminescente *Allivibrio fischeri* pelo ensaio Microtox (NBR 154113 - ABNT, 2006).

#### • Artigo 3

Avaliou a qualidade da água (fase dissolvida + fase particulada) e dos sedimentos superficiais através da determinação de 12 contaminantes emergentes (fármacos e DEs) por CG-EM. Para complementar, foram analisados *in loco* parâmetros físico-químicos (temperatura, pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido, sólidos totais dissolvidos e salinidade) na água com uma sonda multiparâmetro, e no laboratório foram analisados nitrogênio amoniacal, carbono orgânico dissolvido, nitrato e nitrito, seguindo metodologia proposta por APHA (2012). Já para os parâmetros físico-químicos dos sedimentos foram adotadas as seguintes metodologias: método 4500N – APHA (1998), para nitrogênio de Kjedahl total; ICP-MS, para teor de fósforo total; Manual Embrapa (1997), para teor de carbono orgânico total; e, NBR 6457 - ABNT (1986)

.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Informações detalhadas sobre os procedimentos metodológicos empregados em cada um dos artigos são apresentadas no corpo dos mesmos, inseridos no tópico 4 do presente trabalho.

para granulometria. Também foi avaliada a atividade estrogênica através do Ensaio Yes, segundo metodologia proposta por Routledge e Sumpter (1996).

## 4. ARTIGOS

# OCORRÊNCIA E REMOÇÃO DE ESTROGÊNIOS POR PROCESSOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTOS

(ARTIGO 1)

Disponível em:  $\frac{http://www.scielo.br/pdf/ambiagua/v12n2/1980-993X-ambiagua-12-02-00249.pdf}{00249.pdf}$ 



#### Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science

ISSN 1980-993X - doi:10.4136/1980-993X www.ambi-agua.net

E-mail: ambi.agua@gmail.com

# Ocorrência e remoção de estrogênios por processos de tratamento biológico de esgotos

doi:10.4136/ambi-agua.1992

Received: 24 Aug. 2016; Accepted: 20 Dec. 2016

Danieli Lima da Cunha <sup>1,2\*</sup>; Lícia Murito de Paula<sup>1</sup>; Samuel Muylaert Camargo da Silva<sup>3</sup>; Daniele Maia Bila<sup>4</sup>; Estefan Monteiro da Fonseca<sup>2</sup>; Jaime Lopes da Mota Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil
Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental

<sup>2</sup>Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil
Departamento de Geologia

<sup>3</sup>Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil
Programa de Pós-Graduação em Gestão e Regulação de Recursos Hidricos

<sup>4</sup>Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil
Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente

<sup>\*</sup>Autor correspondente: e-mail: danielicunha@hotmail.com,
liciamurito@gmail.com, samu\_muylaert@hotmail.com,
danielebilauerj@gmail.com, oceano25@hotmail.com,
jaimelmoliveira@gmail.com

#### RESUMO

Os estrogênios são micropoluentes capazes de causar alterações no sistema endócrino de organismos aquáticos. Uma das principais fontes da sua introdução no meio hídrico é através do lançamento de esgotos domésticos. Este artigo apresenta uma revisão sobre a ocorrência dos estrogênios estrona, estradiol, estriol e etinilestradiol em esgotos brutos e tratados e em águas superficiais, bem como sobre sua remoção por diferentes processos de tratamento biológico de esgoto. Os poucos trabalhos realizados no Brasil mostram que a concentração desses compostos nestas matrizes é expressiva. Além disso, foi observado um decaimento nas concentrações desses estrogênios do esgoto bruto ao tratado. Os sistemas aeróbios, como lodos ativados, mostraram melhor desempenho na remoção de estrogênios, sobretudo por meio da sorção ao lodo. No entanto, pouco se sabe sobre os mecanismos de degradação de tais compostos nestes processos e sobre o comportamento de seus conjugados. Portanto, os processos de tratamento biológico de esgoto representam uma barreira à introdução de estrogênios nos corpos hídricos.

Palavras-chave: estrogênios em esgoto, remoção, tratamento biológico.

## Occurrence of estrogens and their removal by biological processes of sewage treatment

#### ABSTRACT

Estrogens are micropollutants that may harm aquatic organisms endocrine system. They enter water bodies mainly through domestic sewage. This paper aims to review the estrone, estradiol, estriol and ethinyl estradiol occurrence in untreated and treated sewage and surface water, as well as their removal efficiency through employment of different sewage biological



treatment methods. The few studies carried out in Brazil show a significant concentration of these compounds in the reviewed sources, with a downward trend from raw to treated sewage. Aerobic systems, such as activated sludge, showed better results at removing the estrogens, mainly through adsorption by sludge. However, little is known about the degradation mechanisms of such compounds and the behavior of their conjugates. Therefore, biological processes of sewage treatment represent a barrier to the introduction of estrogens to the water bodies.

Keywords: biological treatment, estrogens in the sewage, removal.

## 1. INTRODUÇÃO

Com o avanço da ciência e do conhecimento sobre os efeitos decorrentes da poluição dos corpos hídricos, alguns países da União Europeia e os Estados Unidos vêm buscando ampliar a regulamentação e o monitoramento de novos compostos, como os desreguladores endócrinos, que antes não eram objeto de atenção por parte dos dispositivos legais (Cunha et al., 2016).

Estudos mostram que essas substâncias, mesmo em concentrações extremamente baixas (ng L-1), podem promover alterações no sistema endócrino dos organismos aquáticos. Esses compostos são capazes de desencadear efeitos adversos como interferir no crescimento, desenvolvimento e/ou reprodução desses organismos (Barceló e Petrovic, 2008; Bila e Dezotti, 2007). Em face disto, a comunidade científica busca compreender melhor as vias de introdução e dispersão desses compostos no meio ambiente e os possíveis mecanismos de sua remoção. O maior entendimento da dinâmica destes compostos no meio ambiente permitirá o aperfeiçoamento das tecnologias de remoção através dos processos de tratamento de efluentes.

Dentre este grupo de substâncias, os estrogênios merecem especial atenção, uma vez que a sua presença em efluentes urbanos tem sido diretamente correlacionada a impactos à biota aquática. Estudos ecotoxicológicos apontam que a exposição contínua aos estrogênios está associada a alterações bioquímicas e histopatológicas, redução significativa na taxa de fertilização, diminuição na eclosão de ovos e modificações comportamentais no acasalamento em espécies de peixes, anfíbios, crustáceos e gastrópodes (Silva et al., 2012; Bergman et al., 2012; Giusti et al., 2014; Luna et al., 2015; Garmshausen et al., 2015). O efeito mais alarmante é o processo de feminização (desenvolvimento de características sexuais femininas em machos, incluindo anatomia reprodutiva feminina), uma vez que compromete o ciclo reprodutivo de toda uma população, podendo assim desencadear um desequilíbrio ecossistêmico (Gilbert, 2012).

Neste contexto de risco à biota aquática, o lançamento de esgoto "in natura" ou tratado tem sido indicado como principal contribuinte para a introdução de estrogênios no meio hídrico. Dessa forma, os processos de tratamento podem representar uma barreira para seu lançamento nos corpos hídricos. Porém, para que a depuração seja efetiva, é necessário implementar sistemas que possam realmente remover e/ou degradar tais compostos. No entanto, observa-se que os processos convencionais de tratamento de esgotos podem não remover integralmente esses compostos e, desta forma, conduzir a sua introdução contínua no meio hídrico (Brandt et al., 2013; Aquino et al., 2013).

Diante da crescente preocupação com a qualidade da água e a fim de minimizar os riscos causados pela poluição hídrica, países têm investido em estudos para o aprimoramento das tecnologias de tratamento de águas residuais. Portanto, este trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão sobre a ocorrência dos estrogênios estrona, estriol, estradiol e etinilestradiol nas águas residuais e superficiais. Além disso, este artigo mostra a eficiência encontrada por alguns autores em relação à remoção desses compostos por processos biológicos para o tratamento de esgoto.



## 2. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E METABÓLICAS

Os estrogênios, bem como todos os hormônios esteroidais, possuem uma mesma estrutura química básica de 17 átomos de carbono dispostos em quatro anéis (A, B, C e D) ligados entre si. Configurações estruturais no anel D dão origem a diferentes estrogênios (Tabela 1). Na posição do carbono 17 (C17) a estrona possui uma carbonila enquanto o estradiol possui uma hidroxila, já o estriol possui duas hidroxilas, uma no C16 e a outra no C17.

O etinilestradiol difere-se do estradiol através de um único radical, o etinil, também no carbono 17. Esta diferença faz com que o etinilestradiol possua maior potencial estrogênico e também se torne mais resistente à degradação com relação ao estradiol (Combalbert e Hernandez-Raquet, 2010; WHO e IARC, 2007).

Tabela 1. Propriedades físico-químicas de alguns estrogênios (Hamid e Eskicioglu 2012).

Estrogênio	Fórmula molecular	CAS <sup>a</sup>	Log Kowb	$p\mathbf{K_{a}}^{c}$	$Log \: \mathbf{K_d}^d$
Estrona	он	53-16-7	3,13	10,4	2,44 - 2,72
Estradiol	OH OH	50-28-2	4.01	10.4	2,45 - 2,83
Estriol	он он	50-27-1	2,45	10,3	
Etinilestradiol	OH C≡ CH	57-63-6	3,67	10,46 - 10,7	2,65 - 2,86

a CAS: Chemical Abstract Service. Número que corresponde à identificação química da substância.

Com relação as propriedades físico-químicas, um parâmetro importante e frequentemente usado na descrição do comportamento de um contaminante no ambiente é o coeficiente de distribuição (K<sub>d</sub>). Este por sua vez está diretamente associado ao coeficiente de partição octanol/água (K<sub>ow</sub>).

O  $K_d$  é determinado pela razão entre a massa do composto na fase sólida e na fase líquida. Este parâmetro é muito útil para estimar o potencial de sorção do contaminante dissolvido em contato com o solo. Quanto maior o  $K_d$ , maior a tendência do contaminante ficar adsorvido ao solo ou sedimento (CETESB, 2001).



b K<sub>ow</sub>: Coeficiente de partição octanol/água.

c pKa: Constante de dissociação ácida.

d K<sub>d</sub>: Coeficiente de distribuição.

Ainda com relação à mobilidade dos estrogênios, o K<sub>ow</sub>, definido pela a relação entre concentração do contaminante orgânico na fase octanol e a concentração deste na fase aquosa, se apresenta como importante coeficiente para compreender a hidroafinidade destes compostos. Valores de log K<sub>ow</sub> para os estrogênios variam entre 2,45 e 4. Este resultado mostra que os mesmos são moderadamente hidrofóbicos, tendo a tendência de se associarem à fase sólida.

No que diz respeito às características metabólicas, a maioria dos estrogênios produzidos pelo corpo humano, ou mesmo aqueles que são ingeridos através de anticoncepcionais e/ou de medicamentos utilizados na terapia de reposição hormonal, são excretados pelas fezes e urina em sua forma conjugada (sulfato e/ou glicuronídeos) (Cano et al., 1997). Tais conjugados polares são biologicamente menos ativos e mais solúveis em água quando comparados aos estrogênios livres, não conjugados (D'ascenzo et al., 2003).

Vale observar que, mesmo com estes mecanismos de degradação, estudos constataram a ocorrência de estrogênios em sua forma livre em diferentes compartimentos ambientais, principalmente em afluentes e efluentes de ETE. Isso ocorre devido ao um processo natural, no qual as bactérias presentes no meio, principalmente a *Escherichia coli*, são capazes de desconjugar os estrogênios, tornando-os novamente a sua forma livre (Fent et al., 2006; D'ascenzo et al., 2003).

Este processo ocorre, pois, a *E. coli* é capaz de sintetizar uma grande quantidade da enzima β-glucuronisidase, responsável por essa transformação. A natureza recalcitrante dos conjugados sulfatos ao longo das ETEs pode ser explicada por uma atividade mais fraca da arilsulfatase da *E. coli* comparada com a β-galogsidade (Hamid e Eskicioglu 2012).

## 3. OCORRÊNCIA DE ESTROGÊNIOS NO ESGOTO BRUTO, TRATADO E NA ÁGUA SUPERFICIAL

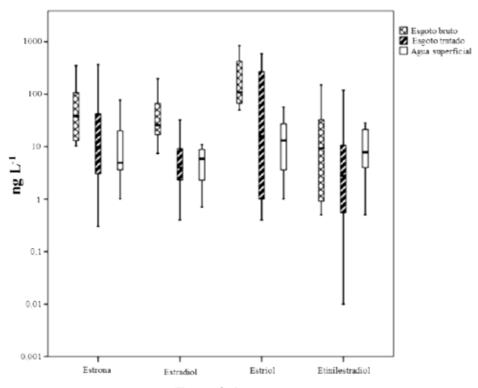
Uma vez constatada a introdução contínua de estrogênios no meio hídrico e seus efeitos negativos à qualidade das águas e, consequentemente, à saúde dos ecossistemas, o monitoramento destas substâncias vem ganhando especial atenção. Assim, métodos têm sido desenvolvidos visando a determinação desses compostos nas mais variadas matrizes aquáticas.

A Figura 1 resume as concentrações de estrogênios relatadas por diversos estudos, que analisaram esgoto bruto, esgoto tratado e águas superficiais em diversos países, com exceção do Brasil.

Para construção do gráfico apresentado na Figura 1 foram consultados os dados obtidos de cerca de 15 artigos, conduzidos em diferentes países. Estes foram então introduzidos e processados no programa estatístico SPSS versão 22.0, optando-se por gerar um gráfico em formato boxplot. Na Figura 1, são apresentadas as barras principais, limitadas pelo primeiro e terceiro quartil; as medianas; e as hastes dos limites inferior e superior. Nesta representação, foram excluídos os pontos discrepantes (outliers).

No geral, as concentrações dos estrogênios no esgoto tratado foram menores do que as do esgoto bruto. Padrão este que pode ser visto mais claramente em relação aos estrogênios naturais (estrona, estradiol e estriol). Já com relação ao estrogênio sintético (etinilestradiol), este decaimento é menos evidente. Tal resultado reflete a ação de processos de tratamento de esgotos na remoção destes compostos.

Observa-se ainda que a matriz esgoto tratado foi a que se mostrou com maior variabilidade para os diferentes estrogênios estudados. Tal constatação pode ser explicada pela adoção de diferentes tecnologias de tratamento de efluentes, bem como pela vazão de entrada e carga orgânica aplicada, o que, por consequência, acarreta em uma heterogeneidade das eficiências de degradação/remoção de estrogênios.



Estrogênios

Figura 1. Variação das concentrações dos estrogênios estrona, estradiol, estriol e etinilestradiol no esgoto bruto, esgoto tratado e águas superficiais em diversos países (Drewes et al., 2005; Morteani et al., 2006; Chimchirian et al., 2007; Zorita et al., 2009; Duong et al., 2010; Zhang et al., 2011; Atkinson et al., 2012; Martin et al., 2012; Wang et al., 2012; Williams et al., 2012; Ye et al., 2012; Jin et al., 2013; Manickum e John, 2014; e Liu et al., 2015).

São ainda apresentados na sequência (Tabela 2) dados nacionais de concentrações de estrogênios encontrados nestas mesmas matrizes.

Embora tenham sido encontrados poucos artigos brasileiros sobre a ocorrência de estrogênios nas matrizes aquáticas, eles mostram que as concentrações destes compostos, com exceção do estriol (sobre o qual não foram encontrados estudos), foram bem superiores quando comparados aos dados relatados pelos estudos internacionais. Enquanto as concentrações destes estrogênios nos estudos internacionais não ultrapassaram a ordem de 1.000 ng L<sup>-1</sup>, no Brasil chegaram a 5.000 ng L<sup>-1</sup> em esgoto bruto, e até 4.000 ng L<sup>-1</sup> em águas superficiais (Tabela 2).

Outro ponto que merece atenção dentre os estudos de âmbito nacional, é ampla dispersão das concentrações, nas três matrizes estudadas. Os diferentes autores detectaram concentrações em ordens de grandeza bem distintas entre si, o que dificulta o estabelecimento de concentrações médias desses compostos para cada uma das matrizes. Tais variações podem ser explicadas por diversos fatores, como: condições locais, diferenças sociais e de saúde pública, e, ainda, diferenças entre as metodologias aplicadas para a condução de cada um dos estudos (Xu et al., 2012).

Mesmo com tal variabilidade entre os dados, é possível observar que ao analisar as concentrações obtidas por um mesmo autor, pode-se notar que há um significativo decaimento das concentrações desses estrogênios do esgoto bruto ao tratado (Pessoa et al., 2014; Queiroz et al., 2012; Froehner et al., 2011; Ternes et al., 1999), padrão este que confere com aquele



observado nos estudos internacionais (Atkinson et al., 2012; Chimchirian et al., 2007; Duong et al., 2010; Manickum e John, 2014; Martin et al., 2012; Zhang et al., 2011; Zorita et al., 2009).

**Tabela 2.** Concentrações de estrogênios encontrados em esgoto bruto, esgoto tratado e águas superficiais do Brasil.

Estrogênio	Matriz	Local	Concentração ng L-1	Referência	
Estrona	Esgoto bruto	Curitiba	870-1.380	Froehner et al. (2011)	
		Fortaleza	3.050	Pessoa et al. (2014)	
		Rio de Janeiro	40	Ternes et al. (1999)	
	tratado Fo	Curitiba	< LD	Froehner et al. (2011)	
		Fortaleza	2.080	Pessoa et al. (2014)	
		Rio de Janeiro	7	Ternes et al. (1999)	
	Água superficial	Atibaia, Campinas, Paulínia e Americana	< 16	Montagner e Jardim (2011	
Estradiol		Belo Horizonte	< 9,3-31	Queiroz et al. (2012)	
	Esgoto bruto	Curitiba	1.330-2.270	Froehner et al. (2011)	
		Fortaleza	776	Pessoa et al. (2014)	
		Rio de Janeiro	21	Ternes et al. (1999)	
		Belo Horizonte	< 9.3	Queiroz et al. (2012)	
	Esgoto tratado	Curitiba	490-760	Froehner et al. (2011)	
		Fortaleza	397	Pessoa et al. (2014)	
		Rio de Janeiro	1	Ternes et al. (1999)	
	superficial Belo Horizonte Ouro Preto, Itabirito	Atibaia, Campinas, Paulínia e Americana	< 45-6.806	Montagner e Jardim (2011	
			< 1-37	Moreira et al. (2009)	
		Ouro Preto, Itabirito Rio Acima, Nova Lin	na < 4-63	Moreira et al. (2011)	
Etinilestradiol	Esgoto bruto	Belo Horizonte	< 12,4 -41,3	Queiroz et al. (2012)	
		Curitiba	600-1.260	Froehner et al. (2011)	
		Fortaleza	3.180	Pessoa et al. (2014)	
	ESPOIO	Belo Horizonte	< 12,4	Queiroz et al. (2012)	
		Curitiba	< LD470	Froehner et al. (2011)	
	uuuuo	Fortaleza	176	Pessoa et al. (2014)	
	Água superficial Atibaia, Campinas, Paulínia e Americana Belo Horizonte Ouro Preto, Itabirito, Rio Acima, Nova Lir	< 17-4.390	Montagner e Jardim (2011		
		Belo Horizonte	< 1-54	Moreira et al. (2009)	
		na < 5-64	Moreira et al. (2011)		

Nota: LD - Limite de detecção.

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

Com relação às águas superficiais, no geral, a estrona é o estrogênio mais abundante e frequentemente detectado (Manickum e John, 2014; Jin et al., 2013; Wang et al., 2012; Duong et al., 2010; Kim et al., 2007). A maior ocorrência desse estrogênio nos corpos hídricos devese principalmente ao fato da estrona ser o principal produto da biodegradação do estradiol (Figura 2), durante os processos de tratamento de esgoto (Zorita et al., 2009). Segundo Sodré et al. (2007), dentre os estrogênios naturais, o estradiol é o mais potente, sendo estrogenicamente doze vezes mais ativo que a estrona. No que diz respeito ao etinilestradiol, por se tratar de um estrogênio sintético, sua ocorrência no meio hídrico pode ser diretamente relacionada ao consumo do mesmo, através de contraceptivos orais.

Figura 2. Via metabólica de degradação do estradiol por bactérias presentes no esgoto.

Fonte: Adaptado de Hamid e Eskicioglu (2012).

Caracterizar o comportamento dos estrogênios nas diferentes matrizes aquáticas apresenta-se como uma atividade complexa devido suas características físico-químicas, das propriedades do meio receptor e das inúmeras variáveis que atuam em conjunto no ambiente, como temperatura, turbidez, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido, radiação, relações de sinergismo, atividade microbiana e concentração de outras substâncias. No entanto, o conhecimento desses compostos, seus níveis de ocorrência em matrizes ambientais, bem como a avaliação dos seus efeitos, configuram-se como atividades extremamente importantes (Bila e Dezotti, 2007).

# 4. REMOÇÃO DE ESTROGÊNIOS POR PROCESSOS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO DE ESGOTO

Os processos biológicos de tratamento são amplamente empregados no Brasil e no mundo. Dentre os processos de tratamento classificados como biológicos, o processo aeróbio por lodos ativados é o mais utilizado, seguido pelos sistemas anaeróbios, como o RAFA (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente) – também conhecido como UASB "Upflow Anaerobic Sludge Blanket" – e as lagoas de estabilização.

Atualmente, variantes destes diferentes processos foram e estão sendo desenvolvidos para melhorar a remoção de matéria orgânica e nutrientes (nitrogênio e fósforo). Por outro lado, os estudos envolvendo a remoção dos micropoluentes emergentes, como os estrogênios, partem da análise do potencial de aplicação destas variantes com tal finalidade.

Para comparar a eficiência da remoção de estrogênios, além das variações dos parâmetros de controle de processo de lodo ativado, como: tempo de retenção dos sólidos (TRS), tempo de detenção hidráulica (TDH), índice volumétrico do lodo, taxa de aeração, remoção de matéria orgânica (DBO/DQO), remoção de nitrogênio e fósforo; também são simuladas variações nos tipos de processos por lodos ativados, tais como: valos de oxidação, reator em batelada sequencial, processo anóxico/aeróbio, lodo ativado utilizando clarificador no final do processo, lodos ativados com posterior tratamento terciário e bactérias anaeróbias facultativas redutoras de ferro (Petrie et al., 2014; Shi et al., 2013; Kumar et al., 2011; Ivanov et., 2010; Hashimoto e Murakami, 2009).

Hashimoto e Murakami (2009) compararam as eficiências de remoção de estrogênios por lodos ativados convencional e por lodos ativados com valos de oxidação com variação do TRS. Esses autores observaram que o processo por lodos ativados convencional foi capaz de degradar praticamente todo o estradiol (mais de 95%) à estrona com apenas cinco minutos de processo, em escala laboratorial; e a estrona, por sua vez, permaneceu posteriormente sorvida ao lodo após 24 horas de detenção hidráulica e pôde ser removida por sedimentação. Por outro lado, nos ensaios em que foi utilizado o lodo dos valos de oxidação, somente houve remoção pela sorção após uma hora de processo. No estágio anóxico do valo de oxidação, a remoção tanto da estrona quanto do estradiol foi menor (cerca de 20%). Em ambos os processos, o etinilestradiol teve alta taxa de remoção (da ordem de 85%), mas somente após oito horas de processo. Este estrogênio sintético não sofreu biodegradação, porém também foi removido pela sorção no lodo sedimentado. No geral, praticamente todas as variantes ensaiadas apresentaram maior eficiência na degradação/sorção dos estrogênios quando se adotou maiores TRS.

Shi et al. (2013) também relataram a degradação do estradiol à estrona em um reator independente da fase do processo (anóxica ou aeróbia). Porém, a transformação destes estrogênios na fase aeróbia foi mais intensificada. Pessoa et al. (2014) também encontraram maiores concentrações de estrona do que estradiol no efluente tratado por lodos ativados, devido à sua biodegradação aeróbia. O estudo de Shi et al. (2013) mostrou também que os estrogênios podem ser transferidos da fase líquida para o lodo, mostrando que os fenômenos de sorção podem ser os predominantes no processo de remoção desses compostos.

Kumar et al. (2011) obtiveram altas taxas de remoção dos estrogênios com valores acima de 80% em um processo por lodos ativados convencional adotando altos valores do TRS. Esses autores constataram que quanto menor a idade do lodo, menor é a taxa de remoção de estrogênios, o que corrobora com os resultados encontrados por Hashimoto e Murakami (2009). Entretanto, Petrie et al. (2014) obtiveram remoção de até 70% de estrogênios com o TRS de três a dez dias. Isso mostra que ainda não existe um consenso quanto as variações dos parâmetros de controle dos processos de lodos ativados para uma melhor taxa de remoção e/ou degradação desses estrogênios.

No que diz respeito à eficiência de remoção de estrogênios em relação à operação em ambientes aeróbio, anóxico ou anaeróbio, estudos relataram que os sistemas aeróbios foram os mais eficazes. Ivanov et al. (2010) realizaram um estudo utilizando bactérias anaeróbias e facultativas com capacidade de redução de ferro para verificar a biodegradação dos estrogênios. Neste processo, tanto estrona quanto estriol foram reduzidos em 60% e 27%, respectivamente. Com 15 dias de processo foi observada a remoção completa da estrona. Por outro lado, somente 9% do etinilestradiol foi removido, provavelmente pelo mecanismo de

sorção. Este estudo indica que nos processos anaeróbios existem mecanismos de degradação diferentes do aeróbio, mas que a remoção pela sorção no lodo também pode ocorrer.

Com o propósito de avaliar o potencial de remoção e/ou degradação de estrogênios utilizando fontes alternativas de carbono orgânico, Racz et al. (2012) utilizaram dois reatores em bateladas sequenciais (RBS) em escala laboratorial utilizando esgoto sintético, onde em um foi adicionada peptona e, no outro, glicose como fonte de carbono. Os autores observaram uma maior eficiência de sorção pelo lodo no reator com peptona, o que foi explicado pela alta taxa de nitrificação. Este estudo sugere ainda que, sistemas aeróbios nitrificantes podem ter uma eficiência maior na remoção principalmente do estrogênio sintético etinilestradiol.

Além dos sistemas por lodos ativados e os anaeróbios, outros processos têm sido testados quanto a remoção de estrogênios como os sistemas de alagados (wetland) e lagoas (estabilização, maturação e suas diversas variantes). Pessoa et al. (2014) avaliaram a eficiência de remoção da estrona, estradiol, e etinilestradiol em quatro tipos de processos distintos em escala real: uma lagoa facultativa seguida por uma lagoa de maturação, uma lagoa facultativa, um sistema de lodos ativados e um reator UASB. As taxas de remoção desses estrogênios pelas lagoas foram abaixo de 70%, enquanto que os processos de lodos ativados e reator UASB tiveram uma eficiência acima de 90%.

Song et al. (2009) estudaram a remoção da estrona, estradiol e etinilestradiol em diferentes profundidades de um sistema de alagados (wetland) em escala piloto como pós-tratamento de lodos ativados. Os autores observaram uma maior eficiência (da ordem de 75%), na remoção de estrogênios nas camadas mais superficiais do alagado, onde provavelmente prevalece o metabolismo aeróbio. Este estudo relatou que a biodegradação e a sorção foram os mecanismos predominantes nas zonas da rizosfera, onde prevalecem as raízes secundárias das plantas (raízes mais finas). Logo, micro-organismos presentes nas raízes das plantas podem estar atuando nos mecanismos de remoção e/ou degradação desses compostos.

Portanto, com base nos estudos consultados é possível observar que os processos aeróbios por lodos ativados parecem ser os mais promissores na remoção de estrogênios, sobretudo por serem os sistemas mais citados na literatura sobre este assunto. No entanto, para que seja consolidado este conhecimento é necessário associar alguns dos parâmetros operacionais adotados nesses sistemas como idade do lodo, TDH e taxa de aeração, por exemplo, com a eficiência de remoção e/ou degradação desses compostos. Além disso, faz-se pertinente analisar como a adoção de processos anóxicos e/ou anaeróbios podem influenciar nas condições metabólicas, e por consequência na remoção e/ou degradação destes compostos.

Um ponto ainda pouco estudado e que merece atenção é o fato de, ao se desencadear o processo de biodegradação dos estrogênios, haver a produção de metabólitos. Desta forma, é importante que mais estudos investiguem tais mecanismos de biodegradação ao longo dos sistemas e, sobretudo, identifiquem quais subprodutos podem ser formados e seus respectivos potenciais de desregulação endócrina.

#### 5. CONCLUSÃO

Os estrogênios apresentam-se como importantes contaminantes emergentes que podem afetar a saúde ambiental e humana. Estes têm no lançamento de esgotos domésticos sua principal via de introdução no meio ambiente. Estudos realizados em diversos países relataram concentrações significativas desses compostos em esgoto bruto e tratado, bem como nas águas superficiais que recebem esgoto doméstico. Apesar de existirem poucos artigos sobre este assunto, os níveis desses contaminantes no Brasil são maiores do que os encontrados nos demais países. Os sistemas de tratamento de esgotos podem representar uma importante barreira neste processo de contaminação do meio hídrico. Entretanto, no Brasil, em decorrência dos baixos



índices de coleta e tratamento de esgotos, ainda se observa que boa parte dos estrogênios excretados acaba tendo como destino final os corpos hídricos (SNIS, 2013).

Os processos aeróbios, sobretudo os por lodos ativados, mostraram melhor desempenho na biodegradação desses compostos. A sorção pelo lodo biológico parece ser o principal mecanismo na remoção de estrogênios; no entanto, ainda é necessário conhecer melhor os mecanismos de sua biodegradação. Há uma vasta gama de possibilidades tecnológicas que podem remover e/ou degradar esses compostos. Porém ainda são necessários mais estudos sobre a utilização destas tecnologias de tratamento no Brasil. Esta área de conhecimento merece maior atenção, uma vez que as ETEs podem atuar como importantes barreiras, tanto à introdução de estrogênios, quanto de outros micropoluentes emergentes.

#### 6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao estatístico Felipe Pinto pelo apoio na análise e apresentação gráfica dos dados, à Capes pela concessão de bolsa de doutorado, à Faperj (Processos E-26/110.102/2014 e E-26/201.479/2014) e ao CNPq (Processo 45533/2014-7) pelo apoio a pesquisa.

#### 7. REFERÊNCIAS

- AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.18, n. 3, p. 187-204, 2013. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522013000300002
- ATKINSON, S. K.; MARLATT, V. L.; KIMPE, L. E. et al. The occurrence of steroidal estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants. Science of the Total Environment, v. 430, p. 119-125, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.069.
- BARCELÓ, D.; PETROVIC, M. Emerging contaminants from industrial and municipal waste: occurrence, analysis and effects. Berlin: Springer; c2008. 206p.
- BERGMAN, A.; HEINDEL, J. J.; JOBLING, S. et al. State of the science of endocrine disrupting chemicals. Genebra: UNEP; WHO, c2012. 180p.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000300027.
- BRANDT, E. M. F; QUEIROZ, F. B.; AFONSO, R. J. C. F. et al. Behaviour of pharmaceuticals and endocrine disrupting chemicals in simplified sewage treatment systems. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 718-726, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.06.003.
- CANO, A.; ROURA, A. C.; CORTIT, L. I. Farmacología de los anticonceptivos hormonales orales. In: BUIL, C. (Ed.). Manual de anticoncepción hormonal oral. Zaragoza: Sociedad Española de Contracepción, 1997. p. 75-99.
- CETESB COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo. São Paulo. 2001.



- CHIMCHIRIAN, R. F.; SURI, R. P. S.; FU, H. Free synthetic and natural estrogen hormones in influent and effluent of three municipal wastewater treatment plants. Water Environment Research, v. 79, n. 9, p. 969-974, 2007. http://www.jstor.org/stable/25053673.
- COMBALBERT, S.; HERNANDEZ-RAQUET, G. Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 86, n. 6, p. 1671-1692, 2010. http://dx.doi.org/10.1007/s00253-010-2547-x
- CUNHA, D. L.: SILVA, S. M. C.; BILA, D. M. et al. Regulamentação do estrogênio sintético 17α-etinilestradiol em matrizes aquáticas na Europa, Estados Unidos e Brasil. Cadernos de Saúde Pública, v. 32, n. 3, p. 1-13, 2016. http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00056715.
- D'ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; GENTILI. A. et al. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. Science of the Total Environment. v. 302, n. 1-3, p. 199-209, 2003. http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00342-X
- DREWES, J. E.: HEMMING, J.: LADENBURGER, S. et al. An assessment of endocrine disrupting activity changes in water reclamation systems through the use of bioassays and chemical measurements. Water Environment Research, v. 77, n. 1, p. 12-23, 2005. http://dx.doi.org/10.2175/106143005X41573.
- DUONG, C. N.; RA, J. S.; CHO J. et al. Estrogenic chemicals and estrogenicity in river waters of South Korea and seven Asian countries. Chemosphere, v. 78, p. 286-293, 2010. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.10.048.
- FENT, K.: WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquatic toxicology, v. 76, n. 2, p. 122-159, 2006. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009
- FROEHNER, S.; PICCIONI, W.; MACHADO, K. S.; AISSE, M. M. Removal capacity of caffeine, hormones, and bisphenol by aerobic and anaerobic sewage treatment. Water, Air & Soil Pollution, v. 216, n. 1, p. 463-471, 2011. http://dx.doi.org/10.1007/s11270-010-0545-3.
- GARMSHAUSEN, J.; KLOAS, W.; HOFFMANN, F. 17α-ethinylestradiol can disrupt hemoglobin catabolism in amphibians. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, v. 171, p. 34-40, 2015. http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.03.004.
- GILBERT, N. Drug-pollution law all washed up. Nature, v. 491, n. 7425, p. 503-504, 2012. http://dx.doi.org/10.1038/491503a.
- GIUSTI, A.; LAGADIC, L.; BARSI, A. et al. Investigating apical adverse effects of four endocrine active substances in the freshwater gastropod *Lymnaea stagnalis*. Science of the Total Environment, v. 493, p. 147-155, 2014. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.130.
- GÓMEZ, M. J.; HERRERA, S.; SOLÉ, D. et al. Spatio-temporal evaluation of organic contaminants and their transformation products along a river basin affected by urban, agricultural and industrial pollution. Science of The Total Environment, v. 420, p.134– 145, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.01.029.



HAMID, H; ESKICIOGLU, C. Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix.

Water Research, v. 46, n. 18, p. 5813-33, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.08.002.

- HASHIMOTO, T.; MURAKAMI, T. Removal and degradation characteristics of natural and synthetic estrogens by activated sludge in batch experiments. Water Research, v. 43, n. 3, p. 573-582, 2009. http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.051.
- IARC INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, 2007.
- IVANOV, V.; LIM, J.; STABNIKOVA, O.; GIN, K. Biodegradation of estrogens by facultative anaerobic iron-reducing bacteria. Process Biochemistry, v. 45, n. 2, 284-287, 2010. http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2009.09.017.
- JIN, S.; YANG, F.; XU, Y.; DAI, H.; LIU, W. Risk assessment of xenoestrogens in a typical domestic sewage-holding lake in China. Chemosphere, v. 93, n. 6, p. 892-8, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.037.
- KIM, S. D.; CHO, J.; KIM, In S. et al. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. Water research, v. 41, n. 5, p. 1013-1021, 2007. http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.034
- KUMAR, V.; NAKADA, N.; YASOJIMA, M. et al. The arrival and discharge of conjugated estrogens from a range of different sewage treatment plants in the UK. Chemosphere, v. 82, n. 8, p. 1124-1128, 2011. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.040.
- LIU, J.; LU, G.; XIE, Z. et al. Occurrence, bioaccumulation and risk assessment of lipophilic pharmaceutically active compounds in the downstream rivers of sewage treatment plants. Science of the Total Environment, v. 511, p. 54–62, 2015. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.033.
- LUNA, T. O.; PLAUTZ, S. C.; SALICE, C. J. Chronic effects of 17α-ethinylestradiol, fluoxetine, and the mixture on individual and population-level end points in *Daphnia magna*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 68, n. 4, p. 603-611, 2015. http://dx.doi.org/10.1007/s00244-014-0119-2.
- MANICKUM, T.; JOHN, W. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). Science of the Total Environment, v. 468-469, p. 584-597, 2014. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.041.
- MARTIN, J.; CAMACHO-MUÑOZ, D.; SANTOS, J. L. et al. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. Journal of Hazardous Materials, v. 239-240, p. 40-47, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.068.
- MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia river, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532011000800008.

- MOREIRA, D. S.: AQUINO, S. F.: AFONSO, R. J. C. F. et al. Occurrence of endocrine disrupting compounds in water sources of Belo Horizonte Metropolitan Area, Brazil. Environmental Technology. v. 30, n. 10, p. 1041-1049, 2009. http://dx.doi.org/10.1080/09593330903052830.
- MOREIRA, M. A.; AQUINO, S. F.; COUTRIM, M. X. et al. Determination of endocrine-disrupting compounds in waters from Rio das Velhas, Brazil, by liquid chromatography/high resolution mass spectrometry (ESILC-IT-TOF/MS).
  Environmental Technology, v. 32, n. 11-12, p. 1409-1417, 2011, http://dx.doi.org/10.1080/09593330.2010.537829.
- MORTEANI, G.; MÖLLER, P.: FUGANTI, A.: PACES, T. Input and fate of anthropogenic estrogens and gadolinium in surface water and sewage plants in the hydrological basin of Prague (Czech Republic). Environmental Geochemistry and Health, v. 28, n. 3, p. 257-64, 2006. http://dx.doi.org/10.1007/s10653-006-9040-6.
- PAL, A.; GIN, K. Y. H.; LIN, A. Y. C.; REINHARD, M. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. Science of The Total Environment, v. 408, n. 24, p. 6062-6069, 2010. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.026.
- PESSOA, G. P.; SOUZA, N. C.; VIDAL, C. B. et al. Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. Science of the Total Environment, v. 490, 288-295, 2014. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.008.
- PETRIE, B.; McADAM, E.; HASSARD, F. et al. Diagnostic investigation of steroid estrogen removal by activated sludge at varying solids retention time. Chemosphere, v. 113, p. 101-108, 2014. http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.051.
- QUEIROZ, F. B.; BRANDT, E. M. F.; AQUINO, S. F. et al. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw sewage and their behavior in UASB reactors operated at different hydraulic retention times. Water Science & Technology, v. 6612, p. 2562-2569, 2012. http://dx.doi.org/10.2166/wst.2012.482
- RACZ, L.: MULLER, J.: GOEL, R. Fate of selected estrogens in two laboratory scale sequencing batch reactors fed with different organic carbon sources under varying solids retention times. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 35-42, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.059.
- SHI, J.: CHEN, Q.; LIU, X. et al. Sludge/water partition and biochemical transformation of estrone and 17β-estradiol in a pilot-scale step-feed anoxic/oxic wastewater treatment system. Biochemical Engineering Journal, v. 74, p. 107-114, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.001.
- SILVA, P.; ROCHA, M. J.; CRUZEIRO, C. et al. Testing the effects of ethinylestradiol and of an environmentally relevant mixture of xenoestrogens as found in the Douro River (Portugal) on the maturation of fish gonads--a stereological study using the zebrafish (Danio rerio) as model. Aquatic Toxicology, v. 124-125, p. 1-10, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.07.002.
- SNIS SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÃO EM SANEAMENTO (Brasil). Série Histórica. 2013. Disponível em: http://app.cidades.gov.br/serieHistorica/manuais/ae/ diagnosticos/DiagAE 2013.pdf. Acesso em: 2016.



SODRÉ, F. F. M.; MONTAGNER, C. C.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology, v. 2, n. 2, p. 187-196, 2007.

- SONG, H.; NAKANO, K.; TANIGUCHI, T. et al. Estrogen removal from treated municipal effluent in small-scale constructed wetland with different depth. Bioresource Technology, v. 100, n. 12, p. 2945-2951, 2009. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.
- TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MUELLER, J. et al. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants 1: Investigations in German, Canada and Brazil. Science of the Total Environment, v. 225, n. 1-2, p. 81-90, 1999. http://dx.doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00334-9.
- WILLIAMS, R. J.; CHURCHLEY, J. H. et al. Comparing predicted against measured steroid estrogen concentrations and the associated risk in two United Kingdom river catchments. Environmental Toxicology and Chemistry, v. 31, n. 4, p. 892–898, 2012. http://dx.doi.org/10.1002/etc.1756.
- WANG, G.; MA, P.; ZHANG, Q. et al. Endocrine disrupting chemicals in New Orleans surface waters and Mississippi Sound sediments. Journal of Environmental Monitoring, v. 14, n. 5, p. 1353-1364, 2012. http://dx.doi.org/10.1039/c2em30095h.
- XU, N.; XU, Y.; XU, S. et al. Removal of estrogens in municipal wastewater treatment plants: A Chinese perspective. Environmental Pollution, v. 165, p. 215–224, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.12.025
- YE, X.; GUO, X.; CUI, X. et al. Occurrence and removal of endocrine-disrupting chemicals in wastewater treatment plants in the Three Gorges Reservoir area, Chongqing, China. Journal of Environmental Monitoring, v. 14, n. 8, p. 2204-11, 2012. http://dx.doi.org/10.1039/c2em30258f.
- ZHANG, Z.; FENG, Y.; GAO, P. et al. Occurrence and removal efficiencies of eight EDCs and estrogenicity in a STP. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 5 p. 1366-1373, 2011. http://dx.doi.org/10.1039/c0em00597e.
- ZORITA, S.; MÅRTENSSON, L.; MATHIASSON, L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. Science of the Total Environment, v. 407, n. 8, p. 2760-2770, 2009. http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.

# CONCENTRAÇÃO DE CONTAMINANTES E TOXICIDADE COM A BACTÉRIA Allivibrio fischeri NOS SEDIMENTOS DO SISTEMA LAGUNAR ITAIPUPIRATININGA, SUDESTE DO BRASIL

(ARTIGO 2)

# Concentração de contaminantes e toxicidade com a bactéria *Allivibrio fischeri* nos sedimentos do sistema lagunar Itaipu-Piratininga, Sudeste do Brasil

Danieli Lima da Cunha<sup>1</sup>; Samuel Muylaert<sup>2</sup>; Marilia Teresa Lima do Nascimento<sup>1</sup>; Louise da Cruz Felix<sup>3</sup>; José Joaquim Dutra de Andrade<sup>1</sup>; Rafael Cuellar de Oliveira<sup>1</sup>; Daniele Maia Bila<sup>3</sup>; Estefan Monteiro da Fonseca<sup>1</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Departamento de Geologia, Instituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ, Brasil.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Instituto Estadual do Ambiente, Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

#### **RESUMO**

Como reflexo de um intenso e crescente processo de urbanização, o sistema lagunar Itaipu-Piratininga, localizado no município de Niterói, sudeste do Brasil, tem sofrido significativas pressões ambientais. Assim são lançados alguns compostos que, mesmo em baixas concentrações, podem impactar a biota aquática. Neste contexto, o objetivo principal desse estudo foi avaliar a qualidade dos sedimentos do sistema lagunar em questão. Para isso foi analisada a presença de 39 contaminantes (metais pesados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, pesticidas organoclorados e bifenilas policloradas) e a toxicidade aguda, através da bactéria luminescente Allivibrio fischeri (Microtox). Os resultados obtidos mostraram que o sistema lagunar apresentou concentrações abaixo do limite de detecção para quase todos os contaminantes estudados, com exceção dos metais pesados. Ao comparar as concentrações observadas com outras referências e valores basais, foram observados valores elevados para Cu e Zn, e em menor escala para Pb e Ni. Este padrão se refletiu também quando os resultados obtidos foram comparados com normativos nacionais e internacionais. Com relação à toxicidade, apenas um ponto do sistema lagunar Itaipu-Piratininga mostrou-se intensamente tóxico para a bactéria A. fischeri, enquanto na maioria dos demais foi observado o efeito hormesis. Os pontos amostrais que apresentaram alterações mais significativas da qualidade de seus sedimentos foram aqueles próximos às fozes dos afluentes de maior caudal e nas desembocaduras do Canal do Camboatá. O presente estudo traz contribuições ao conhecimento das características dos sedimentos superficiais e testemunhos das lagoas em questão.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminantes, metais pesados, sedimento, toxicidade, Allivibrio ficsheri.

### 1. <u>INTRODUÇÃO</u>

Fundamental para a manutenção ecológica das lagoas costeiras, o aporte proveniente de rios e do escoamento superficial se apresenta como uma importante fonte natural de nutrientes e demais elementos que sustentam o equilíbrio destes ecossistemas (Kennish & Paerl, 2010; Gobler, 2005). Entretanto, com o processo de urbanização, além dos nutrientes, quantidades substanciais de contaminantes orgânicos e inorgânicos chegam a essas áreas por meio de diferentes fontes antrópicas, pontuais e difusas, o que gera uma crescente preocupação na comunidade científica (Fonseca et al., 2014; Ravichandran & Manickam, 2012).

Nestes ambientes estuarinos os sedimentos são considerados um importante compartimento ambiental, uma vez que os mesmos, por suas características biogeoquímicas, têm a capacidade de dar uma série de indícios sobre a qualidade de todo o sistema aquático. Dentre tais características, destaca-se a capacidade de retenção de contaminantes, sendo possível reconhecer através de métodos analíticos os compostos presentes, inferir/compreender mecanismos de transporte e dinâmica ambiental, e ainda estabelecer correlações com as possíveis fontes poluidoras (Ayyamperuma et al., 2006).

Diversos processos bióticos e abióticos implicam nessa dinâmica e influenciam na concentração final dos contaminantes nos sedimentos (Perrichon et al., 2014; Hilscherová et al., 2010; Bláha et al., 2010). Além de degradação, precipitação e acumulação, em determinadas situações (alterações de pH, potencial redox e salinidade) o sedimento também pode apresentar processos de dessorção de tais compostos e torná-los novamente biodisponíveis na coluna d'água (Chau, 2006; Alagarsamy, 2006; Valdés et al., 2005).

Como reflexo do desenvolvimento e intensificação de atividades antrópicas, diversos contaminantes como: pesticidas, fármacos, plastificantes, metais pesados, entre outros; têm sido continuamente introduzidos no ambiente, sendo as áreas costeiras e estuarinas zonas de grande pressão ambiental (Zhang et al., 2007; Boonyatumanond et al., 2006). Estas substâncias, mesmo que geralmente presentes nos sedimentos em concentrações-traço, representam significativo risco para os organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos, podendo ainda sofrer bioacumulação e/ou biomagnificação ao longo da cadeia alimentar (Sheik et al., 2012, U.S. EPA, 2007).

O impacto desses contaminantes pode ser estimado por análises químicas combinadas a bioensaios. Dentre os bioensaios merecem destaque os testes de toxicidade aguda e crônica, que quantificam mudanças fisiológicas, histológicas, morfológicas e comportamentais (Ward et al., 2013; Li et al., 2013; Chapman, 2007). Um bioensaio capaz de detectar amplo espectro de contaminantes em diferentes matrizes, e que possui boa sensibilidade, é aquele com bactérias bioluminescentes *Allivibrio fischeri*, também conhecido como Microtox (Parvez et al., 2006; Chen et al., 2017; Joutti et al., 2003).

Essas bactérias são organismos que habitam principalmente ecossistemas marinhos e sua bioluminescência é produzida por um tipo de reação de quimiluminescência natural desencadeada por catálise enzimática (Kaeding et al., 2007). Resumidamente, o princípio do ensaio de toxicidade com a *A. fischeri* pode ser explicado pela correlação da emissão de luz das bactérias com a toxicidade do composto teste (Vethaak et al., 2017). Isso ocorre, pois o metabolismo bacteriano é sensível a compostos tóxicos, que acabam reduzindo a emissão de luz, assim, quanto mais tóxica for à amostra testada, menor é a emissão de luz (Kahru et al., 1993).

O ensaio Microtox supracitado pode ser realizado através de extratos orgânicos ou de elutriatos aquosos em amostras de sedimentos. Entretanto, aqueles que utilizam elutriatos têm se mostrado mais relevantes, porque expõem as bactérias a compostos hidrossolúveis, refletindo melhor a biodisponibilidade e a toxicidade de múltiplos contaminantes no ambiente (Blasco & Picó, 2009).

Neste contexto, o presente estudo objetiva analisar a qualidade dos sedimentos no sistema lagunar Itaipu-Piratininga, no município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. Esta região tem sofrido significativas pressões ambientais como reflexo de um intenso e crescente processo de urbanização.

Como procedimentos metodológicos foram realizados: (1) análise dos parâmetros físicoquímicos; (2) análises químicas para quantificação de metais pesados, pesticidas organoclorados, bifenilas policloradas (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)s; e, (3) ensaio de toxicidade aguda com a bactéria *A. fischeri*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1 ÁREA DE ESTUDO

Situado na região costeira a leste da entrada da Baía de Guanabara, o sistema lagunar Itaipu-Piratininga (Figura 1) compreende as duas primeiras lagoas, de uma série de quinze, entre Niterói e Cabo Frio. Ambas as lagoas, e suas respectivas bacias drenantes, se localizam

inteiramente na Região Oceânica do Município de Niterói, Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, no sudeste do Brasil.

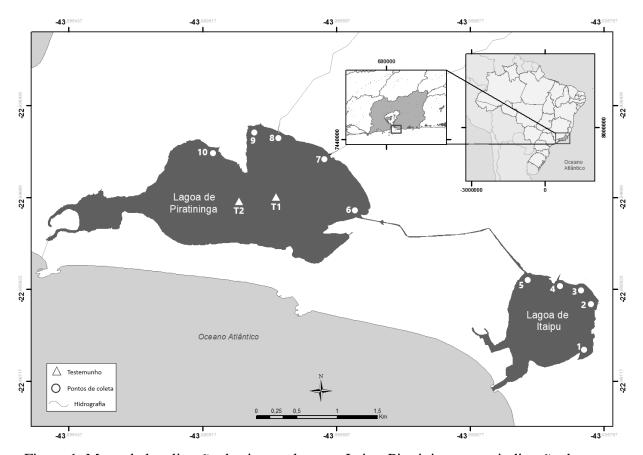


Figura 1. Mapa de localização do sistema lagunar Itaipu-Piratininga, com indicação dos pontos de coleta de sedimentos superficiais e testemunhos.

Com expressivas taxas de crescimento populacional, a Região Oceânica de Niterói apresentava em 2010, antes mesmo da abertura de um túnel, que a conecta com uma área mais central e urbanizada do município, uma população de cerca de 70 mil habitantes (Fontenelle & Corrêa, 2013). Esta parte do município tem o predomínio de ocupação para fins de moradia, e suas principais atividades econômicas são o comércio e a prestação de serviços, não há indústrias significativas do ponto de vista de geração de efluentes.

No que diz respeito ao esgotamento sanitário, aproximadamente 85% dos domicílios da região estão ligados à rede de coleta de esgotos, que são direcionados a duas estações de tratamento de esgoto (ETE), uma em Camboinhas e outra em Itaipu. A de Itaipu atende a três bairros da região e tem capacidade máxima de tratamento de 294 L.s<sup>-1</sup>, enquanto a de Camboinhas atende cinco bairros e tem capacidade máxima de 116 L.s<sup>-1</sup>. Ambas possuem o

tratamento de nível terciário, ou seja, além da remoção de 90% da carga orgânica, também têm capacidade de retirar parte dos compostos à base de nitrogênio e fósforo (Águas de Niterói, 2018; PMN, 2013).

Composta de um conjunto de pequenos rios e córregos, a macrobacia drenante ao sistema lagunar Itaipu-Piratininga abrange a totalidade da Região Oceânica de Niterói, e tem como principais divisores de águas o Morro da Viração (a oeste) e a Serra da Tiririca (a leste e norte). A lagoa de Piratininga é receptora dos rios Arrozal e Jacaré; dos córregos da Viração e do Cafubá; e, das valas do Tibau e do Santo Antônio. A lagoa de Itaipu é receptora dos rios João Mendes e da Vala; e, dos córregos da Tiririca e de Itacoatiara (FEEMA, 1988).

A lagoa de Piratininga compreende uma área de aproximadamente 2.9 km² e sua profundidade média é inferior a 0.6 m, atingindo em poucos trechos 1.5 m. Já a lagoa de Itaipu possui um espelho d'água de cerca de 1 km² e uma área alagadiça de mais de 2 km². Sua profundidade média é inferior a 1 m, e as profundidades máximas são de 2 m (FEEMA, 1988).

As duas lagoas eram originalmente sistemas independentes e se comunicavam com o mar por meio de embocaduras temporárias, que tinham suas barras abertas ciclicamente em função de um balanço de forças entre a deposição de areia da praia e a elevação do nível das lagoas, em períodos de maior precipitação. Em 1946, estas passaram a ter comunicação, após a abertura do canal do Camboatá, construído com objetivo de permitir um equilíbrio hidráulico entre as duas lagoas, prevenindo assim eventos de excessiva elevação dos níveis das lagoas. Entretanto, a construção deste canal fez com que a lagoa de Piratininga reduzisse sua capacidade de acumular volume suficiente de água para abertura natural da barra, que a ligava com o mar e promovia a renovação de suas águas, dinâmica esta de grande relevância ecológica (PMN, 2014; Mach & Longo, 1998).

Posteriormente, em 1979, para tentar resolver o problema de baixa renovação das águas deste sistema, foi permanentemente aberto um canal entre a lagoa de Itaipu e o mar, o que consequentemente alterou a dinâmica hidráulica e ecológica, tanto na lagoa de Itaipu quanto na de Piratininga. A lagoa de Itaipu, por sua nova condição de ligação perene com o mar, se tornou uma lagoa salobra/salgada. Já a de Piratininga, com cota de fundo mais elevada em relação a de Itaipu, passou a ser permanentemente drenada, perdendo a capacidade de reter grandes volumes d'água. Assim, esta segunda intervenção de engenharia culminou na total incapacidade do lido da lagoa de Piratininga ser aberto naturalmente. Além disso, tal intervenção, ao induzir a um

esvaziamento da lagoa de Piratininga, levou à perda de área de seu espelho d'água (Mach & Longo, 1998).

Por fim, com intuito de reparar a situação de desequilíbrio hidrodinâmico da lagoa de Piratininga e aproximá-la de seu estado natural, com maior influência da água do mar, em 2008 foi criada uma ligação permanente desta lagoa com o mar por intermédio de um túnel de aproximadamente 1 km de extensão, com comportas móveis. Contudo, por problemas técnicos do projeto e de manutenção das estruturas, rapidamente as comportas perderam sua mobilidade, assim o sistema continuou funcionando passivamente, apenas com o vertedouro, que nas marés cheias conduz água do mar para a lagoa de Piratininga, que por sua vez tem o canal de Camboatá como elemento drenante (PMN, 2014).

Além de tais intervenções de engenharia, que alteraram as condições hidráulicas e ambientais das lagoas, o sistema lagunar vem sofrendo pressões ambientais cada vez mais intensas. Em função de várias áreas da bacia não contarem com infraestrutura de coleta e tratamento de esgoto, ou ainda pelo fato de uma série de residências e estabelecimentos não estarem ligadas à rede, é visível o lançamento de esgotos *in natura* diretamente nas lagoas ou em seus afluentes.

#### 2.2 AMOSTRAGEM

Para análise dos sedimentos superficiais, foram realizadas duas campanhas amostrais em janeiro e agosto de 2017, período chuvoso e de estiagem, respectivamente. Em cada lagoa foram escolhidos cinco pontos de coleta. A seleção desses pontos foi feita de acordo com a proximidade de potenciais fontes de poluição, que são, na maioria, corpos d'água que deságuam nestas lagoas.

Com o intuito de compreender a variabilidade vertical dos compostos analisados, dois testemunhos também foram coletados até uma profundidade de 1.6 m abaixo do leito da lagoa de Piratininga, em janeiro de 2017. A Figura 1 e a Tabela 1 mostram a localização e informações básicas de cada ponto de amostragem.

Tabela 1. Descrição dos pontos de coleta de sedimentos superficiais e testemunhos no sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Pontos	Localização	Descrição	Coordenadas (GPS)
1		Próximo a vala de Itacoatiara	22°57'51.00"S 43°2'17.72"W
2		Próximo ao córrego da Tiririca	22°57'30.73"S 43°2'14.17"W
3	Lagoa de Itaipu	Próximo ao rio da Vala	22°57'23.48"S 43°2'19.15"W
4		Próximo ao rio João Mendes	22°57'24.81"S 43°2'25.69"W
5		Próximo do canal do Camboatá	22°57'19.88"S 43°2'39.75"W
6		Próximo do canal do Camboatá	22°56'55.37"S 43°3'48.47"W
7		Próximo ao rio Jacaré	22°56'34.62"S 43°3'57.40"W
8		Próximo ao rio Arrozal	22°56'23.11"S 43°4'16.85"W
9	Lagoa de Piratininga	Próximo ao córrego do Cafubá	22°56'24.27"S 43°4'28.22"W
10		Próximo ao córrego da Viração	22°56'30.35"S 43°4'45.63"W
T1		Parte central da lagoa	22°56′48.89"S 43°04′18.30"W
T2		Parte central da lagoa	22°56′50.48"S 43°04′37.75"W

Os sedimentos superficiais foram coletados utilizando um amostrador *Van Veen* de aço inoxidável. Parte deste sedimento foi armazenada em sacos plásticos de polietileno para análise de metais pesados e outra foi armazenada em vidrarias (previamente lavadas) para análise de compostos orgânicos, parâmetros físico-químicos e realização do bioensaio Microtox. Em seguida, as amostras foram preservadas a 4 °C, transportadas para o laboratório e armazenadas a 4 °C até a análise. De maneira complementar, foi também utilizada uma sonda multiparâmetro (Horiba-U50) para analisar alguns parâmetros físico-químicos na coluna de água acima de cada ponto de amostragem de sedimento superficial.

A coleta dos testemunhos foi realizada através da utilização de um Trado Russo, que é extensível, com bulbo de 600 mm de altura, capacidade de recuperação de 480 mm e diâmetro interno de 90 mm. Cada testemunho foi composto por três seções nas profundidades de 0 a 5.5 m, de 5.5 a 1.05 m e de 1.05 a 1.6 m. Estes foram involucrados, identificados e preservados a 4 °C até a chegada ao laboratório, onde foram congelados. A recuperação de material dos testemunhos foi entre os níveis 0 a 4.8 m, 5.7 a 1.07 m e 1.17 a 1.6 m. Para tais amostras foram analisados os mesmos parâmetros que para as amostras de sedimentos superficiais, com exceção do ensaio Microtox.

# 2.3 ANÁLISES DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

A fim de obter uma caracterização de sedimentos, alguns parâmetros físico-químicos foram analisados. As concentrações de nitrogênio de Kjedahl total (NKT) foram obtidas por meio do método 4500N, recomenda pela APHA (1998). O teor de fósforo total (PT) seguiu a mesma metodologia realizada para os metais pesados, que está descrita no tópico 2.4. O teor de carbono orgânico total (COT) e a granulometria foram analisadas de acordo com o Manual Embrapa (1997) e a NBR 6457 (ABNT, 1986), respectivamente.

### 2.4 ANÁLISES DOS CONTAMINANTES

Foram analisados 39 contaminantes, dentre os quais metais pesados, pesticidas organoclorados, bifenilas policloradas (PCBs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), conforme Quadro 1.

Quadro 1. Contaminantes analisados nos sedimentos superficiais e testemunhos do sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Metais pesados	Pesticidas organoclorados	PCBs	HPAs
Arsênio (As) Cádmio (Cd) Chumbo (Pb) Cobre (Cu) Cromo (Cr) Mercúrio (Hg) Níquel (Ni) Zinco (Zn)	HCH (Alfa-HCH) HCH (Beta-HCH) HCH (Delta-HCH) HCH (Gama-HCH/Lindano) Clordano DDD DDE DDE DDT Dieldrin Endrin Tributilestanho (TBT)	PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180	Benzo(a)antraceno Benzo(a)pireno Criseno Dibenzo(a,h)antraceno Acenafteno Acenaftileno Antraceno Fenantreno Fluoranteno Fluoreno 2-Metilnaftaleno Naftaleno Pireno

Para análise dos metais pesados, as amostras primeiramente foram digeridas em ácido nítrico conforme descrito o método 3050B da U.S. EPA (1996). Em seguida suas concentrações foram determinadas por espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), com base no método 200.8 da U.S. EPA (1994).

Os pesticidas organoclorados, PCBs e os HPAs foram determinados por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), seguindo o método 8270E da U.S. EPA (2014).

## 2.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR METAIS

Com intuito de avaliar o grau de contaminação por metais nos sedimentos amostrados, foram utilizados os índices de geoacumulação ( $I_{\rm geo}$ ) e de carga de poluição ( $Pollution\ load\ index$  - PLI).

O índice de geoacumulação ( $I_{geo}$ ) pode ser usado como referência para estimar o acúmulo de cada metal no sedimento, sendo assim possível avaliar a intensidade da poluição causada por cada um desses contaminantes. Este índice foi formulado por Müller (1969) e define-se como:

$$I_{geo} = \log_2 \left[ C_n / 1.5 B_n \right] \tag{1}$$

onde C<sub>n</sub> é a concentração do metal no sedimento e B<sub>n</sub> é o valor de referência para este metal. Este estudo utilizou como valor de referência os trabalhos realizados por Baptista-Neto *et al.* (2000) para Pb, Cu, Cr, Ni e Zn; e Turekian e Wedepohl (1961) para As e Cd. A constante 1.5 é a correção da matriz, introduzida para minimizar o efeito de possíveis variações nos valores de fundo devido a efeitos litogênicos.

Através dos valores de  $I_{geo}$ , os níveis de poluição por metais podem ser classificados como:  $I_{geo} < 0$  não poluído;  $0 < I_{geo} \le 1$  não poluído a moderadamente poluído;  $1 < I_{geo} \le 2$  moderadamente poluído;  $2 < I_{geo} \le 3$  moderadamente a fortemente poluído;  $3 < I_{geo} \le 4$  fortemente poluído;  $4 < I_{geo} \le 5$  fortemente a extremamente poluído; e  $I_{geo} > 5$  extremamente poluído (Müller, 1969).

O índice de carga de poluição (PLI) avalia o nível de poluição por um conjunto metais em uma dada amostra (Ganugapenta et al., 2018). Este índice, formulado por Tomlinson et al. (1980), representa o número de vezes em que a concentração dos metais excede o valor de base e, é calculado da seguinte maneira:

$$PLI = \sqrt[n]{FC1 \times FC2 \times FC3 \times \dots FCn}$$
 (2)

onde n é o número de metais e FC é o fator de concentração para cada metal analisado, que é definido pela seguinte equação:

$$FC = \frac{Cmetal}{Cbackground} \tag{3}$$

onde, *Cmetal* é a concentração de metal correspondente na amostra e *Cbackground* é a concentração de referência do metal, que também baseou-se nos estudos de Baptista-Neto et al. (2000) e Turekian e Wedepohl (1961).

Através dos valores obtidos, o estado de poluição por este conjunto de metais pode ser classificado em: não poluído se  $0 < PLI \le 1$ , não poluído a moderadamente poluído se  $1 < PLI \le 2$ , moderadamente poluído se  $2 < PLI \le 3$ , moderadamente a altamente poluído se  $3 < PLI \le 4$ , altamente poluído se  $4 < PLI \le 5$  e, extremamente poluído se PLI > 5 (Suresh et al., 2011).

Cabe pontuar que ambos os índices ( $I_{geo}$  e PLI) foram calculados para os 10 pontos de amostragem de sedimentos superficiais distribuídos no sistema lagunar, e não para os testemunhos.

#### 2.6 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA

O ensaio ecotoxicológico agudo foi realizado com a bactéria luminescente *Allivibrio fischeri* (organismos-teste), no qual foi analisada a inibição da bioluminescência devido ao contato com os elutriatos das amostras de sedimento. Este ensaio foi realizado nos sedimentos superficiais coletados nos 10 pontos distribuídos no sistema lagunar, para as duas campanhas de amostragem, e teve como base a metodologia proposta pela NBR 15411-3 (ABNT, 2006).

Primeiramente, os elutriatos foram gerados através da homogeneização de 10 g do sedimento em 35 mL de uma solução de NaCl a 2%. As misturas de cada amostra foram colocadas em um agitador orbital (QUIMIS, modelo 225.11) por 24 h, com velocidade de 150 a 180 rpm, e posteriormente submetidas a um repouso de 1 h. Logo depois, o sobrenadante foi retirado por centrifugação e separado para análise. Após o preparo do elutriato da amostra foram verificados e ajustados o pH (entre 6 e 8.5), o OD (> 5 mg.L<sup>-1</sup>) e a salinidade (entre 20 e 35%). Este procedimento foi realizado à temperatura de 15 ± 1°C, no equipamento Microtox<sup>®</sup>.

A cultura-estoque, com a bactéria liofilizada, foi retirada do freezer e reconstituída, com a adição de 1 mL da solução de reconstituição (AZF686016 Ambriex), homogeneizada e preparada a suspensão bacteriana. Foram distribuídas alíquotas de 100 μL da suspensão bacteriana nas cubetas e executada a primeira leitura no luminômetro (MODELO, Microtox). Após a leitura de todas as cubetas, e registro das intensidades de luminescência, foram adicionadas alíquotas de cada amostra (900 μL) nas cubetas previamente determinadas e, depois de 30 min de exposição, foi efetuada a segunda leitura de luminescência. O efeito inibitório foi calculado através do software estatístico MicrotoxOmni, versão 4.1. O controle negativo (branco) foi efetuado utilizando o NaCl 2% e no controle positivo foram utilizados três compostos de referência (sulfato de zinco heptahidratado, fenol e dicromato de potássio). Estes compostos de referência produzem um decréscimo da emissão de luz da bactéria de forma padronizada, com intuito de garantir a sensibilidade dos organismos.

Os valores de CE<sub>50</sub> (que representa a concentração do composto para qual 50% do efeito é observado) foram determinados em medições da luminescência das bactérias em 0 e 30 min de exposição, sendo os dados de luminescência comparados entre as amostras e o controle negativo.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

# 3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

#### 3.1.1 Coluna d'água

As características físico-químicas da água de um dado corpo hídrico influenciam diretamente no comportamento ambiental dos contaminantes. No âmbito do presente estudo, merece destaque a dinâmica de associação dos mesmos ao sedimento, influenciando assim suas ligações químicas e biodisponibilidade.

Como resultados obtidos pela utilização da sonda multiparâmetro (Horiba-U50), foram observados valores de salinidade variando de 2.0 a 3.4 ‰, com média de 2.5 ‰. Cabe pontuar que, além dos pontos de coleta estarem localizados próximos às fozes dos principais corpos hídricos contribuintes às lagoas, ambas as campanhas amostrais foram realizadas no período da vazante, o que justifica a predominância de valores de salinidade de águas salobras.

Os dados de temperatura seguiram um padrão que condiz com a estação do ano de cada campanha (29.6 °C no verão e 23.6 °C no inverno). Sobre o pH, a Resolução Conama 357/2005

estabelece que para águas salobras de classe 1, os valores devem estar entre 6.5 e 8.5 (Brasil, 2005). Entretanto, em ambas as campanhas observou-se que a maioria dos pontos excedeu este limite, chegando a valores superiores a 9, na campanha de janeiro. Esta alteração do pH para níveis mais alcalinos pode estar associada a uma intensificação do processo de eutrofização do corpo hídrico, diretamente influenciado pela fotossíntese, que acarreta na diminuição das concentrações de dióxido de carbono na água (Wetzel, 2001). Além disso, a variação do pH da água pode modificar a carga superficial de colóides, e com isso influenciar no grau de adsorção de vários compostos, inclusive de metais pesados, nos sedimentos (Naidu et al., 1994).

Com relação ao oxigênio dissolvido, a Resolução Conama 357/2005 estabelece que para águas salobras de classe 1, os valores de OD não devem ser inferiores a 5 mg.L<sup>-1</sup> (Brasil, 2005). Entretanto, na lagoa de Piratininga, em ambas as campanhas, foram observados valores abaixo deste limite. Na amostragem realizada em janeiro foram medidos valores extremamente baixos (ponto 7 = 1.96 mg.L<sup>-1</sup> e ponto 8 = 1.17 mg.L<sup>-1</sup>) nas fozes dos rios Jacaré e Arrozal, respectivamente. Já na campanha de agosto o ponto 6 (também na porção nordeste da lagoa de Piratininga) apresentou 2.93 mg.L<sup>-1</sup> de OD. Estes baixos valores de OD são reflexo de elevadas cargas de esgotos sem tratamento nesta lagoa, o que faz com que seja lançada uma alta carga orgânica, aumentando por sua vez, a demanda de OD para sua biodegradação.

#### 3.1.2 Sedimentos superficiais

Com relação aos sedimentos, é de conhecimento que o tamanho do grão e o conteúdo de matéria orgânica são importantes fatores que influenciam as concentrações de contaminantes, devido principalmente à adsorção na superfície de suas partículas e atração iônica (Horowitz & Elrick, 1987). Por exemplo, para metais, as concentrações tendem a aumentar à medida que o tamanho das partículas diminui (Ramos e Silva et al., 2017; Baptista-Neto, 2016; Bian & Zhu, 2009). Além disso, a presença de matéria orgânica pode afetar a especiação química de íons metálicos e controlar a biodisponibilidade do metal e/ou sua toxicidade (Wasserman et al., 2000). As características granulométricas dos sedimentos, assim como COT, NKT e PT, são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Características físico-químicas dos sedimentos superficiais coletados no sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Pontos	Argila (%)	Silte (%)	Areia (%)	COT (%)	NKT (mg.kg <sup>-1</sup> )	PT (mg.kg <sup>-1</sup> )
1	6	16	78	4.1	996.1	253.4
2	4	15	82	5.0	623.3	438.3
3	9	16	75	5.7	1,530.4	447.6
4	22	22	56	5.2	2,115.0	693.4
5	9	22	69	4.1	1,905.2	630.4
6	8	23	69	6.0	2,829.3	465.3
7	15	24	61	3.8	1,417.9	266.4
8	17	24	59	4.8	1,461.0	315.1
9	2	13	86	7.1	1,998.4	326.2
10	6	16	78	6.0	3,248.5	632.4

Os resultados apresentaram significativa heterogeneidade na granulometria das amostras, a relação entre as frações de lama (argila + silte) e areia variou de 14 / 86% a 44 / 56%. Cabe pontuar que, por mais que haja uma prevalência da fração de areia, estas apresentam preponderantemente granulometrias classificadas muito fina a fina (67% em média). É ainda interessante observar que aqueles pontos com maiores frações de lama (argila + silte) estão situados próximos às fozes daqueles corpos hídricos de maior caudal (e consequente maiores aportes de sedimento e matéria orgânica), nomeadamente nos rios João Mendes (4), Jacaré (7) e Arrozal (8).

As concentrações observadas para os parâmetros COT, NKT e PT estão dentro das faixas já anteriormente verificadas em outros estudos no próprio sistema lagunar Itaipu-Piratininga e em sistemas lagunares próximos da região (FEEMA, 1988; Esteves et al., 1984).

Com relação às características físico-químicas dos testemunhos coletados na lagoa de Piratininga, observou uma variação granulométrica em função da profundidade, quanto mais profundo menor a porcentagem de lama (argila + silte) (Tabela 3).

Tabela 3. Características físico-químicas dos testemunhos T1 e T2, lagoa de Piratininga.

Profundidade (m)	Argila + Silte (%)		Areia (%)		COT (%)		NKT (mg.kg <sup>-1</sup> )		PT (mg.kg <sup>-1</sup> )	
Florundidade (iii)	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
0 - 0.2	71	68	29	32	3.8	2.8	2380.9	1396.8	210.0	143.0
0.4 - 0.5	/1	08			0.9	2.2	908.8	1049.3	32.9	64.0
0.6 - 0.7	52	20	40	62	1.2	2.0	1720.6	615.1	29.3	35.1
0.9 - 1.0	32	38	48	62	0.4	3.1	453.2	367.5	12.8	47.0
1.1 - 1.2	36	35	64	65	0.3	0.8	298.6	743.7	27.9	45.3
1.5 - 1.6	33	14	67	86	1.0	0.7	618.4	556.6	26.6	26.5

Para ambos os testemunhos (T1 e T2) os maiores valores de COT, NKT e PT foram observados nas camadas mais superficiais. Contudo, assim como para as amostras de sedimentos superficiais, os valores encontrados estão dentro das faixas verificadas em outros estudos em sistemas lagunares da região (FEEMA, 1988; Machado, 1989).

#### 3.2 CONTAMINANTES NOS SEDIMENTOS SUPERFICIAIS

Os métodos analíticos aplicados neste estudo foram validados e comprovaram adequação para quantificar os compostos de interesse. As concentrações de Hg, pesticidas organoclorados, PCBs e HPAs ficaram abaixo do limite de detecção (LD) para todo o sistema lagunar, tanto para as amostras de sedimentos superficiais quanto para os testemunhos. Os LD para tais substâncias foram: 7.9 μg.kg<sup>-1</sup> (Hg); 0.11 μg.kg<sup>-1</sup> (pesticidas organoclorados); 0.33 μg.kg<sup>-1</sup> (PCBs); e 0.6 μg.kg<sup>-1</sup> (HPAs). Apenas os metais pesados As, Cd, Pb, Cu, Cr, Ni e Zn foram detectados pelo metodologia adotada, e os LD para estes metais foram de 1.0; 0.3; 1.1; 16.3; 0.6; 7.9 e 0.6 μg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Neste estudo, o método adotado para detecção de metais pesados (método 3050B da U.S. EPA) analisa os metais que estão biodisponíveis no sedimento, ou seja, a fração tóxica. As concentrações dos metais pesados nos sedimentos superficiais estão apresentadas nas primeiras linhas da Tabela 4.

Tabela 4. Concentração de metais (mg.kg<sup>-1</sup>) nos sedimentos superficiais do sistema lagunar Itaipu-Piratininga (mínima - máxima) (média ± desvio padrão), em comparação com valores da literatura.

Localização	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Ni	Zn	Referência
Lagoa de Piratininga	1.0 - 4.1	nd - 0.2	15.5 - 33.6	13.7 - 89.6	6.7 - 17.9	2.6 - 56.5	68.4 - 481.5	Neste estudo
Lagoa de Filatillinga	$2.1\pm0.9$	$0.12 \pm 0.07$	$26.0 \pm 5.1$	$41.0\pm28.4$	$9.5 \pm 3.4$	$11.6\pm16.3$	$178.6 \pm 140.4$	Neste estudo
Lagon do Itainu	2.2 - 5.0	nd - 0.3	13.0 - 38.6	18.8 - 67.9	9.4 - 21.1	5.7 - 14.9	63.7 - 283.9	Neste estudo
Lagoa de Itaipu	$3.4 \pm 1$	$0.15 \pm 0.09$	$21.0 \pm 7.5$	$46.0 \pm 17.3$	$15.3 \pm 4.2$	$9.2 \pm 2.8$	$161.6 \pm 77.5$	Neste estudo
Lagoa de Piratininga	-	-	47	11	-	-	28	Knoppers et al. (1989)
Lagoa de Itaipu	-	-	24	19	-	-	44	Knoppers et al. (1989)
Rio João Mendes	-	-	24.2	40	151.7	-	77.5	Lavenère-Wanderley (1999)
	6.7 - 8.7	1.1 - 3.7	52.3 - 264.7	69.3 - 280.4	50.5 - 170.4	-	209.8 - 681.9	Silveira et al. (2017)
	-	0.48 - 1.8	14.6 - 107	-	24.6 - 157	1.1 - 15.9	89 - 456	Abreu et al. (2016)
	-	-	$14.9 \pm 0.5$	-	-	$8.3\pm1.2$	$70.2 \pm 3.9$	Monteiro et al. (2012)
Baía de Guanabara	-	nd	2.0 - 19.3	-	-	1.0 - 35.2	5.0 - 755.2	Baptista-Neto et al. (2006)
	-	1.3	160.8	98.6	42.4	-	483	Kehrig et al. (2003)
	-	-	24.4	9	40.5	27	58.4	Baptista Neto et al. (2000)*
		0.02 - 2.6	3.6 - 110	-	3.5 - 480	nd	78 - 707	Rebello et al. (1986)
Lagoa Rodrigo de Freitas	-	-	127.5	32.8	44.9	66.1	305.7	Fonseca et al. (2011)
Oceano Atlântico	-	1.2	46.7	34	81	-	150	Silveira et al. (2017)
Folhelho Padrão	13	0.3	20	45	90	68	95	Turekian e Wedepohl (1961)*

Estudos de referência para concentrações basais: Baptista-Neto et al. (2000), que amostrou testemunho de até 260 cm (equivalente a aprox. 3000 anos) na enseada de Jurujuba, para Pb, Cu, Cr, Ni e Zn; e Turekian e Wedepohl (1961), folhelho padrão, para As e Cd. nd – não detectado

Os valores médios observados no presente estudo foram comparados com outros trabalhos realizados neste sistema lagunar e nas proximidades (Tabela 4). Na comparação com o trabalho de Knoppers et al. (1989), que analisaram Pb, Cu e Zn no mesmo sistema lagunar, observou-se que as concentrações de Pb em ambas as lagoas foram menores do que as medidas pelo estudo de 1989, enquanto Cu e Zn no presente estudo apresentaram valores maiores que aqueles desta referência. Com relação ao trabalho de Silveira et al. (2017), que analisaram os mesmos metais que o presente estudo (com exceção do Ni) na Baía de Guanabara, o presente estudo observou valores bem menores que aqueles verificados nos sedimentos da Baía de Guanabara.

Ao comparar as médias das concentrações registradas no presente estudo com os valores de referência encontrados por Baptista-Neto et al. (2000) e Turekian e Wedepohl (1961), observou-se que Cu e Zn apresentaram valores significativamente acima daqueles adotados como naturais. Os valores obtidos pelo I<sub>geo</sub> corroboraram esta constatação.

As concentrações observadas também foram comparadas com os limites TEL (*threshold effects level*) e PEL (*probable effects level*), como mostra a Figura 2.

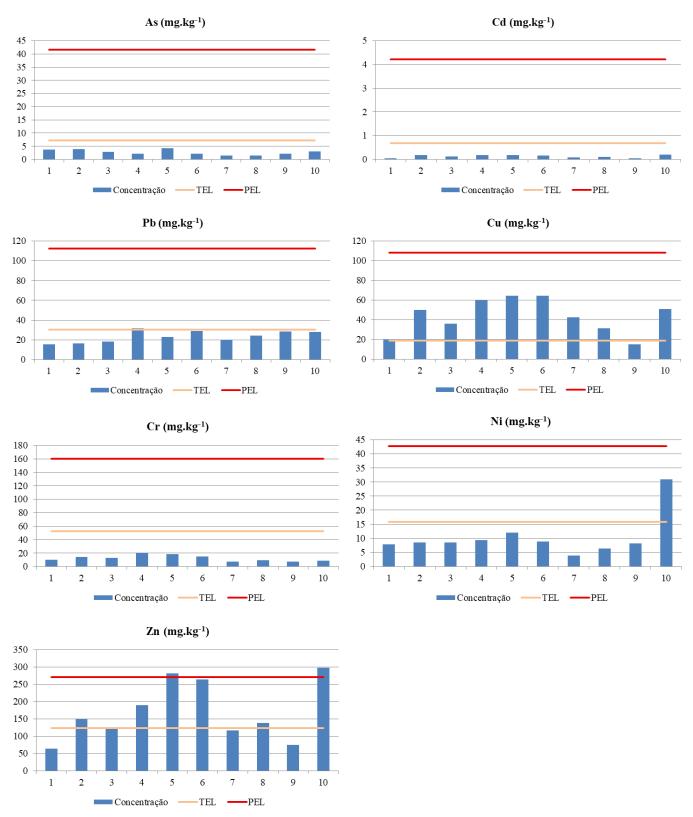


Figura 2. Concentrações dos metais nos sedimentos superficiais, comparadas com o limiar de efeitos (TEL) e o nível de prováveis efeitos (PEL).

Estes limites foram preconizados nas diretrizes canadenses de qualidade de sedimentos para a proteção da vida aquática. Em resumo, TEL e PEL são valores-limite, baseados em estudos ecotoxicológicos para uma série de organismos aquáticos. Estes limites, relativos aos sedimentos, têm como objetivo proteger o ecossistema bentônico e a qualidade das águas superficiais, prevendo a toxicidade de contaminantes, dentre estes os metais (Burton & Johnston, 2010; Burton, 2013; Kwok et al., 2014). O limite TEL é o nível de concentração até o qual se estima estaticamente seguro a exposição continuada a uma dada substância, enquanto que o PEL é o limite a partir do qual é provável que alguns dos organismos expostos sofram efeitos ecotoxicológicos.

Ao considerar tais valores de referência, chamam a atenção as concentrações de Zn, que excederam o limite PEL em pontos de ambas as lagoas (5 e 10), e ainda se aproximou bastante do referido limite no ponto 6. Logo, é provável que este contaminante (Zn) já esteja causando efeitos adversos à biota aquática. Abaixo de PEL, porém acima de TEL, o que já não garante a integridade dos organismos ali presentes, estão os metais Cu (todos os pontos com exceção do ponto 9), Zn (pontos 2, 4, 6 e 8), Pb (ponto 4) e Ni (ponto 10). Para os metais As, Cd e Cr as concentrações registradas ficaram abaixo de TEL, o que corresponde a níveis estatisticamente seguros à biota.

Além de avaliar as concentrações de determinados metais pesados neste sistema lagunar e compará-las aos limites estabelecidos pela norma canadense, é interessante também que se tenha a compreensão do quanto tais concentrações são maiores que os níveis basais das referidas substâncias naquele ambiente. Para tal utiliza-se o I<sub>geo</sub>, que fornece esta comparação, conforme é apresentado na Figura 3.

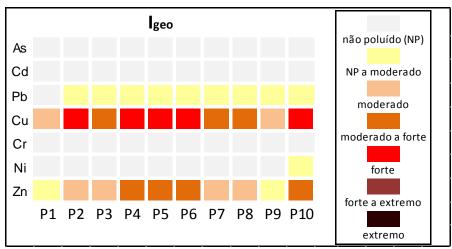


Figura 3. Índice de geoacumulação de metais pesados nos sedimentos superficiais no sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

O I<sub>geo</sub> para As, Cd e Cr em todos os pontos de amostragem foi menor que 0 (valores negativos), ou seja, não foram encontradas concentrações dos metais em níveis maiores que aqueles considerados de referência para este ambiente. Os valores observados para Ni seguiram este mesmo padrão, com exceção do ponto 10, que registrou I<sub>geo</sub> de não poluído a moderadamente poluído. Ainda em posição intermediária, o Pb registrou I<sub>geo</sub> equivalentes a não poluído a moderadamente poluído, para nove dos pontos amostrais. Já com relação a Cu e Zn, observou-se um padrão que excedeu as concentrações de referência em todos os pontos amostrados. Cabe ressaltar que tal desvio dos níveis considerados basais foi maior para os pontos 4, 5, 6 e 10, que para Cu alcançaram níveis de fortemente poluídos, e para Zn de moderadamente a fortemente poluídos.

Para avaliar de forma integrada a extensão da contaminação por todos estes metais e fornecer uma medida do grau de contaminação geral dos pontos do sistema lagunar Itaipu-Piratininga, o índice de carga de poluição (PLI) foi aplicado, como mostra a Figura 4.

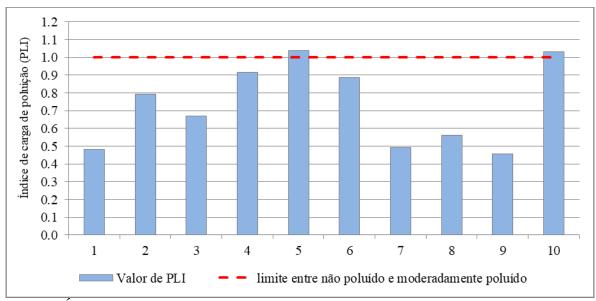


Figura 4. Índice de carga de poluição para sedimentos superficiais no sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Os valores de PLI indicaram que o sedimento dos pontos 5 e 10 possuem níveis >1 para o conjunto de metais, 1.039 e 1.032, respectivamente. O ponto 5 está localizado próximo ao canal do Camboatá na lagoa de Itaipu e o ponto 10 está localizado na lagoa de Piratininga, próximo ao córrego da Viração. Segundo a classificação de Suresh et al. (2011), esses pontos foram classificados como não poluído a moderadamente poluído pelos metais estudados.

Observou-se que os maiores valores de fator de contaminação que contribuíram para que o PLI excedesse seu limite foram, principalmente, aos valores de Cu e Zn para o ponto 5 (64.3 e 281.8 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente) e Ni e Zn para o ponto 10 (30.9 e 298.3 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente), como mostra a Figura 2. Já para os outros pontos de amostragem os valores de PLI foram < 1, indicando que o estado de poluição das lagoas pelos metais estudados está dentro do nível de referência.

Levando em consideração que a área de estudo não possui a economia ligada a indústria e/ou agricultura, as possíveis fontes antrópicas que podem contribuir para contaminação por Cu e Zn, e em menor escala Pb, no sistema lagunar segundo a literatura, são: efluentes domésticos; descarte incorretos de materiais contendo esses metais, como baterias; queima de combustíveis fósseis e lixo; deposição de cinzas provenientes de incêndios; dentre outros (Bjerregaard et al., 2015; Sisinno & Oliveira-Filho, 2013).

Com relação aos efeitos ecotoxicológicos aquáticos, o Pb e outros metais não essenciais possuem, na maioria das vezes, efeitos tóxicos ligados à respiração (Mager, 2011; UE, 2009; Sisinno & Oliveira-Filho, 2013). Enquanto que o Cu e Zn são considerados elementos essenciais para muitos organismos aquáticos, e acabam sendo regulados por mecanismos internos, onde são absorvidos e eliminados através dos canais de sódio, potássio ou cálcio das membranas celulares (UE, 2009). Entretanto, a quantidade em excesso de metais essenciais pode resultar em efeitos adversos, por sobrecarregar os mecanismos homeostáticos de um organismo. Além disso, a quantidade determinada de um metal essencial para um organismo varia entre a espécie, estágio de vida e sexo (U.S. EPA, 2017).

Um estudo de revisão realizado por Cardwell et al. (2013) para avaliar a biomagnificação e bioacumulação de metais em ecossistemas aquáticos, concluiu que os metais Pb, Cu e Zn geralmente não biomagnificam em cadeias tróficas. Contudo, estes contaminantes podem se biacumular em cadeias alimentares específicas incluindo bivalves; gastrópodes herbívoros; cracas; e, gastrópodes carnívoros (Cardwell et al., 2013).

No intuito de avaliar a correlação entre as diferentes variáveis, utilizadas pelo presente estudo para caracterizar os sedimentos do sistema lagunar, apresenta-se na Tabela 5 a correlação obtida pelo método de Spearman. Adotou-se o referido método por o mesmo ser mais aderente ao conjunto e comportamento dos parâmetros aqui considerados, uma vez que este ranqueia tais variáveis e as correlaciona de maneira não necessariamente linear. Em negrito são grifadas aquelas correlações consideradas fortes (|rs| > 0.5). Cabe pontuar que estes resultados se mostraram estatisticamente significativos, já que os mesmos estiveram dentro dos limites bilaterais de 0.05 e 0.01, a depender das variáveis em análise.

\_

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Metais essenciais são elementos necessários aos organismos vivos, desde bactérias até mesmo o ser humano, mas eles são requeridos em baixas concentrações, pois podem danificar os sistemas biológicos.

Tabela 5. Correlação de Spearman para as variáveis em análise.

	As	Cd	Pb	Cu	Cr	Ni	Zn	NTK	PT	COT	Argila	Silte	Areia
As	1												
Cd	0.293	1											
Pb	-0.259	0.231	1										
Cu	-0.068	0.469	0.056	1									
Cr	0.466	0.506	0.083	0.556	1								
Ni	0.180	-0.133	0.194	0.445	0.314	1							
Zn	-0.011	0.579	0.341	0.850	0.592	0.498	1						
NTK	-0.017	0.593	0.597	0.173	0.134	-0.078	0.251	1					
P	0.006	0.023	0.427	0.480	0.380	0.808	0.648	0.051	1				
COT	-0.065	-0.205	0.513	0.060	0.033	0.644	0.272	-0.005	0.698	1			
Argila	-0.459	0.136	0.108	0.462	0.293	0.015	0.444	-0.032	0.203	-0.047	1		
Silte	-0.329	0.108	0.170	0.435	0.311	-0.044	0.400	0.144	0.189	-0.206	0.732	1	
Areia	0.409	-0.139	-0.205	-0.445	-0.358	-0.005	-0.460	-0.089	-0.227	0.054	-0.920	-0.895	1

É possível observar uma relação granulométrica, em que a fração de areia apresentou correlações negativas com todos os demais parâmetros, a exceção do Arsênio e do COT. Isto quer dizer que, via de regra, há uma maior associação entre os compostos de interesse e as frações de sedimento mais fino, que por sua vez apresentam maior capacidade de sorção dos mesmos.

Sobre a correlação entre as substâncias analisadas, a maioria destas apresentaram correlações positivas com as demais, a exceção do Arsênio, que apresentou correlação negativa com cinco dos nove demais compostos (sem considerar o parâmetro granulometria). Chama atenção o alto valor de correlação entre Cu e Zn (0.850), e ainda entre PT e Ni (0.808) e entre PT e COT (0.698). Neste último caso, o aporte/presença de PT e COT, de maneira correlata, pode ser configurar como um importante gatilho para processos de eutrofização.

#### 3.3 TOXICIDADE

Como resultado de toxicidade nas amostras de sedimento das lagoas, para a primeira coleta (janeiro), apenas um dos dez pontos analisados apresentou significativo decréscimo de 100% da bioluminescência da bactéria, após 30 min de exposição (Tabela 6). Este ponto (4) se localiza bem próximo ao principal afluente da lagoa de Itaipu (rio João Mendes), e mostrou-se intensamente tóxico inibindo completamente a luminescência da bactéria. Já na segunda coleta (agosto), os pontos 5 e 6 apresentaram valores de efeito inibitório inferiores a 5%, sendo desta forma classificados como não tóxicos ao organismo-teste em questão.

Tabela 6. Toxicidade aguda da bactéria *A. fischeri* nas amostras de sedimento superficial do sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

D	Toxicidade						
Pontos	1ª coleta	2ª coleta					
1	Hormesis	Hormesis					
2	Hormesis	Hormesis					
3	Hormesis	Hormesis					
4	Intensamente tóxico	Hormesis					
5	Hormesis	Não tóxico					
6	Hormesis	Não tóxico					
7	Hormesis	Hormesis					
8	Hormesis	Hormesis					
9	Hormesis	Hormesis					
10	Hormesis	Hormesis					

Para os demais pontos, após 30 min de exposição da bactéria ao elutriato, foi observado um efeito inverso, de estímulo à emissão da bioluminescência. Esta resposta, conhecida como hormesis, não é considerada necessariamente como um indicativo de ausência de ecotoxicidade, uma vez que pode ser causada pela exposição a vários compostos, gerando um tipo de estresse tóxico. Tal efeito de excitação dos microrganismos se dá em função de uma resposta biológica adaptativa, no sentido de enfrentar a adversidade e evitar a morte dos indivíduos (Calabrese, 2008; Stebbing, 2000). Este tipo efeito é observado em espécies de diferentes táxons, desde bactérias a mamíferos, e em vários níveis da cadeia trófica (Stebbing, 1982).

Embora existam estudos na literatura que comprovem a toxicidade de metais em *A. fischeri* (Rosado et al., 2016; Na et al., 2012), não foi possível correlacionar diretamente a toxicidade com os resultados obtidos das concentrações dos metais. Entretanto, cabe observar que o ponto 4, que apresentou alta toxicidade, figura entre aqueles que apresentaram maiores concentrações de metais, e excedeu o limite PEL para o contaminante Pb. Contudo deve-se considerar a complexidade de uma matriz ambiental, uma vez que esta apresenta muitos outros contaminantes, não contemplados neste estudo, que estão em interação através de efeitos sinérgicos, aditivos e inibitórios (Sisinno & Oliveira-Filho, 2013).

A impossibilidade de calcular o valor de CE<sub>50</sub>, decorrente de estar se tratando de um conjunto de contaminantes e ter sido observado o efeito *hormesis* para a maioria dos pontos amostrais, não indica que tais amostras não são tóxicas. Para tal compreensão, seria necessária uma maior investigação, demandando ensaios de toxicidade crônica ou ainda com outros

organismos-testes, uma vez que cada espécie bioindicadora apresenta diferentes sensibilidades aos poluentes.

## 3.4 CONCENTRAÇÕES DE METAIS PESADOS NOS TESTEMUNHOS

Ao se tratar das amostras obtidas por meio dos dois testemunhos coletados na lagoa de Piratininga, não se observou uma tendência conjunta na distribuição dos metais em função da profundidade, com exceção do As com o Cd e do Pb com o Cu que apresentaram um comportamento ligeiramente similar (Figura 5).

No geral, observou-se que as maiores concentrações foram medidas nas camadas superficiais, o que pode ser considerado como possível reflexo de um aumento da ação antrópica mais recente. É possível estabelecer uma maior associação dos metais com a fração mais fina dos sedimentos, ou seja, à medida que a granulometria apresenta diferentes características as concentrações dos metais também mudam, conforme comentado ao final do tópico 3.2. O testemunho T1 apresentou-se mais concentrado em metais com relação ao testemunho T2, isto pode ser explicado pelo fato do T1 estar mais próximo à foz dos principais corpos hídricos afluentes. Entretanto, todas as concentrações registradas, de ambos os testemunhos, estão abaixo do limite TEL das diretrizes canadenses de qualidade de sedimentos para a proteção da vida aquática.

Ao comparar as concentrações dos metais nas camadas mais superficiais dos dois testemunhos com as médias encontradas dos sedimentos superficiais coletados na lagoa de Piratininga, observou-se que as concentrações de Cu, Ni e Zn dos testemunhos apresentaram valores inferiores, da ordem de 50% ou mais. Já para os demais metais não foram observadas grandes diferenças percentuais. Cabe observar que em praticamente todos os casos, os valores de concentração em T1 se aproximaram mais dos valores observados nas amostras de sedimentos superficiais, próximos às fozes dos rios contribuintes a esta lagoa.

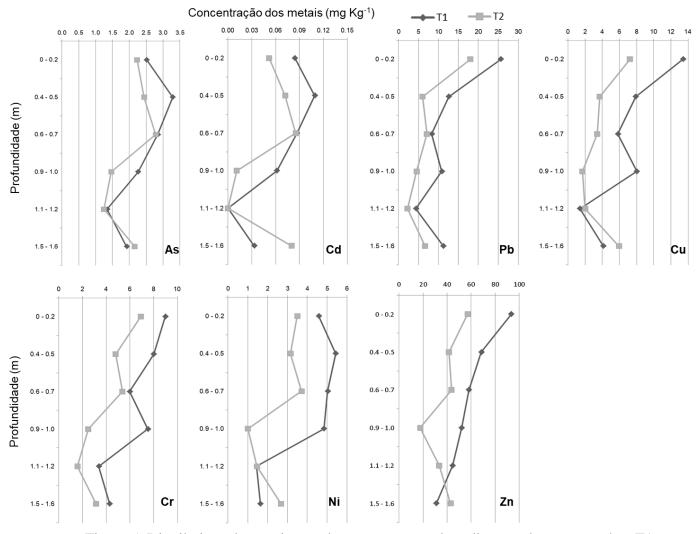


Figura 5. Distribuição de metais pesados nas amostras de sedimento dos testemunhos T1 e T2, na lagoa de Piratininga.

Resende (1995) determinou que a razão de sedimentação nos últimos 100 anos para a lagoa de Piratininga, calculada através de datação por 210Pb, foi de 0.13 cm/ano, até 1995. Entretanto, é difícil garantir que este padrão de estratificação dos sedimentos guarde fielmente um registro histórico organizado de forma clara em suas camadas, uma vez que esta lagoa já sofreu algumas intervenções de engenharia, com entrada de máquinas e revolvimento do fundo, principalmente por procedimentos de dragagem de algumas partes desta lagoa.

# 4. CONCLUSÃO

Com uma clara pressão antrópica, o sistema lagunar Itaipu-Piratininga merece atenção no que diz respeito à qualidade de suas águas e sedimentos. Estas lagoas são elementos naturais que,

por meio de seus corpos hídricos afluentes, recebem as cargas geradas na bacia e refletem as condições de uso e ocupação de uma importante região de crescimento e adensamento populacional do município de Niterói, Região Metropolitana do Rio de Janeiro.

Dos 39 contaminantes estudados, merecem atenção alguns metais pesados que foram detectados. Dentre estes, cobre (Cu) e zinco (Zn) foram aqueles que apresentaram concentrações em níveis acima dos valores de referências para esta região e sistemas adjacentes. Após utilizar o  $I_{\rm geo}$ , foram observadas as maiores diferenças com o níveis basais para Cu>Zn>Pb>Ni.

Ao comparar os resultados deste estudo com os limites TEL e PEL, da norma canadense, Zn chama novamente a atenção por exceder o limite PEL. Menos alarmante, mas já em níveis que demandam acompanhamento mais criterioso, Cu, Pb e Ni apresentaram alguns pontos de concentração superior ao nível de segurança TEL.

Para uma análise integrada da contaminação por ponto amostral, considerando todos estes metais, foi adotado o PLI, que mostrou que o sedimento dos pontos 5 e 10 podem ser classificados como de não poluído a moderadamente poluído.

O bioensaio Microtox apresentou alteração de comportamento para praticamente todas as amostras, entretanto o efeito mais observado foi aquele conhecido como *hormesis*, que indica uma resposta da cultura às amostras, mas esta reação não é facilmente mensurável, uma vez que causa indução da bioluminescência, ao invés da esperada redução da mesma. Este efeito de redução foi significativo (intensamente tóxico) apenas para o ponta 4, na campanha de janeiro.

Pelas características de relativa estabilidade dos sedimentos, não foram observadas variações significativas entre as campanhas de verão e inverno. Sobre os pontos de mais criticidade, considerando todos os parâmetros analisados no presente estudo, observa-se que as fozes dos principais rios afluentes são aqueles pontos de maior concentração de contaminantes, principalmente o rio João Mendes (ponto 4) e a entrada e saída do Canal de Camboatá, em ambas as lagoas (pontos 5 e 6).

Para o testemunho, observou-se que as maiores concentrações de metais pesados foram nas camadas mais superficiais quando comparadas com a camada mais profunda, e no ponto T1 que se localiza mais próximo a foz dos principais afluente da lagoa de Piratininga.

Em face da importância do controle de contaminantes, dentre os quais se encontram os metais pesados detectados neste estudo, cabe ressaltar a necessidade de avançar nesta área de interesse. Neste sentido, além de estudos que subsidiem o melhor conhecimento dos ambientes em questão, é fundamental ainda que haja o fortalecimento e a aplicação de políticas públicas mais restritas, que visem diminuir o aporte destes compostos em sistemas lagunares.

## 5. REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15411-3. Ecotoxicologia aquática — Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente). 2006.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6457: Amostras de Solo. Preparação para ensaios de compactação e ensaios de caracterização. 1986.

Abreu, I.M., Cordeiro, R.C., Soares-Gomes, A., Abessa, D.M.S., Maranho, L.A., Santelli, R.E. Ecological risk evaluation of sediment metals in a tropical Euthrophic Bay, Guanabara Bay, Southeast Atlantic. *Mar Pollut Bull*. 2016, 109(1):435–445.

Águas de Niterói. Grupo Águas do Brasil. Estação de Tratamento de Esgoto. Disponível em: <a href="https://www.grupoaguasdobrasil.com.br/aguas-niteroi/agua-e-esgoto/estacao-tratamento-esgoto/">https://www.grupoaguasdobrasil.com.br/aguas-niteroi/agua-e-esgoto/estacao-tratamento-esgoto/</a>. Acessado em: 19/09/2018.

Alagarsamy, R. Distribution and seasonal variation of trace metals in surface sediments of the Mandovi estuary, west coast of India. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 2006, 67(1-2):333–339.

An, J., Jeong, S., Moon, H.S., Jho, E.H., Nam, K. Prediction of Cd and Pb toxicity to Vibrio fischeri using biotic ligand-based models in soil. *J Hazard Mater*. 2012, 15(203-204):69-76.

APHA - American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition, American Water Works Association and Water Environmental Federation, Washington DC, 1998.

Ayyamperumal, T., Jonathan, M.P., Srinivasalu, S., Armstrong-Altrin, J.S., Ram-Mohan, V. Assessment of acid leachable trace metals in sediment cores from River Uppanar, Cuddalore, Southeast coast of India. *Environ Pollut*. 2006, 143(1), 34-45.

Baptista-Neto, J.A. Rangel, C.M.A., Fonseca, E.M., Nascimento, M.T.L., Santos, A.D.O., Rodrigues, B.C.B., Melo, G.V. Concentrations and physicochemical speciation of heavy metals in urban runoff sediment from São Gonçalo - Rio de Janeiro/Brazil. *Environ Earth Sci.* 2016, 75:1209.

Baptista-Neto, J.A., Gingele, F.X., Leipe, T., Brehme, I. Spatial distribution of heavy metals in surficial sediments from Guanabara Bay: Rio de Janeiro, Brazil. *Environ Geol.* 2006, 49(7):1051–1063.

Baptista-Neto, J.A., Smith, B.J., McAllister, J.J. Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, Southeast Brazil. *Environ Pollut*. 2000, 109(1):1-9.

Bian, B., Zhu, W. Particle size distribution and pollutants in road-deposited sediments in different areas of Zhenjiang, *China Environ Geochem Health*. 2009, 31(4):511–520.

Bjerregaard, P., Andersen, C.B.J., Andersen, O. Ecotoxicology of Metals-Sources, Transport, and Effects on the Ecosystem. *Handbook on the Toxicology of Metals*. 2015, 1:425-459.

Bláha, L., Hilscherová, K., Cáp, T., Klánová, J., Machát, J., Zeman, J., Holoubek, I. Kinetic bacterial bioluminescence assay for contact sediment toxicity testing: relationships with the matrix composition and contamination. *Environ. Toxicol. Chem.* 2010, 29(3):507–514.

Blasco, C., Picó, Y. Prospects for combining chemical and biological methods for integrated environmental assessment. *Trends Anal Chem.* 2009, 28(6):745–57.

Boonyatumanond, R., Wattayakorn, G., Togo, A., Takada, H. Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine, and marine sediments in Thailand. *Mar. Pollut. Bull.* 2006, 52(8):942–956.

Brasil. Conama - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicado no DOU. Ministério do Meio Ambiente, 2005.

Brasil. Conama - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 454, de 01 de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. Publicado no DOU. Ministério do Meio Ambiente, 2012.

Burton, G.A. Assessing sediment toxicity: Past, present, and future. *Environ Toxicol Chem.* 2013, 32(7):1438–1440.

Burton, G.A., Johnston, E.L. Assessing contaminated sediments in the context of multiple stressors. *Environ Toxicol Chem.* 2010, 29(12):2625–2643.

Calabrese, E.J. Hormesis and mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008, 229:262–263. Cardwell, R.D., Deforest, D.K., Brix, K.V., Adams, W.J. Do Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn biomagnify in aquatic ecosystems? *Rev Environ Contam Toxicol*. 2013, 226:101-22.

Chapman, P.M. Determining when contamination is pollution – Weight of evidence determinations for sediments and effluents. *Environ. Int.* 2007, 33(4):492–501.

Chau, K.W. Persistent organic pollution characterization of sediments in Pearl River estuary. *Chemosphere*. 2006, 64(9):1545–1549.

Chen, C.W., Kao, C.M., Chen, C.F., Dong, C.D. Distribution and accumulation of heavy metals in the sediments of Kaohsiung Harbor, Taiwan. *Chemosphere*. 2007, 66(8):1431–1440.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de análise de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2ª Ed. Rio de Janeiro, 1997.

Esteves F.A, Ishii, I.H. e Camargo, A.F.M. Pesquisas Limnológicas em 14 lagoas do Rio de Janeiro. In: Lacerda, L.D., Araújo, D.S., Cerqueira, R. & Turca, B. Restingas: origem, estrutura, processos. CEUFF, Niterói, 1984.

FEEMA – Fundação Estadual do Meio Ambiente. Relatório de Avaliação das Condições Físico-Químicas do Sistema Lagunar de Piratininga-Itaipu, DEP / DIAG, 08 p. Rio de Janeiro. 1988.

Fonseca, E.M., Baptista-Neto, J.A., Fernandez, M.A., McAlister, J., Smith, B. Geochemical behavior of heavy metals in differents environments in Rodrigo de Freitas lagoon - RJ/Brazil. An. Acad. Bras. Cienc. 2011, 83(2):457–469.

Fonseca, E.M., Baptista-Neto, J.A., Pereira, M.P., Silva, C.G., Arantes, J.D. Study of pollutant distribution in the Guaxindiba Estuarine System-SE, Brazil. *Mar Pollut Bull*. 2014, 82(1-2):45-54.

Fontenelle, T.H., Corrêa, W.B. Urbanização efetiva e densidade de domicílios na região oceânica de Niterói (RJ) entre 1976 e 2010. *Revista Caminhos de Geografia*. 2013, 14(45):172–182.

Ganugapenta, S., Nadimikeri, J., Chinnapolla, S.R.R.B., Ballari, L., Madiga, R., K, N., Tella, L.P. Assessment of heavy metal pollution from the sediment of Tupilipalem Coast, southeast coast of India. *Int J Sediment Res.* 2018, 33(3):294–302.

Gobler, C.J., Lonsdale, D.J., Boyer, G.L. A Review of the Causes, Effects, and Potential Management of Harmful Brown Tide Blooms Caused by *Aureococcus anophagefferens* (Hargraves et Sieburth). *Estuaries*. 2005, 28(5):726–749.

Hilscherová, K., Dusek, L., Sídlová, T., Jálová, V., Cupr, P., Giesy, J.P., et al. Seasonally and regionally determined indication potential of bioassays incontaminated river sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 2010, 29(3):522–534.

Horowitz, A.J., Elrick, K.A. The relation of stream sediment surface area, grain size and composition to trace element chemistry. *App Geochem*. 1987, 2(4):437-451. Joutti, A.E., Schultz, P., Pessala, T., Nystén, P. Hellstén, Ecotoxicity of alternative deicers, *J Soil and Sediments*. 2003, 3(4):269-272.

Kaeding, A.J., Ast, J.C., Pearce, M.M., Urbanczyk, H., Kimura, S., Endo, H., Nakamura, M., Dunlap, P.V. Phylogenetic Diversity and Cosymbiosis in the Bioluminescent Symbioses of "*Photobacterium mandapamensis*". *Appl Environ Microbiol.* 2007, 73(10):3173–3182.

Kahru, A. In vitro toxicity testing using marine luminescent bacteria (*Photobacterium phosphoreum*): the Biotox test. *ATLA*. 1993, 2:210-2.

Kehrig, H.A., Pinto, F.N., Moreira, I., Malm, O. Heavy metals and methylmercury in a tropical coastal estuary and a mangrove in Brazil. Org Geochem. 2003, 34:661–669.

Kennish, M.J., Paerl, H.W. Coastal lagoons: critical habitats of environmental change, Marine science series. Taylor & Francis, Boca Raton. 2010.

Knoppers, B.A., Barroso, L.V., Ramalho, N.M., Duarte, C.A., Carneiro, M.E.R., Silva, L.F.F., Kjerfve, B., Kirstein, K.O. Diagnóstico ambiental do Sistema Lagunar de Piratininga e Itaipu, Niterói, RJ. Boletim da Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza, RJ. Vol. 24. 1989.

Kwok, K.W.H., Batley, G.E., Wenning, R.J., Zhu, L., Vangheluwe, M., Lee, S. Sediment quality guidelines: challenges and opportunities for improving sediment management. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2014, 21(1):17–27.

Lavenère-Wanderley, A.A.O. Caracterização ambiental da Lagoa de Itaipu através do entendimento dos processos sedimentares em associação com a dinâmica atual. Dissertação de Mestrado, Curso de Geologia e Geofísica Marinha da Universidade Federal Fluminense, 141p. 1999.

Li, S., Anderson, T.A., Maul, J.D., Shrestha, B., Green, M.J., Canas-Carrell, J.E. Comparative studies of multi-walled carbon nanotubes (MWNTs) and octadecyl (C18) as sorbents in passive sampling devices for biomimetic uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from soils. *Sci. Total Environ.* 2013, 461-462:560-7.

Mach, J.S.O., Longo, O.C. Considerações sobre a gestão ambiental – impacto da construção civil: um estudo de caso do sistema lagunar Piratininga-Itaipu. 1998. <a href="http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep1998\_art209.pdf">http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep1998\_art209.pdf</a>. Acessado em 25 set 2018.

Mager, E.M. Homeostasis and Toxicology of Non-Essential Metals. Cap. 4: Lead. Fish Physiology. 2011. 31:185-236

Monteiro, F.F., Cordeiro, R.C., Santelli, R.E., Machado, W., Evangelista, H., Villar, L.S., Viana, L.C.A., Bidone. E.D. Sedimentary geochemical record of historical anthropogenic activities affecting Guanabara Bay (Brazil). *Environ Earth Sci.* 2012, 65(6):1661–1669.

Muller, G. Index of geoaccumulation in sedimentof the Rhine River. *Geol. J.* 1969, 2(3):109-192.

Naidu, R., Bolan, N.S., Kookana, R.S., Tiller, K.G. Ionic-strength and pH effects on the sorption of cadmium and the surface charge of soils. *Eur J Soil Sci.* 1994, 45(4):419-429.

Parvez, S., Venkataraman, C., Mukherji, S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. *Environ. Int.* 2006, 32(2):265-268.

Perrichon, P., LeBihanic, F., Bustamante, P., LeMenach, K., Budzinski, H., Cachot, J., Cousin, X. Influence of sediment composition on PAH toxicity using zebrafish (*Danio rerio*) and Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryo-larval assays. *Environ. Sci. Pollut.* 2014, 21(24):13703-13719.

PMN - Prefeitura Municipal de Niterói. EIA/RIMA. Estudo de Impactos Ambientais das obras de implantação e construção do corredor viário Charitas — Piratininga (BRT Transoceânica). Agrar, 2014.

PMN – Prefeitura Municipal de Niterói. Projeto Niterói que Queremos Diagnóstico Sócioeconômico de Niterói: Síntese Executiva. 2013. Disponível em: http://www.niteroiquequeremos.com.br/static/files/etapa3.pdf. Acessado em 13/09/2018.

Ramos e Silva, C. A., Fonseca E. M., Grotto, B. W., Souza, F. E. S., Baptista Neto, J. A. Potentially mobile of heavy metals on the surface sediments in tropical hyper-saline and positive estuaries. An Acad Bras Cienc. 2017, 89(4):2597-2607.

Ravichandran, R., Manickam, S. Heavy metal disrtibution in the coastal sediment of Chennai coast. *IIOAB Journal*. 2012, 3(2):12-18.

Rebello, A., Haekel, W., Moreira, I., Santelli, R., Schroeder, F. The fate of heavy metals in an estuarine tropical system. *Mar. Chem.* 1986, 18:215-225.

Rosado, D., Usero, J., Morillo, J. Assessment of heavy metals bioavailability and toxicity toward Vibrio fischeri in sediment of the Huelva estuary. *Chemosphere*. 2016, 153:10-7.

Sheik, C.S., Mitchell, T.W., Rizvi, F.Z., Rehman, Y., Faisal, M., Hasnain, S., McInerney, M.J., Krumholz, L.R. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure. *PLoSONE*. 2012,7(6):e40059.

Silveira, A.E.F., Nascimento, J.R., Sabadini-Santos, E., Bidone, E.D. Screening-level risk assessment applied to dredging of polluted sediments from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Mar Pollut Bull*. 2017, 118(1-2):368–375.

Sisinno, C.L.S., Oliveira-Filho, E.C. Princípios de toxicologia ambiental. 1ª Ed. Editora Interciência:Rio de Janeiro. 2013. 216p.

Stebbing, A.R.D. Hormesis: interpreting the  $\beta$ - curve using control theory. *J. Appl. Toxicol.* 2000, 20, 93–101.

Stebbing, A.R.D. Hormesis--the stimulation of growth by low levels of inhibitors. *Sci Total Environ*. 1982, 22(3):213-34.

- Suresh, G., Ramasamy, V., Meenakshisundaram, V., Venkatachalapathy, R., Ponnusamy, V. Influence of mineralogical and heavy metal composition on natural radionuclide concentrations in the river sediments. *Appl Radiat Isot*. 2011,69(10):1466-74.
- Tomlinson, D.L., Wilson, J.G., Harris, C.R., Jeffrey, D.W. Problems in the assessment of heavymetal levels in estuaries and the formation of a pollution index. *Helgol Mar Res.* 1980, 33:566-575.
- Turekian, K.K., Wedepohl, K.H. Distribution of the elements in some major units of the earth's crust. Geol. Soc. *Am. Bull.* 1961, 72:175–192.
- U.S. EPA United States Environmental Protection Agency. 3050b, Acid digestion of sediments, sludges, and soils. Revision 2. Washington, DC. 1996.
- U.S. EPA United States Environmental Protection Agency. Method 200.8: Determination of Trace Elements in Waters and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, Revision 5.4. Cincinnati, OH, 1994.
- U.S. EPA United States Environmental Protection Agency. Framework for Metals Risk Assessment. Office of the Science Advisor. Risk Assessment Forum. Washington, DC. 2007.
- U.S. EPA United States Environmental Protection Agency. Method 8270E (SW-846): Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry (GC/MS), Washington, DC. 2014.
- UE União Europeia. Chemicals and the water framework directive: Technical guidance for deriving Environmental Quality Standards (EQS). 249p. 2009.
- Valdés, J., Vargas, G., Sifeddine, A., Ortlieb, L., Guiñez, M. Distribution and enrichment evaluation of heavy metals in Mejillones Bay, Northern Chile: geochemical and statistical approach. *Mar. Pollut. Bull.* 2005,50(12):1558–1568.
- Vethaak, A.D., Hamers, T., Martínez-Gómez, C., Kamstra, J.H., de Weert, J., Leonards, P.E.G., Smedes, F. Toxicity profiling of marine surface sediments: A case study using rapid screening bioassays of exhaustive total extracts, elutriates and passive sampler extracts. *Mar Environ Res*. 2017, 124:81–91.
- Ward, D.J., Simpson, S.L., Jolley, D.F. Slow avoidance response to contaminated sediments elicits sublethal toxicity to benthic invertebrates. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47(11):947–5953.
- Wasserman, J.C., Freitas-Pinto, A.A.P., Amouroux, D. Mercury Concentrations in Sediment Profiles of a Degraded Tropical Coastal Environment. *Environ Technol.* 2000, 21:297–305.
- Wetzel, R. G. Limnology. San Diego: Academic Press, 2001. 1006 p.

Zhang, L., Ye, X., Feng, H., Jing, Y., Ouyang, T., Yu, X., Liang, R., Gao, C., Chen, W. Heavy metal contamination in western Xiamen Bay sediments and its vicinity, China. *Mar. Pollut. Bull.* 2007, 54(7):974–982.

# OCORRÊNCIA E ATIVIDADE ESTROGÊNICA DE CONTAMINANTES EMERGENTES NA ÁGUA E SEDIMENTOS DE DUAS LAGOAS COSTEIRAS SUDESTE DO BRASIL

(ARTIGO 3)

# Ocorrência e análise de atividade estrogênica de contaminantes emergentes na água e sedimentos de duas lagoas costeiras do Sudeste do Brasil

Danieli Lima da Cunha<sup>1</sup>; Samuel Muylaert<sup>2</sup>; Marilia Teresa Lima do Nascimento<sup>1</sup>; Louise da Cruz Felix<sup>3</sup>; Giselle Gomes<sup>3</sup>; Daniele Maia Bila<sup>3</sup>; Estefan Monteiro da Fonseca<sup>1</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Departamento de Geologia, Instituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ, Brasil.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Instituto Estadual do Ambiente, Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

#### **RESUMO**

Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas têm gerado cada vez mais preocupação na comunidade científica, uma vez que são observados potenciais efeitos adversos à biota aquática. O sistema lagunar Itaipu-Piratininga, nas últimas décadas vem sofrendo uma série de impactos ambientais, dentre os quais destacam-se a poluição hídrica e mudanças na dinâmica hidráulica e ecossistêmica. Neste contexto, o presente estudo buscou analisar a ocorrência de fármacos e desreguladores endócrinos (DEs) na água (fase dissolvida + fase particulada) e nos sedimentos superficiais, sinalizando seus potenciais efeitos. Assim, as concentrações dos contaminantes foram determinadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM), enquanto que a atividade estrogênica foi avaliada pelo Ensaio Yes. Uma abordagem macro sobre a qualidade das águas do sistema lagunar mostra que este, em especial a lagoa de Piratininga, apresenta uma condição eutrófica. No que diz respeito à ocorrência de contaminantes, dentre os 12 compostos analisados, os fármacos genfibrozila, acetaminofeno e diclofenaco ficaram abaixo do limite de detecção. Foram observadas maiores concentrações e frequências de ocorrência na campanha de agosto, o que se justifica pela menor capacidade de diluição e degradação destas substâncias durante o inverno. Dentre os compostos mais frequentes na água tem-se bisfenol A > 4-octilfenol > naproxeno > estradiol, já no sedimento tem-se bisfenol A > naproxeno > estradiol. Observou-se atividade estrogênica em pelo menos uma das três matrizes, em todos os pontos amostrais em ambas as campanhas. Os resultados deste estudo, associados à literatura, indicam prováveis efeitos adversos aos organismos aquáticos deste sistema lagunar.

PALAVRAS-CHAVE: contaminantes emergentes, fármacos, desreguladores endócrinos, atividade estrogênica, qualidade da água.

# 1. <u>INTRODUÇÃO</u>

Em virtude de seus potenciais efeitos adversos à biota, a ocorrência de contaminantes emergentes em diferentes compartimentos ambientais tem gerado cada vez mais preocupação na comunidade científica (Nilsen et al., 2018; Gavrilescu et al., 2015; Geissen et al., 2015). Estes compostos, em sua grande maioria de origem antrópica, podem ser classificados em função dos seus efeitos, usos ou de suas características químicas e biológicas. Dentre estas substâncias, ditas contaminantes emergentes, dois grupos podem ser citados como de particular interesse aos estudos relacionados à qualidade da água e a seus efeitos sobre os organismos que a habitam, são eles os desreguladores endócrinos (DEs) e os fármacos (Richardson & Ternes, 2011).

Os DEs são produtos químicos capazes de interferir na função do sistema endócrino de diferentes formas, e consequentemente provocar efeitos adversos sobre a saúde humana e de outros animais (UNEP & WHO, 2013; Bila & Dezotti et al., 2007). Suas características mais alarmantes são as propriedades estrogênicas, além dos seus efeitos que podem ser cumulativos e transmitidos para gerações posteriores (Liu et al., 2017; Kortenkamp, 2007). Segundo a IOMC (2012), cerca de 800 produtos químicos são conhecidos ou suspeitos de interferir na síntese de hormônios. Basicamente, estes compostos podem ser de origem sintética como os produtos de higiene pessoal, pesticidas, plastificantes, retardantes de chama e detergentes; ou de origem natural, como os estrogênios naturais e os fitoestrogênios (UNEP & WHO, 2013).

Com relação aos fármacos, estes ganham relevância ambiental uma vez que possuem atividades biológicas inerentes às funções as quais foram desenvolvidos para desempenhar. Adicionalmente, boa parte destes compostos farmacêuticos possui grande capacidade de dispersão em ambiente aquático, já que são compostos polares (Gilbert, 2012; Fent et al., 2006). Assim, uma vez no meio hídrico, os mesmos – com moléculas biologicamente ativas e, em diversos casos, baixa biodegradação – acabam por desencadear efeitos adversos aos organismos expostos (Ahkola et al., 2017; Lima et al., 2017). Cabe pontuar que determinados receptores de animais podem se assemelhar àqueles encontrados em seres humanos, aumentando desta forma as chances de efeitos cruzados (Fent, 2006).

Dentre os fármacos que chamam mais atenção por seus efeitos ambientais, encontram-se: os antibióticos, analgésicos, anti-inflamatórios, drogas psiquiátricas, reguladores de lipídios, β-bloqueadores e hormônios (García-Córcoles et al., 2018).

Embora estes contaminantes sejam encontrados normalmente em concentrações muito baixas, a exposição contínua a estas doses pode produzir efeitos significativos sobre as espécies, populações e/ou ecossistemas (Barceló & Petrovic, 2008). Concentração, duração da exposição e fase de desenvolvimento do organismo são variáveis importantes que devem ser levados em conta para avaliação de efeitos adversos gerados por um microcontaminante. Tais efeitos podem ser reversíveis ou irreversíveis, agudos ou crônicos (Nilsen et al., 2018; US EPA, 1997).

A introdução destes compostos no meio ambiente se dá, principalmente, pelas águas residuárias (industriais, domésticas e hospitalares), tratadas ou não (Wu et al., 2014; Jin et al., 2013). Deve-se também levar em consideração o descarte incorreto destes compostos, a disposição inadequada de lodos de esgotos, estrume de animais, chorume e lixiviado de aterros sanitários.

Os fármacos, por exemplo, são excretados na urina e fezes como compostos livres e/ou seus metabólitos. Em áreas urbanas, muitos dos DEs estão incorporados a produtos de consumo, seguindo usualmente a mesma rota de introdução ambiental que os fármacos (Lima et al., 2017; Esteban et al., 2014). E, devido às propriedades químicas destes compostos, e às estações de tratamento de esgotos (ETEs) não serem eficazes na remoção completa destes contaminantes, os mesmos são introduzidos no meio ambiente ainda que após processos de tratamento de efluentes (Brandt et al., 2013; Aquino et al., 2013). Neste contexto, o grau de contaminação dos corpos hídricos dependerá de vários fatores como: capacidade de diluição, existência ou não de outros pontos de contaminação e a capacidade de tratamento da ETE (Cunha et al., 2017).

Pesquisas relacionadas à ocorrência de compostos farmacêuticos e DEs em diferentes matrizes ambientais; às técnicas para detecção e quantificação; aos efeitos adversos em organismos vivos; e, à remoção destes compostos em ETEs, têm sido realizadas em vários países (Mo et al., 2019; Wu et al., 2017; Liu et al., 2017; Lopes et al., 2017). Alguns destes estudos também são voltados para os subprodutos ou metabólitos originados a partir da degradação química e/ou biológica dos compostos originais (Honda et al., 2018).

O Brasil vem seguindo no caminho de ampliação dos estudos sobre esta temática. Entretanto ainda se observam significativas lacunas no conhecimento acerca da presença e efeitos destes contaminantes nos ambientes nos quais são lançados (Montagner et al. 2017; Quadra et al., 2016). Especificamente sobre ambientes estuarinos, o reconhecimento de sua

função ecossistêmica e de que estes recebem significativo aporte de águas residuais, leva à constatação da necessidade de mais trabalhos sobre contaminantes emergentes nestes ambientes.

O presente estudo se insere neste contexto, visando gerar informações relativas à ocorrência de fármacos e DEs no sistema lagunar Itaipu-Piratininga, Sudeste do Brasil. São também avaliados seus potenciais efeitos à biota aquática, com especial atenção à atividade estrogênica.

#### 2. COMPOSTOS-ALVO

Doze contaminantes emergentes, dentre estes fármacos e DEs (genfibrozila, acetaminofeno, ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno, 4-octilfenol, 4-nonilfenol, bisfenol A, estrona, estradiol, estriol e etinilestradiol) foram analisados no sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Os fármacos genfibrozila, acetaminofeno, ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno e etinilestradiol são largamente consumidos no Brasil e podem ser adquiridos sem prescrição médica ou limitação de quantidade, pois são considerados medicamentos de venda livre. O composto farmacêutico genfibrozila é um agente regulador de lipídeos, que atua na redução da concentração plasmática de triglicerídeos e colesterol. O acetaminofeno, também conhecido como paracetamol, é um composto que apresenta atividade analgésica e antitérmica. Classificados como anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), o ibuprofeno, diclofenaco e naproxeno, compartilham dos mesmos usos terapêuticos: anti-inflamatório, analgésico e antitérmico (Rang & Dale, 2016). Já estrogênio sintético etinilestradiol é o principal princípio ativo de diferentes tipos de anticoncepcionais, além disso, é utilizado em medicamentos para tratamento de distúrbios ginecológicos (Cunha et al., 2016).

Com relação aos DEs em estudo, os alquilfenóis são surfactantes não iônicos usados principalmente em formulações de detergentes de uso industrial e doméstico, e têm como produtos da sua biodegradação metabólitos persistentes, como o 4-octilfenol e 4-nonilfenol (Luo et al., 2010). Amplamente utilizado em processos industriais, o bisfenol A é um monômero utilizado como matéria-prima na produção da maioria dos plásticos e como revestimento de enlatados, além disso, é utilizado em processos industriais na produção de policarbonato e resinas epóxi (Liu et al., 2019).

Dentre os estrogênios, os de origem natural (estrona, estradiol, estriol) fazem parte de um grupo de vários hormônios esteroides, produzidos principalmente nos ovários e nos testículos,

em humanos e outros vertebrados. Estes são responsáveis pelo desenvolvimento das características femininas, controlam os ciclos reprodutivos e geralmente também exercem influência sobre a formação óssea, elasticidade da pele, sistema cardiovascular e imunológico (Kuster et al., 2004). É importante frisar que tanto o naproxeno quanto o etinilestradiol, além de serem fármacos também são classificados como DEs.

A Tabela 1 apresenta de forma resumida a classificação e características físico-químicas dos compostos-alvo deste estudo.

Uma vez lançados em corpos hídricos, o destino dos microcontaminantes vai depender principalmente de suas propriedades físico-químicas e das características do ambiente. Geralmente estes têm sua concentração reduzida por mecanismos naturais, tais como hidrólise, volatilização, adsorção, absorção, oxidação, redução ou fotólise (Lima et al. 2017).

Dentre as propriedades físico-químicas de um dado microcontaminante, destacam-se a constante de dissociação (pKa), que determina o grau de dissociação de grupos ácidos do contaminante em meio aquoso, e o coeficiente de partição octanol/água (K<sub>ow</sub>), que mede a lipofilicidade ou hidrofobicidade do composto (Lima et al., 2017; Aquino et al., 2013).

Fármacos e DEs que apresentam log  $K_{ow}$  <2,5 são caracterizados por alta hidrofilicidade e baixa tendência de adsorção na biomassa e nas frações lipídicas dos sólidos suspensos, que é o caso do acetaminofeno e do estriol. Os compostos ibuprofeno, naproxeno, bisfenol, estrona e estradiol apresentam um log  $K_{ow}$  entre 2,5 e 4,0, portanto, espera-se uma tendência moderada de adsorção nessas matrizes. Por sua vez, a genfibrozila, o diclofenaco, os alquilfenóis, e o etinilestradiol são altamente hidrofóbicos, com log  $K_{ow}$  >4,0, assim, têm um grande potencial de serem encontrados sorvidos na fração sólida (Aquino et al., 2013; Carballa et al., 2008).

Fármacos com valores de pKa inferiores a 7, dentre os quais se enquadram a genfibrozila e os AINEs, são ácidos e ocorrem em águas naturais (pH neutro) na forma desprotonada, com carga líquida negativa, dificultando a adsorção destes contaminantes em argilas e outros materiais inorgânicos que também têm carga superficial negativa, o que contribui para sua maior mobilidade na matriz aquática. Por outro lado, contaminantes com elevados valores de pKa, estarão presentes em águas naturais na forma não iônica, o que facilita interações de ordem hidrofóbica (Aquino et al., 2013).

Tabela 1. Características físico-químicas dos contaminantes analisados neste estudo.

Compostos	Classificação	Sigla	CAS a	Formula Molecular	MM (g) b	pKa <sup>c</sup>	Log K <sub>ow</sub> d
Genfibrozila	Regulador lipídico	GEN	25812-30-0	CH <sub>3</sub> OH	250.333	4.5	4.77
Acetaminifeno	Analgésico e antipirético	ACT	103-90-2	H <sub>3</sub> C—NH—OH	151.163	9.38	0.46
Ibuprofeno		IBU	15687-27-1	H <sub>3</sub> C OH <sub>3</sub>	206.281	4.91 - 5.20	3.97
Diclofenaco	AINEs	DCF	15307-86-5		318.130	4.15	4.51
Naproxeno		NPX	22204-53-1	HO CH <sub>9</sub>	230.259	4.15	3.18
Etiniestradiol	Estrogênio sintético utilizado como anticoncepcional	EE2	57-63-6	но	296.403	10.4	4.12
4-octilfenol	Alquilfenóis	4-OF	1806-26-4	HO_CH <sub>3</sub>	206.324	10.38	5.5
4-nonilfenol	Alquillellois	4-NF	104-40-5	HOCH <sub>3</sub>	220.350	10.28	5.76
Bisfenol A	Plastificante	BFA	80-05-7	но—СН <sub>3</sub> —ОН	228.286	10.2	3.32
Estrona		E1	53-16-7	но	270.366	10.77	3.13
Estradiol	Estrogênios naturais	E2	50-28-1	но	272.382	10.2	4.01
Estriol		E3	50-27-1	ОНООН	288.387	10.33	2.45

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> CAS: Chemical Abstracts Service; <sup>b</sup> MM: massa molar; <sup>c</sup> pKa: constante de dissociação; <sup>d</sup> K<sub>ow</sub>: coeficiente de partição octanol/água.

Já no que diz respeito ao meio receptor no qual estes microcontaminantes se inserem, características como temperatura, pH, atividade microbiana e outras variáveis, também influenciam significativamente na solubilidade e comportamento ambiental desses compostos, interferindo em sua degradação/biodegradação e biodisponibilidade no meio natural (Bila & Dezotti, 2007; Fent, 2006).

## 3. ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM

O sistema lagunar Itaipu-Piratininga se localiza na Região Oceânica do município de Niterói, no Estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil, e está situado a leste da entrada Baía de Guanabara (Figura 1). Este sistema é formado por duas lagoas que lhe dão nome, e compreende as primeiras de mais de uma dezena de lagoas que se distribuem desde Niterói a Cabo Frio.

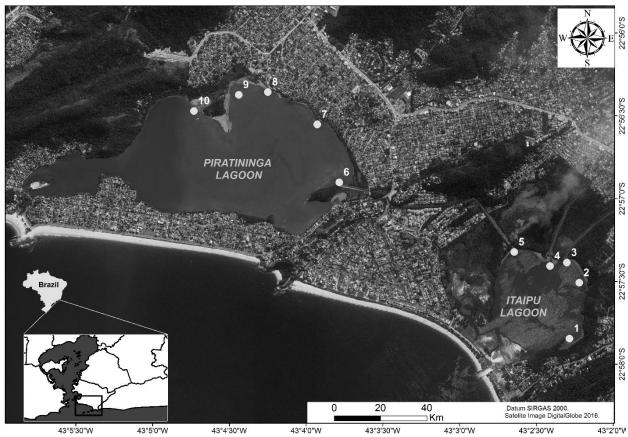


Figura 1. Mapa de localização do sistema lagunar Itaipu-Piratininga, com indicação dos pontos de amostragem.

A lagoa de Piratininga possui uma área de 2.9 Km², sua profundidade média é inferior a 0.6 m. Já a lagoa de Itaipu, um pouco menor, possui espelho d'água permanente de 1 Km² e uma área alagadiça de mais de 2 Km², sua profundidade média é inferior a 1 m. Estas lagoas encontram-se conectadas pelo canal de Camboatá, construído em 1946 para minimizar eventos de alagamento do entorno da lagoa de Piratininga. Hoje esta lagoa, que teve sua comunicação com o mar fechada, drena suas águas pelo canal de Camboatá até a lagoa de Itaipu, que por sua

vez tem conexão permanente com o Oceano Atlântico. Ambas são receptoras de um conjunto de rios e córregos da região (FEEMA, 1982).

Em virtude de um processo de urbanização sem planejamento e deficiente de infraestrutura básica de esgotamento sanitário e drenagem urbana, o sistema lagunar Itaipu-Piratininga vem sofrendo um intenso processo de degradação ambiental. É visível, por exemplo, o lançamento de esgotos *in natura*, e eventualmente de resíduos sólidos, diretamente no corpo lagunar ou em seus afluentes. Além disso, intervenções de engenharia realizadas nas últimas décadas, contribuíram para a alteração das dinâmicas hidráulicas e ecológicas de ambas as lagoas (PMN, 2014; Mach & Longo, 1998).

Com relação à amostragem, foram realizadas duas campanhas na área de estudo. A primeira em janeiro de 2017, no verão (período de chuvas); e a segunda em agosto do mesmo ano, no inverno (período de estiagem). Ambas as campanhas foram realizadas no período da maré vazante, de modo a caracterizar melhor a contribuição dos corpos hídricos afluentes e reduzir o efeito de diluição pela entrada da água do mar, principalmente na lagoa de Itaipu.

Para todo o sistema lagunar foram escolhidos dez pontos de coleta, sendo cinco para cada lagoa. Esses pontos foram selecionados por serem próximos a potenciais fontes de poluição, em sua maioria corpos d'água que deságuam nas lagoas (CLIP, 2015).

As amostras de água foram coletadas em um recipiente de aço inoxidável e transferidas para garrafas de vidro âmbar de 1 L. A cada ponto de coleta foi obtido 1 L para cada uma dessas análises: parâmetros físico-químicos, cromatografia gasosa e Ensaio Yes. Já os sedimentos foram coletados usando um amostrador *Van Veen* e uma espátula, ambos de aço inoxidável, e transferidos para garrafas de vidro âmbar de 200 mL. Em seguida, as amostras de água e sedimentos superficiais foram conservadas a 4 °C até a chegada ao laboratório e submetidas à extração em fase sólida (EFS) em até 48 h após a coleta.

De maneira complementar, foi também utilizada uma sonda multiparâmetro pré-calibrada (Horiba-U50) para analisar alguns parâmetros físico-químicos na coluna de água.

Todos os materiais e vidrarias utilizados na coleta, na preparação das amostras e na EFS foram criteriosamente descontaminados com uma solução de ácido nítrico a 10%, com o intuito de evitar interferências no resultado final das análises.

# 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. QUÍMICOS E REAGENTES

Os padrões utilizados (genfibrozila, acetaminofeno, ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno, 4-octilfenol, 4-nonilfenol, bisfenol A, estrona, estradiol, estriol e etinilestradiol) e o reagente de derivatização bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) com 1% do catalizador trimetilclorossilano (TMCS) foram obtidos pela Sigma Aldrich<sup>®</sup>. O padrão interno 4-nonilfenol deuterado foi obtido pela Isotopes<sup>®</sup>; o ácido clorídrico, biotina e galactopiranosídeo vermelhoβ-D-clorofenol (CPRG) pela Merck<sup>®</sup>; a piridina pela Dinâmica<sup>®</sup>; e, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) pela Fluka<sup>®</sup>. Todos os solventes utilizados foram de grau HPLC (*High Performance Liquid Chromatography Solutions*) da J.T. Backer<sup>®</sup> e a água purificada foi obtida a partir do Sistema Milli-Q Biocell (Millipore<sup>®</sup>).

Para realizar as análises e gerar curvas de calibração analítica no cromatógrafo foram preparadas soluções padrão em metanol, sendo a concentração da solução estoque de 1 g.L<sup>-1</sup>. O padrão interno foi preparado em solução de piridina, na concentração de 0.2 mg.L<sup>-1</sup>. Para o Ensaio YES, a solução padrão de estradiol foi feita em etanol, com a concentração da solução estoque de 54.48  $\mu$ g.L<sup>-1</sup>. Essas soluções foram armazenadas em garrafas com tampa de vidro a - 4 °C.

## 4.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

Para uma melhor visualização de todo o processo analítico, a Figura 2 apresenta de forma esquemática os diferentes procedimentos utilizados. Uma breve descrição de cada método é dada nas seções a seguir.

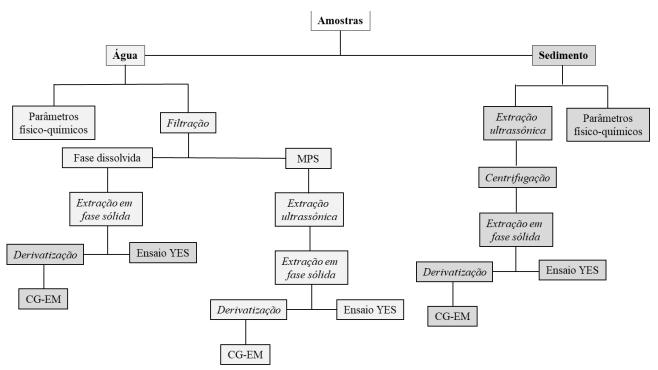


Figura 2. Procedimentos realizados para quantificação de contaminantes emergentes. MPS: material particulado suspenso. CG-EM: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa.

# 4.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

No laboratório, o pH das amostras de água foi ajustado para 2 com HCl 3 mol.L<sup>-1</sup>. Foram filtrados 500 mL das amostras em um sistema de filtração a vácuo, com filtros de fibra de vidro de 0.45 μm (Merck<sup>®</sup>), sendo estes reservados para análise de MPS. Em seguida, foram acrescentados 250 mg de EDTA nas amostras filtradas (fase dissolvida) e deixadas em repouso por 1 h.

Na análise do MPS (fase particulada), os filtros de fibra de vidro usados na filtração da água, foram colocados em um béquer, adicionados 10 mL de metanol e imersos em um banho ultrassônico (extração ultrassônica) por 5 min. A fase líquida foi transferida para um balão volumétrico de 200 mL. Esse procedimento foi realizado 3 vezes e os líquidos foram combinados no mesmo balão. Após isto, as amostras foram avolumadas com água ultrapura e adicionou-se 100 mg de EDTA, sendo deixadas em repouso por 1 h. Logo após, foram acidificadas com HCl (3 mol.L<sup>-1</sup>) até o pH 2.

Para os sedimentos, 10 g de amostra foram colocadas em um béquer, imersas em um banho ultrassônico com 10 mL de metanol por 5 min e, transferidas para um tubo para serem

centrifugadas (5 min/2500 rpm) (NT 812 - Nova técnica®). Assim como para o MPS, a fase líquida foi transferida para um balão volumétrico de 200 mL. A partir deste ponto seguiu-se exatamente o mesmo procedimento descrito para o MPS.

### 4.3.1 Caracterização Físico-Química

Para caracterização da qualidade das águas, as concentrações de nitrogênio amoniacal, carbono orgânico dissolvido (COD), fósforo total, nitrato e nitrito foram obtidos por meio da metodologia recomendada por APHA (2012). Já os parâmetros temperatura, pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido (OD), sólidos totais dissolvidos (STD) e salinidade foram obtidos por meio da utilização da sonda multiparâmetro (Horiba-U50) durante as amostragens.

Com relação aos sedimentos, os parâmetros físico-químicos analisados foram nitrogênio Kjedahl total (NKT) e o teor de fósforo total (PT) por meio das metodologias recomenda por APHA (2012); já para o carbono orgânico total (COT) e a granulometria seguiu-se o Manual Embrapa (1997) e a NBR 6457 (ABNT, 1986), respectivamente.

### 4.3.2 Extração em Fase Sólida (EFS)

Os cartuchos Oasis HLB de 500 mg / 6 mL (Waters®), utilizados para a CG-EM, foram pré-condicionados com 5 mL dos seguintes solventes: acetato de etila, metanol e água ultrapura, com uma vazão de 5 a 10 mL.min¹. Logo após, os volumes finais obtidos na preparação das amostras (500 mL para água, 200 mL para MPS e 200 mL para sedimentos) foram percoladas pelos cartuchos, com a mesma vazão, e submetidos a um *clean up*, pela passagem de 2 x 5 mL de água ultrapura com pH 2. Estes então, foram mantidos sob aspiração a vácuo por 30 min após a extração ter terminado. Os analitos de interesse retidos nos cartuchos foram eluídos com 3 x 3 mL de acetato de etila. Finalmente, os extratos foram evaporados sob uma corrente de N₂, reconstituídos com 500 µL de metanol, tampado e vortexado (2 min/30 rpm) para homogeneização.

Já para o Ensaio Yes além do cartucho Oasis HLB, também foi utilizado o cartucho Oasis SAX (Waters<sup>®</sup>) para remover interferentes. O pré-condicionamento do Oasis SAX foi feito com 10 mL de metanol, seguido de 10 mL de água ultrapura. Logo após, este cartucho foi acoplado na parte superior do cartucho Oasis HLB, já pré-condicionado da mesma maneira descrita anteriormente. As amostras (500 mL para água, 200 mL para MPS e 200 mL para sedimentos)

foram então percoladas por ambos os cartuchos (SAX seguido do cartucho HLB). Ao final, o cartucho SAX foi desacoplado e continuou o procedimento da EFS apenas com o cartucho Oasis HLB. Onde foi realizado o *clean up* dos cartuchos com 2 x 5 mL de água ultrapura com pH 2. Estes então, foram mantidos sob aspiração a vácuo por 30 min. Depois os analitos de interesse foram eluídos com 3 x 3 mL de acetato de etila. Os extratos foram evaporados sob uma corrente de N<sub>2</sub>, reconstituídos com 2 mL de etanol, tampados e colocados no vortex (2 min/30 rpm) para homogeneização.

A metodologia utilizada na EFS foi baseada segundo preconizado pela Waters<sup>®</sup>, fabricante dos cartuchos.

### 4.3.3 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG-EM)

A metodologia empregada para determinação de fármacos e DEs foi previamente validada de acordo com o guia proposto pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) (Thompson et al. 2002).

Os extratos reconstituídos na EFS foram fracionados em dois frascos. No primeiro frasco foram adicionados 100 μL do extrato. Já no segundo, para mensurar o efeito matriz, foi realizado um *spike*, ou seja, foi adicionado uma solução padrão contendo uma concentração determinada dos analitos de interesse. Para tal, o volume do extrato foi de 70 μL e da solução padrão a 100 ppb foi de 30 μL. Após a evaporação total dos solventes dos frascos sob fluxo de N<sub>2</sub>, foram adicionados 25 μl de piridina (contendo 0,2 mg.L<sup>-1</sup> do padrão interno) e 75 μl do reagente derivatizante (BSTFA + 1% TCMS). Em seguida, as amostras foram colocadas na estufa por 30 min a 80 °C e analisadas em até 12 h no CG-EM.

A adição de um agente derivatizante tem por finalidade alterar o peso molecular dos analitos de interesse, de modo a aumentar a estabilidade térmica e volatilidade dos mesmos, e assim melhorar a eficiência de separação dos picos cromatográficos (Samaras et al., 2011; Huang et al., 2011).

Utilizou-se o cromatógrafo a gás QP2010-plus (Shimadzu<sup>®</sup>) acoplado ao detector de espectrometria de massa, com coluna capilar ZB-5HT Inferno (30 m x 0.25 mm x 0.10 μm, Zebron<sup>®</sup>). A fase móvel foi gás hélio, operado em energia de ionização a 70 eV. A temperatura do injetor foi de 280 °C e o volume do injetor foi de 1 μL, em modo *splitless*. O programa de

temperatura do forno da coluna iniciou-se com 100 °C por 1 min, aumentando para 200 °C a 10 °C/min, depois para 260 °C a 15 °C/ min até chegar a 280 °C a 3 °C/min.

Os analitos de interesse presentes nos extratos das amostras foram identificados pelo tempo de retenção e confirmados por meio de comparação dos espectros de referência, obtidos na biblioteca do *National Institute of Standards and Technology* (NIST Mass Spectral Library<sup>®</sup>, versão 2.0 d). Para a quantificação dos analitos foram selecionadas as relações massa/carga (m/z) dos espectros obtidos, conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros do cromatógrafo a gás acoplado a espectrometria de massa.

Analitos	Sigla	Produto da de rivatização	Tempo de retenção (min)	Relação m/z para identificação	Relação m/z para quantificação	LD (ppb)	LQ (ppb)
Genfibrozila	GEN	GEN-TMS	11.411	194; 122	201	1.0	3.4
Acetaminofeno	ACT	ACT-diTMS	9.3770	280; 116; 295; 263	206	0.4	1.3
Ibuprofeno	IBU	IBU-TMS	9.2800	263; 234; 278	160	1.4	4.6
Diclofenaco	DCF	DCF-TMS	13.892	277; 242; 367	214	1.4	4.6
Naproxeno	NPX	NPX-TMS	12.547	285; 243; 302	185	1.8	5.9
Etinilestradiol	EE2	EE2-diTMS	16.380	300; 285	425	0.6	2.1
4-octilfenol	4-OP	4OP-TMS	10.618	180; 278	179	0.5	1.8
4-nonilfenol	4-NP	4NP-TMS	11.292	292; 277	179	0.7	2.5
Bisfenol A	BPA	BPA-diTMS	13.171	372; 207; 359	357	0.2	0.7
Estrona	E1	E1-TMS	15.667	257; 218; 244	342	0.2	0.5
Estradiol	E2	E2-diTMS	15.801	285; 326	416	0.7	2.4
Estriol	E3	E3-triTMS	16.830	311; 345	504	1.0	3.2
4-nonilfenol deuterado (PI)	4-NPd	4NPd-TMS	11.281	296; 281	183	-	-

LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação.

#### 4.3.4 Ensaio Yes

A determinação da atividade estrogênica dos extratos obtidos na EFS (água, MPS e sedimento) foi realizada por um ensaio conhecido como *Yeast Estrogen Screen* (YES), baseado na metodologia proposta por Routledge e Sumpter (1996), com modificações.

O ensaio *in vitro* YES utiliza a levedura *Saccharomyces cerevisiae* BJ1991 geneticamente modificada, que possui uma sequência de DNA de receptor de estrogênio humano (REh) no seu genoma. Na presença de algum composto estrogênico, esta levedura interage com o REh, causando a expressão do gene receptor Lac–Z, que por sua vez produz a enzima β-galactosidase. A atividade desta enzima produz uma resposta colorimétrica, através da metabolização do substrato cromogênico CPRG.

O ensaio foi realizado em microplacas de 96 poços e preparado em uma capela de fluxo laminar. Para os controles positivo (padrão) e negativo (branco) foram utilizadas soluções de estradiol e etanol, respectivamente.

A solução padrão de estradiol e os extratos das amostras foram diluídos em série em etanol. Alíquotas de 10 μL de cada solução diluída foram transferidas, em duplicata, para os poços da placa, que logo em seguida foi submetida à evaporação do solvente a temperatura ambiente. Na sequência, 200 μL do meio de análise (meio de crescimento, levedura e CPRG) foram adicionados aos poços. As microplacas foram seladas com fita adesiva e agitadas vigorosamente em um agitador de placas (IKA MS3<sup>®</sup>) e, posteriormente, mantidas durante 72 h a 30 °C numa incubadora (Nova Ética, 410<sup>®</sup>). Após o período de incubação, a absorbância foi lida a 575 nm (para cor) e a 620 nm (para turbidez), utilizando um leitor de placas SPECTRAMAX M3 (Molecular Devices<sup>®</sup>).

Os valores de absorbância lidos na placa do ensaio foram corrigidos de acordo com a Equação 1.

Abs corrigida = Abs 575 amostra - 
$$\left(\frac{Abs_{620 \ amostra}}{Abs_{620 \ branco}}\right)$$
 (1)

Tal correção faz-se necessária uma vez que em amostras ambientais pode ocorrer a citotoxicidade, onde os compostos presentes nas matrizes inibem o crescimento da levedura. Esta inibição é visualizada pela redução de turbidez nos poços. Conforme proposto por Frische et al. (2009), o controle de absorbância a 620 nm foi utilizado para quantificar a inibição do crescimento de leveduras devido à toxicidade das amostras, de acordo com a Equação 2.

Citotoxicidade = 
$$1 - \left(\frac{Abs_{620 \ amostra}}{Abs_{620 \ branco}}\right)$$
 (2)

Finalmente para interpretar os resultados obtidos foram construídas curvas dose-resposta para o padrão estradiol, sendo as mesmas ajustadas pelo software Origem 6.0 (Microsoft<sup>®</sup>). Foi calculado o CE<sub>50</sub>, que é 50% da maior resposta da  $\beta$ -galactosidase obtida no Ensaio YES, em relação à curva padrão. Então, o resultado final do ensaio, ou seja, a estrogenicidade das

amostras, foi mensurado em termos de equivalente estradiol (EQ-E2), obtido pela interpolação dos dados da curva do controle positivo.

Cabe pontuar que o principal motivo para adotar o estradiol como padrão, e não outros estrogênios como etinilestradiol ou estriol, é que o estradiol, quando comparado com estes estrogênios, apresenta valores intermediários de potência estrogênica. Assim o mesmo torna-se um bom padrão de atividade estrogênica, tanto em *in vitro* quanto *in vivo*, por conseguir expressar os efeitos de exposição a uma mistura de mais de um tipo de estrogênio (Kunz et al. 2014).

# 5. <u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>

## 5.1 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os resultados obtidos dos parâmetros físico-químicos estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos da água e sedimentos do sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Parâmetros	Itaipu						Piratininga					
físico-químicos	Janeiro				Agosto		Janeiro			Agosto		
nsico-quinneos	Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Média
Água												
Temperatura°C	28.5	29.8	29.1	23.4	25.3	24.4	29.2	31.1	30.0	22.3	23.7	23.0
pН	7.0	9.6	8.1	8.4	8.6	8.5	7.4	9.1	8.6	8.5	8.8	8.6
Condutividade µS.cm <sup>-1</sup>	45.0	51.1	48.2	37.9	43.5	39.9	32.4	51.6	46.9	38.4	41.4	40.0
Turbidez NTU	11.2	85.3	58.9	12.4	34.6	24.3	10.0	37.0	23.6	13.1	47.0	33.6
Salinidade ‰	2.9	3.4	3.1	2.4	2.8	2.5	2.0	3.4	3.0	2.4	2.6	2.6
Nitrogênio amoniacal mg.L <sup>-1</sup>	5.3	21.3	9.1	102.9	117.2	108.9	3.2	5.1	4.1	115.8	139.2	125.8
Fósforo total mg.L <sup>-1</sup>	0.04	0.22	0.10	0.04	0.6	0.20	0.04	0.44	0.12	0.04	0.34	0.13
Nitrito mg.L <sup>-1</sup>	0.001	0.017	0.010	0.082	0.139	0.104	0.002	0.004	0.003	0.042	0.157	0.123
Nitrato mg.L <sup>-1</sup>	0.480	0.780	0.666	0.105	0.830	0.282	0.730	0.780	0.748	0.018	0.023	0.020
COD mg.L <sup>-1</sup>	1.9	11.8	5.9	5.8	32.1	12.7	12.0	13.3	12.3	3.8	12.9	9.7
OD mg.L <sup>-1</sup>	6.9	8.6	8.0	5.4	7.8	6.5	1.2	6.8	3.9	2.9	5.5	4.5
STD g.L <sup>-1</sup>	24	31	28	23	27	24	18	31	28	23	25	24
Se dimento												
Argila %	4.0	16.0	8.7	3.3	28.4	11.0	1.1	15.7	10.3	1.9	20.5	8.7
Silte %	12.9	21.7	17.5	13.8	22.4	18.3	11.8	30.7	22.0	13.7	21.8	17.9
Areia %	62.4	81.1	73.8	50.2	82.8	70.6	57.0	87.1	<b>67.7</b>	59.1	84.5	73.3
NTK mg.Kg <sup>-1</sup>	373.3	1973.6	958.0	719.2	3299.9	1909.9	1354.1	2877.8	2025.5	1462.8	3942.5	2356.5
Fósforo total mg.Kg <sup>-1</sup>	326.4	972.4	690.6	180.5	414.4	294.7	335.2	758.8	534.6	192.3	506.1	267.5
COT %	4.7	7.1	6.0	3.0	4.3	3.7	3.5	9.6	6.8	2.7	6.2	4.2

Para água, os dados de temperatura seguiram um padrão que condiz com a estação do ano de cada campanha, ou seja, temperaturas maiores no verão e menores no inverno. As amostras apresentaram águas salobras, com salinidade média variando de 2.5 a 3.1‰. Este perfil de relativa baixa influência da cunha salina, se deve principalmente ao fato de os pontos de amostragem se localizarem próximos à foz dos rios que drenam para as lagoas. Ademais, ambas as campanhas foram realizadas no período da vazante.

A qualidade da água, no que tange aos parâmetros físico-químicos, foi comparada com valores estabelecidos pela Resolução Conama 357/2005. Esta resolução, em seu Artigo 42, aponta que, enquanto não for encaminhado e aprovado o enquadramento de um dado corpo hídrico de águas salobras, este terá como referência a classe 1, caso que se aplica ao sistema lagunar Itaipu-Piratininga (Brasil, 2005).

Portanto, considerando o disposto na referida resolução, o pH para águas salobras de classe 1, deve estar entre 6.5 e 8.5. Neste estudo, observou-se que o pH de ambas as lagoas excedeu este limite, chegando a valores superiores a 9, na campanha de janeiro. Com relação ao OD, os valores não devem ser inferiores a 5 mg.L<sup>-1</sup>. Entretanto, na lagoa de Piratininga, em ambas as campanhas, foram observados valores bem abaixo deste limite, com médias de 3.9 e 4.5 mg.L<sup>-1</sup>, para janeiro e agosto, respectivamente. Dentre os possíveis motivos que explicam estes baixos valores de OD estão a baixa renovação das suas águas (comparativamente à lagoa vizinha) e o aporte de esgotos sem tratamento (que impõem uma elevada demanda oxigênio para sua biodegradação).

Sobre a presença de nutrientes, observou-se que para os compostos nitrogenados (nitrito e nitrogênio amoniacal) houve um significativo aumento das concentrações no período seco (agosto) tanto na lagoa de Itaipu quanto na de Piratininga. Já o nitrato apresentou comportamento inverso, com maiores concentrações na campanha de janeiro, em ambas as lagoas. O fósforo não apresentou grandes variações de concentração nas diferentes campanhas.

Ao comparar os valores observados com a Resolução Conama 357/2005, o fósforo excedeu o limite de 0.124 mg.L<sup>-1</sup> em dois dos dez pontos na campanha de janeiro e em quatro pontos no mês de agosto (Brasil, 2005). Para os compostos nitrogenados a situação foi um pouco mais crítica, pois na campanha de janeiro todos os dez pontos amostrais excederam o limite de 0.40 mg.L<sup>-1</sup> para o nitrato, enquanto na campanha de agosto nove pontos ultrapassaram o limite de 0.07 mg.L<sup>-1</sup>, para o nitrito. Mais alarmantes ainda são os valores observados para o nitrogênio

amoniacal total, que excederam em muito o limite de 0.40 mg.L<sup>-1</sup>. Na campanha de janeiro foram observadas concentrações da ordem de 3 a 21 mg.L<sup>-1</sup>, já na segunda campanha todos os pontos apresentaram concentrações superiores a 100.0 mg.L<sup>-1</sup>.

O aumento da concentração de nutrientes é um importante gatilho para processos de eutrofização, fenômeno que produz e intensifica um desequilíbrio ecológico, acarretando, por exemplo, no aumento da toxicidade (por amônia e toxinas algais) e na diminuição na concentração de OD, que podem causar a mortalidade de peixes e de outras espécies da biota aquática (Von Sperling, 2012; Dezotti, 2008).

Segundo Mach & Longo (1998) de acordo com a morfologia; carga e composição da matéria que entra no meio; do tempo de residência das massas d'água; do efeito da maré; e, até da latitude, os sistemas lagunares podem responder de diversos modos ao processo de eutrofização. Após algumas intervenções de engenharia, as lagoas de Itaipu e Piratininga sofreram alterações ambientais e hidrológicas, como diminuição no nível dos espelhos d'água e aumento das taxas de renovação de suas águas. Somado a isso, o despejo de esgotos domésticos sem tratamento (com aporte de nutrientes e matéria orgânica), acaba acelerando este processo (Cerda et al. 2013).

Apesar da lagoa de Itaipu receber uma carga de esgoto superior a de Piratininga, suas águas renovam-se mais rapidamente, o que possibilita a diluição/dispersão dos efluentes. Assim, a lagoa de Piratininga acaba apresentando um pior quadro no que diz respeito ao seu estágio de eutrofização (Mach & Longo, 1998).

Com relação aos parâmetros físico-químicos dos sedimentos superficiais, os resultados apresentaram relativa heterogeneidade na granulometria das amostras entre as frações de lama (argila + silte) e areia. Observou-se que os pontos com maiores frações de lama estão situados próximos aos corpos hídricos de maior vazão (e consequente maior aporte de sedimento e matéria orgânica). Segundo Mach & Longo (1998), a lagoa de Piratininga, apresenta um padrão mais claro de diferenciação entre sedimentos, que tem como principal forçante a proximidade das fozes dos corpos hídricos afluentes. Já a lagoa de Itaipu, possui sedimentos pouco estabilizados, em consequência do efeito da diluição, decorrente da troca de água com o mar.

## 5.2 OCORRÊNCIA DE CONTAMINANTES EMERGENTES

Para caracterizar a ocorrência dos fármacos e DEs no sistema lagunar, a Tabela 4 resume as concentrações médias dos dez pontos amostrais distribuídos nas lagoas, na água (fase dissolvida + fase particulada) e no sedimento. Na sequência, também são apresentadas a frequência destes contaminantes em cada ponto amostrado (Figura 3) e a frequência de detecção de cada composto entre os dez pontos amostrais (Figura 4).

Tabela 4. Concentração média de fármacos e DEs na água e nos sedimentos superficiais no sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

		Água (	(ng.L <sup>-1</sup> )	-		Sedimento (ng.g <sup>-1</sup> )				
Compostos	Ita	ipu	Pirati	Piratininga		ipu	Piratininga			
	Janeiro	Agosto	Janeiro	Agosto	Janeiro	Agosto	Janeiro	Agosto		
Ibuprofeno	<ld< td=""><td>37.6</td><td><ld< td=""><td>27.6</td><td><ld< td=""><td>0.7</td><td><ld< td=""><td>2.3</td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	37.6	<ld< td=""><td>27.6</td><td><ld< td=""><td>0.7</td><td><ld< td=""><td>2.3</td></ld<></td></ld<></td></ld<>	27.6	<ld< td=""><td>0.7</td><td><ld< td=""><td>2.3</td></ld<></td></ld<>	0.7	<ld< td=""><td>2.3</td></ld<>	2.3		
Naproxeno	<ld< td=""><td>16.3</td><td><ld< td=""><td>22.5</td><td>0.5</td><td>0.7</td><td><ld< td=""><td>0.7</td></ld<></td></ld<></td></ld<>	16.3	<ld< td=""><td>22.5</td><td>0.5</td><td>0.7</td><td><ld< td=""><td>0.7</td></ld<></td></ld<>	22.5	0.5	0.7	<ld< td=""><td>0.7</td></ld<>	0.7		
Etinilestradiol	53.9	<ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td>0.2</td><td>0.4</td><td>0.2</td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td>0.2</td><td>0.4</td><td>0.2</td></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td><ld< td=""><td>0.2</td><td>0.4</td><td>0.2</td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td>0.2</td><td>0.4</td><td>0.2</td></ld<>	0.2	0.4	0.2		
4-octilfenol	<ld< td=""><td>17.3</td><td><ld< td=""><td>29.4</td><td><ld< td=""><td>0.3</td><td><ld< td=""><td>0.6</td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	17.3	<ld< td=""><td>29.4</td><td><ld< td=""><td>0.3</td><td><ld< td=""><td>0.6</td></ld<></td></ld<></td></ld<>	29.4	<ld< td=""><td>0.3</td><td><ld< td=""><td>0.6</td></ld<></td></ld<>	0.3	<ld< td=""><td>0.6</td></ld<>	0.6		
4-nonilfenol	5.2	6.8	<ld< td=""><td>16.2</td><td>0.5</td><td>0.2</td><td>0.6</td><td><ld< td=""></ld<></td></ld<>	16.2	0.5	0.2	0.6	<ld< td=""></ld<>		
Bisfenol A	<ld< td=""><td>368.4</td><td><ld< td=""><td>251.9</td><td><ld< td=""><td>4.1</td><td><ld< td=""><td>7.7</td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	368.4	<ld< td=""><td>251.9</td><td><ld< td=""><td>4.1</td><td><ld< td=""><td>7.7</td></ld<></td></ld<></td></ld<>	251.9	<ld< td=""><td>4.1</td><td><ld< td=""><td>7.7</td></ld<></td></ld<>	4.1	<ld< td=""><td>7.7</td></ld<>	7.7		
Estrona	<ld< td=""><td>12.0</td><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td>2.6</td><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	12.0	<ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td>2.6</td><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td><ld< td=""><td>2.6</td><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td>2.6</td><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<>	2.6	<ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<>	<ld< td=""></ld<>		
Estradiol	8.4	11.4	<ld< td=""><td>23.8</td><td>1.4</td><td>0.4</td><td><ld< td=""><td>0.4</td></ld<></td></ld<>	23.8	1.4	0.4	<ld< td=""><td>0.4</td></ld<>	0.4		
Estriol	<ld< td=""><td><ld< td=""><td>3.3</td><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td>3.3</td><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	3.3	<ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td><ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<></td></ld<>	<ld< td=""><td><ld< td=""></ld<></td></ld<>	<ld< td=""></ld<>		

<sup>&</sup>lt;LD: abaixo do limite de detecção.

Para todo o sistema lagunar, tanto para as amostras de água quanto para as de sedimentos, as concentrações dos fármacos genfibrozila, acetaminofeno e diclofenaco ficaram abaixo do limite de detecção (LD). No geral, as maiores concentrações dos compostos analisados foram observadas na água durante o mês de agosto. Dentre os contaminantes emergentes detectados foram observadas maiores concentrações para o bisfenol A, em ambas as matrizes.

A frequência apresentada na Figura 3 leva em consideração o número de compostos detectados (água e sedimento) em cada ponto amostrado, onde 100% equivaleria à detecção dos nove compostos em um mesmo ponto.

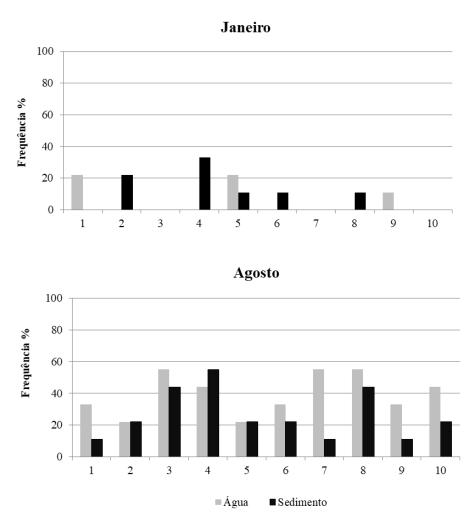


Figura 3. Frequência de detecção de fármacos e DEs na água e sedimentos superficiais nos dez pontos do sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Verificou-se que, para ambas as matrizes, as maiores frequências foram observadas na campanha de agosto. Neste período de seca, para a lagoa de Itaipu, os pontos 3 e 4 merecem destaque nas duas matrizes. O ponto 3 está localizado próximo ao rio da Vala e o ponto 4 próximo ao rio João Mendes, principais afluentes desta lagoa.

No caso de Piratininga, os pontos 7 e 8 apresentaram maiores frequências de detecção na matriz aquática. Assim como para a lagoa vizinha, na lagoa de Piratininga as maiores frequências foram observadas nos pontos amostrais próximos às fozes dos principais rios (ponto 7 - rio Jacaré e ponto 8 - rio Arrozal), com significativo aporte de águas residuais. Este segundo ponto apresentou também maior frequência de detecção de fármacos e DEs nos sedimentos.

Em uma análise por analito de interesse (contaminante), apresenta-se a frequência de cada composto detectado (água e sedimento), onde 100% equivale a detecção do mesmo nos dez pontos distribuídos nas lagoas (Figura 4).

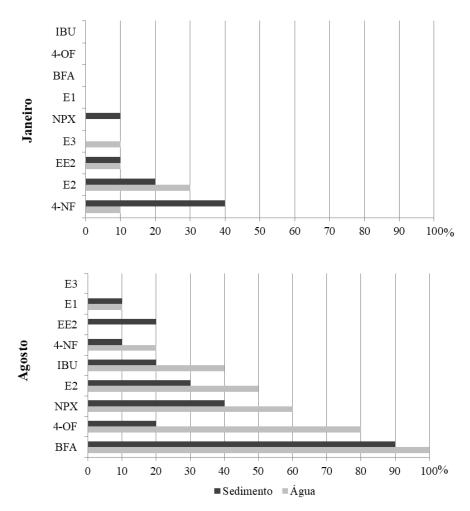


Figura 4. Frequência da detecção de fármacos e DEs dentre os pontos amostrais do sistema lagunar Itaipu-Piratininga.

Além da clara diferença de frequência entre as campanhas, observa-se que em janeiro não foram detectados os compostos ibuprofeno, 4-octifilfenol, bisfenol A e estrona. Entretanto, em agosto, apenas o estriol não foi detectado nestas matrizes. Nesta campanha, se destaca a frequência do bisfenol A, encontrado em todos os pontos na água e em 90% das amostras de sedimentos. Além do bisfenol A, foram detectados 4-octifenol, naproxeno e estradiol na água, na campanha de agosto, em pelo menos metade dos pontos. Nos sedimentos, além do bisfenol A,

merecem destaque naproxeno e estradiol, detectados nesta campanha em pelos menos três dos dez pontos.

Ao analisar os dados apresentados nas Figuras 3 e 4, evidenciou-se a influência de fatores sazonais sobre a concentração de microcontaminantes nas lagoas. O mês de agosto (período de estiagem) está associado a uma menor capacidade de diluição de efluentes, se comparado ao mês de janeiro (período chuvoso). Outro fator de grande relevância é a intensidade e duração da radiação solar, notadamente maior em janeiro (verão). Este fator torna-se relevante uma vez que os compostos são sensíveis à luz e às altas temperaturas, assim tais compostos acabam se degradando com maior rapidez, diminuindo suas respectivas meias-vidas (Jardim et al., 2012).

Ao comparar os resultados obtidos neste estudo com os dados publicados na literatura, a Tabela 5 resume os níveis de concentração em alguns estudos (publicados na última década) conduzidos em áreas similares àquelas abordadas pelo presente trabalho.

Tabela 5. Concentrações de fármacos e DEs encontrados em águas e sedimentos superficiais de ambientes estuarinos, publicados na literatura.

Matriz	País	Ibuprofe no	Naproxeno	Etinilestradiol	4-octilfe nol	4-nonilfenol	Bisfenol A	Estrona	Estradiol	Estriol
Água superficial (ng.L)	Brasil	< <b>LD - 37.61</b> <sup>a</sup> 326.1 - 2094.4 <sup>b</sup>	<ld -="" 22.50="" <sup="">a</ld>	<ld -="" 53.89="" a<="" th=""><th><b><ld -="" 29.36<="" b=""> a 20 - 134 c</ld></b></th><th><ld -="" 16.16="" <sup="">a</ld></th><th>&lt;<b>LD - 368.42</b> <sup>a</sup> <ld -="" 77="" <sup="">c</ld></th><th><ld -="" 11.98="" <sup="">a</ld></th><th><b><ld -="" 23.80<="" b=""> <sup>a</sup> <ld -="" 18="" <sup="">c</ld></ld></b></th><th>&lt;<b>LD - 3.30</b> a <ld -="" 38="" th="" °<=""></ld></th></ld>	<b><ld -="" 29.36<="" b=""> a 20 - 134 c</ld></b>	<ld -="" 16.16="" <sup="">a</ld>	< <b>LD - 368.42</b> <sup>a</sup> <ld -="" 77="" <sup="">c</ld>	<ld -="" 11.98="" <sup="">a</ld>	<b><ld -="" 23.80<="" b=""> <sup>a</sup> <ld -="" 18="" <sup="">c</ld></ld></b>	< <b>LD - 3.30</b> a <ld -="" 38="" th="" °<=""></ld>
ial (	Portugal			12.1 - 25 <sup>d</sup>	0.5 - 8.5 <sup>d</sup>	12 - 547 <sup>d</sup>	6.5 - 72 <sup>d</sup>	0.9 - 2.0 <sup>d</sup>	1.2 - 10.1 <sup>d</sup>	
erfic	China				1.2 - 3.9 <sup>e</sup>	233 - 3352.9 <sup>e</sup>	12.4 - 62.8 <sup>e</sup>			
dns	Singapura	21 - 70 <sup>f</sup>	18 - 37 <sup>f</sup>		12 - 51 <sup>f</sup>	810 - 1230 <sup>f</sup>	77 - 334 <sup>f</sup>	7 - 19 <sup>f</sup>		
gna	EUA						4.4 - 190 <sup>g</sup>	$0.7$ - $5.2$ $^{\rm g}$		
Ą	Itália			<ld -="" 34="" h<="" td=""><td></td><td><ld -="" 211="" h<="" td=""><td><ld -="" 145="" <sup="">h</ld></td><td><ld -="" 10="" h<="" td=""><td><ld -="" 175="" h<="" td=""><td></td></ld></td></ld></td></ld></td></ld>		<ld -="" 211="" h<="" td=""><td><ld -="" 145="" <sup="">h</ld></td><td><ld -="" 10="" h<="" td=""><td><ld -="" 175="" h<="" td=""><td></td></ld></td></ld></td></ld>	<ld -="" 145="" <sup="">h</ld>	<ld -="" 10="" h<="" td=""><td><ld -="" 175="" h<="" td=""><td></td></ld></td></ld>	<ld -="" 175="" h<="" td=""><td></td></ld>	
	Canada	<ld -="" 22="" i<="" td=""><td><ld -="" 55="" i<="" td=""><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></ld></td></ld>	<ld -="" 55="" i<="" td=""><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></ld>							
Sedimento (ng.g])	Brasil	< <b>LD - 2.29</b> a <ld <sup="">j</ld>	< <b>LD - 74</b> <sup>a</sup> <ld -="" 15.5="" <sup="">j</ld>	<ld -="" 0.40="" <sup="">a <ld -="" 22.9="" <sup="">j <ld -="" 129.8="" <sup="">k</ld></ld></ld>	< <b>LD - 0.60</b> a <ld -="" 0.1="" j<="" th=""><th><b><ld -="" 0.60<="" b=""> <sup>a</sup> <ld -="" 3.0="" <sup="">j</ld></ld></b></th><th>&lt;<b>LD - 7.68</b> a 1.4 - 20.3 j</th><th><b>LD - 2.57</b> a  <b>LD - 5.67</b> j  0.7 - 49.3 k</th><th><ld -="" 1.41="" 18.1="" 39.8="" <ld="" a="" j="" k<="" th=""><th>&lt;<b>LD</b> <sup>a</sup> <ld -="" 0.5="" <sup="">j</ld></th></ld></th></ld>	<b><ld -="" 0.60<="" b=""> <sup>a</sup> <ld -="" 3.0="" <sup="">j</ld></ld></b>	< <b>LD - 7.68</b> a 1.4 - 20.3 j	<b>LD - 2.57</b> a <b>LD - 5.67</b> j  0.7 - 49.3 k	<ld -="" 1.41="" 18.1="" 39.8="" <ld="" a="" j="" k<="" th=""><th>&lt;<b>LD</b> <sup>a</sup> <ld -="" 0.5="" <sup="">j</ld></th></ld>	< <b>LD</b> <sup>a</sup> <ld -="" 0.5="" <sup="">j</ld>
nent	China				<ld <sup="">e</ld>	7.6 - 20.8 <sup>e</sup>	2.3 - 13.2 <sup>e</sup>			
	Itália	1	L.	<ld <sup="">1 <ld -="" 41="" <sup="">h</ld></ld>	<ld -="" 5.3="" <sup="">1</ld>	326 - 506 <sup>1</sup> 47 - 192 <sup>h</sup>	<ld -="" 9.5="" <sup="">1 <ld -="" 118="" <sup="">h</ld></ld>	<ld¹< td=""><td><ld 1<="" td=""><td><ld<sup>1</ld<sup></td></ld></td></ld¹<>	<ld 1<="" td=""><td><ld<sup>1</ld<sup></td></ld>	<ld<sup>1</ld<sup>

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Neste estudo - Sistema lagunar Itaipu-Piratininga; <sup>b</sup> Baia de Santos (Pereira et al., 2016); <sup>c</sup> Baia de Todos os Santos (Lisboa et al., 2013); <sup>d</sup> Lagoa da Ria Formosa (Rocha et al., 2013); <sup>e</sup> Estuário Pearl River (Diao et al., 2017); <sup>f</sup> Reserva Marinha do Cabo D'Aguilar (Xu et al., 2015); <sup>g</sup> Porto de Key Largo (Singh et al., 2010); <sup>h</sup> Lagoa de Venice (Pojana et al., 2007); <sup>i</sup> Bacia de Pictou (Comeau et al., 2008); <sup>j</sup> Baia de Guanabara (Santos et al., 2017); <sup>k</sup> Mangue de Itacorubi (Froehner et al., 2011); <sup>1</sup> Lagoa de Sacca di Goro (Casatta et al., 2015).

As concentrações dos anti-inflamatórios, ibuprofeno e naproxeno, encontradas neste estudo na coluna d'água foram da mesma ordem de grandeza que nos trabalhos realizados em Singapura, Canadá e Brasil, com exceção do estudo de Pereira et al. 2016, os quais encontraram

<sup>&</sup>lt;LD: abaixo do limite de detecção.

valores extremamente altos de ibuprofeno em águas superficiais (326.1 – 2094.4 ng.L<sup>-1</sup>) na Baía de Santos (São Paulo, Brasil).

Para os DEs analisados, observa-se que de modo geral o conjunto dos demais estudos consultados apresenta uma ampla faixa de variação das concentrações de tais compostos na matriz aquática. Assim, para a maioria dos casos, os valores observados neste estudo estiveram dentro da faixa apresentada pela literatura citada na Tabela 5, com exceção do bisfenol A que excedeu os valores dos estudos consultados. Nota-se ainda que o 4-nonifenol e o estriol apresentaram concentrações máximas bem abaixo dos demais trabalhos consultados.

Sobre as concentrações nos sedimentos, o presente estudo aponta valores em sua maioria na parte inferior da faixa de concentrações observadas pelos demais trabalhos que compõem a Tabela 5.

Com intuito de obter um panorama brasileiro sobre a ocorrência de contaminantes emergentes em matrizes aquáticas, Montagner et al. (2017) realizaram uma revisão bibliográfica em revistas indexadas e revelaram que existem 44 trabalhos sobre essa temática no Brasil, sendo a maioria estudos realizados no sudeste do país. Nestes trabalhos, foi observado um total de 193 compostos de diferentes classes em aproximadamente 75 corpos hídricos. Os hormônios, seguidos pelos fármacos e produtos de higiene pessoal, compostos industriais e os pesticidas foram as classes mais estudadas.

Neste contexto de maior atenção sobre as referidas sustâncias e alerta de possíveis efeitos à biota aquática, alguns países têm buscado ampliar sua regulamentação e monitoramento dos contaminantes emergentes, que antes não eram objeto de preocupação por parte dos dispositivos legais (Cunha et al., 2016).

A União Europeia, por exemplo, tem avançado bastante sobre a questão do controle da poluição hídrica. Em 2005, foram avaliados 553 compostos suspeitos de ter alguma interferência no sistema endócrino. A partir desta avaliação, 194 compostos foram classificados como tendo claras evidências sobre sua capacidade de gerar efeitos de desregulação endócrina (categoria 1) e 125 enquadrados no grupo daqueles que apresentam possível desregulação endócrina (categoria 2) (DHI & DG Environment, 2007). Segundo esta classificação o nonilfenol, octilfenol, bisfenol A e os estrogênios, estradiol e etinilestradiol, foram classificados na categoria 1, ou seja, apresentam efeitos claros de desregulação endócrina em diversas espécies.

Como reflexos deste estudo e primeira categorização, o nonilfenol, o octilfenol e o bisfenol A foram incluídos entre as 33 substâncias prioritárias da Diretiva-Quadro 2008/105/CE da União Europeia, sobre normas de qualidade ambiental. Mais recentemente, em 2013, o estradiol, etinilestradiol e o diclofenaco quase foram incluídos na lista de substâncias prioritárias da Diretiva 2013/39/CE. Entretanto, estes compostos foram alvo de muitas discussões, e não tiveram sua inclusão aprovada. Estes foram então inseridos em uma Lista de Vigilância com a finalidade de recolher mais dados de monitoramento para subsidiar a determinação de limites adequados ao risco que esses compostos apresentam (Cunha, et al., 2016).

Durante estas discussões, a União Europeia chegou a propor um limite de 0.035 ng.L<sup>-1</sup> para o etinilestradiol nos corpos hídricos. Este nível foi baseado em efeitos adversos em peixes que determinou esta concentração como NOAEL (*no observed adverse effect level*), nível de efeito adverso não observado (Gilbert, 2012). No presente estudo a concentração máxima encontrada de etinilestradiol foi de 53.89 ng.L<sup>-1</sup>, na coluna d'água (ponto 5). Este valor é bem mais alto do que o limite proposto pela União Europeia, sendo assim provável a ocorrência de potenciais impactos à biota.

Com relação ao Brasil, a Resolução Conama 357/2005, estabelece critérios de qualidade da água para a proteção da vida aquática. Dentre os diversos compostos químicos, orgânicos e inorgânicos, abordados por esta resolução, encontram-se alguns que apresentam potencial de interferência no sistema endócrino, como os Poluentes Orgânicos Persistentes (aldrin, DDT, heptacloro, bifenilas policloradas, etc.) e alguns metais pesados (como chumbo, cobre, entre outros). Contudo, a referida resolução não dispõe sobre os fármacos e DEs abordados pelo presente estudo.

Sobre esta temática, registra-se como significativo avanço a nível nacional, ainda que em estágio bem inicial, a Moção de nº 61/2012 do Conselho Nacional de Recursos Hídricos, na qual este colegiado recomendou a promoção de ações de ciência e tecnologia para melhoria de técnicas de monitoramento e de tratamento de água de abastecimento e de efluentes, visando à remoção de contaminantes emergentes (CNRH, 2012).

#### 5.2.1 Potenciais efeitos ecotoxicológicos

Dados ecotoxicológicos têm sido levantados pela comunidade científica, de modo a identificar os potenciais efeitos adversos à biota aquática pelos compostos quantificados neste

estudo. Ensaios em peixes para avaliar os efeitos do ibuprofeno em concentrações ambientais indicaram nefrotoxicidade e efeito imunossupressor (Mathias et al. 2018). Outro estudo, conduzido em larvas de mosquito, mostrou uma diminuição de várias atividades comportamentais, após a exposição a este fármaco (Villa et al., 2018). Os efeitos ecotoxicológicos do naproxeno em organismos aquáticos também estão ligados a desregulação endócrina. Um estudo de toxicidade crônica do naproxeno avaliou seu efeito sobre os hormônios esteroides sexuais e sua transcrição gênica relacionada à esteroidogênese em peixes, e concluiu que este fármaco pode modular a produção de hormônios sexuais (Kwak et al. 2018).

Tanto 4-octilfenol quanto 4-nonilfenol foram descritos na literatura como sendo capazes de desregular o sistema endócrino de espécies. Estudos mostram que o nonifenol interfere na atividade da glândula adrenal de anfíbios e o octilfenol causa a feminização – desenvolvimento de características sexuais femininas (Capaldo et al., 2012; Porter et al., 2011). Em répteis, o nonifenol induz a síntese de vitelogenina (VTG) em machos, enquanto que em peixes, afeta o desenvolvimento embrionário (Verderame et al., 2011; Chandrasekar et al., 2011). A VTG é uma proteína presente na circulação sistêmica em espécies de animais ovíparos, estando presente em machos e fêmeas. Em organismos machos, em condições normais, a síntese desta proteína é muito baixa ou não detectável. Entretanto, quando peixes machos são expostos a compostos estrogênicos, estes passam a serem capazes de produzir uma grande quantidade de VTG, de modo similar às fêmeas (Lange et al., 2012; Chandra et al., 2012).

Estudos sobre o bisfenol A têm apontado seus efeitos adversos a uma série de organismos aquáticos, dentre os quais se destacam àqueles impactos ao sistema endócrino, como diminuição da qualidade do esperma; indução da síntese de VTG; inibição da expressão de genes esteroidogênicos; dentre outros. Devido sua toxicidade em humanos, a utilização do bisfenol A em formulação de plásticos (principalmente aqueles os quais tem contato direto com alimentos) foi banida em alguns países como Canadá, Dinamarca, Estados Unidos e Costa Rica. No Brasil, desde 2012, foi imposta a proibição da utilização do bisfenol A em mamadeiras, o que sinaliza um avanço na regulamentação. Entretanto, esta restrição não encerra a questão, tendo em vista que este composto continua sendo amplamente utilizado em uma gama de produtos plásticos.

Por causa de sua alta potência estrogênica, o estradiol e o etinilestradiol são os estrogênios mais monitorados no meio ambiente. Estudos mostram efeitos adversos em peixes, em diferentes fases de vida, dentre os quais podem ser citados: alteração no comportamento de

acasalamento; indução da síntese de VTG em machos; alterações histopatológicas nas fêmeas; atraso e redução da desova; redução das taxas de fertilização; dentre outros (Wang et al., 2019; Sun et al., 2018; Franks et al., 2018; Volkova et al., 2015).

### 5.3 ATIVIDADE ESTROGÊNICA

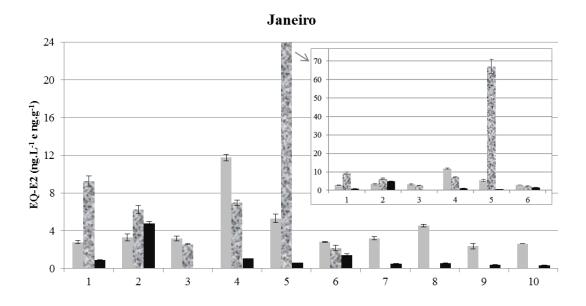
Para efeito de validação do método e do estradiol, enquanto controle positivo, foram traçadas as curvas dose-resposta deste padrão. Os resultados obtidos foram satisfatórios, uma vez que a curva do controle positivo apresentou o esperado formato sigmoidal, e não foi verificada qualquer contaminação no controle negativo (branco). O valor médio de  $CE_{50}$  da curva dose-resposta do estradiol para as amostras foi de  $38 \pm 10$  ng.L<sup>-1</sup> e o LD foi de  $0.02 \pm 0.01$  ng.L<sup>-1</sup>.

Observou-se que as amostras de água de ambas as campanhas não apresentaram citotoxicidade para as duas lagoas. Entretanto, as matrizes MPS e sedimento apresentaram citoxicidade em alguns dos pontos, o que foi verificado por meio da Equação 2 (item 4.3.4). Uma vez verificada citotoxicidade no 1º poço da placa de ensaio, o cálculo da mesma foi aplicado novamente nos poços subsequentes, que estão mais diluídos, até que a citoxicidade não seja mais observada, para que a partir deste poço possa então ser calculado o EQ-E2, livre de interferência.

Os resultados da atividade estrogênica das amostras de água, MPS e sedimento, obtidos pelo Ensaio YES, estão representados na Figura 5.

Em todos os pontos amostrados, em ambas as campanhas, foi observada atividade estrogênica em pelo menos uma das três matrizes. Estudos mostram que em concentrações de EQ-E2 entre 0.1 e 5 ng.L<sup>-1</sup> já se observam efeitos adversos na biota aquática, pela indução da VTG em peixes machos (Humble et al., 2013; Hirakawa et al., 2012). Com base neste parâmetro, pode se dizer que grande parte das amostras apresentou alta atividade estrogênica.

Destacam-se as concentrações de EQ-E2 da primeira campanha no ponto 5 (67.06 ng.L<sup>-1</sup>) no MPS, e na segunda campanha nos pontos 3 (70.39 ng.L<sup>-1</sup>) e 10 (68.55 ng.L<sup>-1</sup>) na água, onde foram observadas as maiores atividades estrogênicas. O ponto 3 está localizado no rio da Vala e o ponto 5 próximo ao canal do Camboatá, ambos na lagoa de Itaipu. Já o ponto 10 está localizado na lagoa de Piratininga, próximo ao córrego da Viração. Estes valores de atividade estrogênica são típicos de áreas na quais predomina o elevado aporte de esgotos, uma vez que águas residuais domésticas contêm altas concentrações de compostos estrogênicos, como os estrogênios naturais e o etinilestradiol (Andersen et al., 1999).



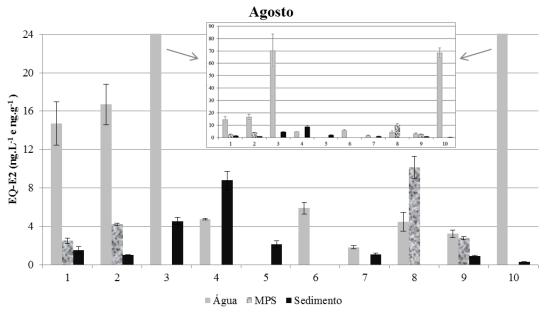


Figura 5. Valores de EQ-E2 das amostras de água, MPS, nos dez pontos de amostragem, no sistema lagunar Piratininga-Itaipu.

Na literatura, grandes concentrações de EQ-E2 são verificadas em efluentes de ETEs, onde são observados valores da ordem de 100 ng.L<sup>-1</sup> (Rutishauser et al., 2004; Pawlowski et al., 2004; Murk et al., 2002). Para águas costeiras, alguns estudos consultados apresentam valores em geral mais baixos que os observados no presente estudo. Isto se deve principalmente ao fato de os pontos amostrais deste trabalho se localizarem em áreas onde é grande a influência dos corpos hídricos afluentes, alguns destes com elevada carga de esgotos.

Como exemplo, um estudo realizado na costa de Aveiro, em Portugal, também avaliou a atividade estrogênica pelo Ensaio YES, e registrou uma concentração máxima de 0.23 ng.L<sup>-1</sup> de EQ-E2 (Sousa et al., 2009). Já no Mar Báltico, foram detectados valores de EQ-E2 que variaram entre 0.01 e 0.82 ng.L<sup>-1</sup>. Em Darwin Harbour, um estuário na Austrália, os maiores valores foram de 0.32 e 0.99 ng.L<sup>-1</sup> (Beck et al., 2006; French et al., 2015). Recentemente, um estudo realizado na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro - Brasil, detectou uma concentração máxima de EQ-E2 de 3.2 ng.L<sup>-1</sup> (Nascimento et al., 2017).

Ao comparar os pontos de elevada atividade estrogênica com os resultados obtidos na CG-EM, os compostos que podem estar contribuindo para esta alta atividade estrogênica são o estradiol e etinilestradiol (ponto 5); naproxeno e bisfenol A (ponto 3); e, 4-octilfenol e bisfenol A (ponto 10). Porém, é necessário considerar que amostras ambientais são extremamente complexas, e por isso interações com outros contaminantes, não contemplados nesse estudo, podem gerar diferentes efeitos (sinérgicos, aditivos ou inibitórios) entre os compostos presentes (Yu et al., 2019; Sisinno & Oliveira-Filho, 2013).

A presença de compostos estrogênicos não é apenas relevante na fase aquosa, mas também em sedimentos, pois podem afetar os organismos bentônicos. Porém, poucos são os estudos que avaliam os efeitos sobre os organismos associados aos sedimentos (Legler, 2002).

A avaliação de risco ecológico referente à contaminação por contaminantes emergentes tem sido aplicada em vários países, para que sejam estipuladas regulamentações no controle destes compostos. Com isso, vários pesquisadores vêm desenvolvendo metodologias de testes ecotoxicológicos e modelos para avaliação de risco ambiental. Segundo a Diretiva-Quadro da Água da União Europeia (*Water Framework Directive*), o uso de ferramentas baseadas em efeitos, como o Ensaio YES, pode ajudar na elaboração e implementação de programas de monitoramento e fornecer um vínculo entre avaliações químicas e ecológicas, ajudando assim na avaliação da qualidade da água (JRC, 2015; Diretiva 2013/39/EU).

### 6. CONCLUSÃO

Numa abordagem macro sobre a qualidade das águas do sistema lagunar, é possível constatar que este ecossistema tem sofrido significativas pressões, com reflexos sobre o comportamento de seus parâmetros físico-químicos. Ambas as lagoas apresentaram pH elevado (básico), acima do limite preconizado pela referência legal. Variável fundamental para a

manutenção da vida da biota aquática, o OD apresentou valores extremamente baixos na lagoa de Piratininga. Chamou atenção ainda a elevada presença de nutrientes, com destaque aos compostos nitrogenados, que na campanha de agosto alcançaram valores muito superiores aqueles preconizados pela legislação e literatura como necessários à manutenção do equilíbrio ecossistêmico. Portanto, observa-se que este sistema lagunar, em especial a lagoa de Piratininga, apresenta uma condição eutrófica.

As análises, por meio de CG-EM, das amostras coletadas em duas campanhas (janeiro e agosto de 2017) apontaram que dentre os 12 contaminantes emergentes (fármacos e DEs), os compostos genfibrozila, acetaminofeno e diclofenaco ficaram abaixo do LD.

De modo geral foram observadas maiores concentrações e frequências de ocorrência dos compostos alvo na campanha de agosto (inverno), para a matriz água. Este padrão se justifica pela menor capacidade de diluição dos efluentes, frente a uma menor taxa pluviométrica, e a uma relativa redução na capacidade de degradação destas substâncias, pela menor incidência solar e menor dinamismo biogeoquímico.

Na lagoa de Itaipu houve maior frequência de detecção para as amostras dos pontos 3 e 4 (Vala e João Mendes, respectivamente), já na lagoa de Piratininga merecem destaque os pontos 7 e 8 (Jacaré e Arrozal, respectivamente). Uma análise dos compostos mais frequentemente detectados mostra bisfenol A > 4-octilfenol > naproxeno > estradiol em destaque para as amostras de água. Enquanto que para os sedimentos tem-se bisfenol A > naproxeno > estradiol.

Considerando todos os pontos amostrados, observou-se atividade estrogênica em pelo menos uma das três matrizes, em ambas as campanhas. As maiores respostas estrogênicas, mensuradas em concentrações de EQ-E2, foram evidenciadas no ponto 5 (63.18 ng.L<sup>-1</sup>) em MPS, na primeira campanha, e nos pontos 3 (70.39 ng.L<sup>-1</sup>) e 10 (68.55 ng.L<sup>-1</sup>) em água, na segunda campanha. Por mais que não seja trivial estabelecer uma correlação direta entre as concentrações verificadas por CG-EM com as respostas estrogênicas lidas no Ensaio YES (tendo em vista que este por refletir efeitos aditivos e sinérgicos), foi possível observar que aqueles pontos com maiores atividades estrogênicas, também se mostraram expressivos na presença de um ou mais dos contaminantes de interesse.

Ao comparar os resultados do presente estudo com dados ecotoxicológicos da literatura em relação aos efeitos estrogênicos, é possível inferir que estes ambientes já são capazes de impor efeitos adversos a algumas das espécies que os habitam.

O estudo desta temática e os resultados obtidos no presente trabalho corroboram a relevância/necessidade de ampliar o conhecimento e regulamentação sobre o lançamento e ocorrência de contaminantes emergentes em corpos hídricos, principalmente aqueles de perfil lêntico, nos quais há menor capacidade de autodepuração e maior propensão a efeitos cumulativos.

# 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6457: Amostras de Solo. Preparação para ensaios de compactação e ensaios de caracterização. 1986.

Ahkola, H., Tuominen, S., Karlsson, S., Perkola, N., Huttula, T, et al. Presence of active pharmaceutical ingredients in the continuum of surface and ground water used in drinking water production. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017, 24(34):26778-26791.

Andersen, H.R., Andersson, A.M., Arnold, S.F., Autrup, H., Barfoed, M., et al. Comparison of short-term estrogenicity tests for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environ Health Perspect*. 1999, 107(Suppl 1):89-108.

APHA - American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22th Edition, American Water Works Association and Water Environmental Federation, Washington DC. 2012.

Aquino, S.F., Brandt, E.M.F., Chernicharo, C.A.L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. *Eng Sanit Ambient*. 2013, 18(3):187-204.

Barceló, D., Petrovic, M. Emerging contaminants from industrial and municipal waste: occurrence, analysis and effects, water pollution. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 2008.

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*. 2006, 63(11):1870-1878.

Bila, D.M., Dezotti, M. Endocrine disrupters in the environment: part 1 - effects and consequences. *Quím Nova*. 2007, 30(3): 651-666.

Brandt, E.M.F., Queiroz, F.B., Afonso, R.J.C.F., Aquino, S.F., Chernicharo, C.A.L. Behaviour of pharmaceuticals and endocrine disrupting chemicals in simplified sewage treatment systems. *J Environ Manage*. 2013, 128:718-726.

Brasil, Conama - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Publicado no DOU. Ministério do Meio Ambiente, 2005.

Brasil, Conama - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 454, de 01 de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. Publicado no DOU. Ministério do Meio Ambiente, 2012.

Capaldo, A., Gay, F., Valiante, S., Falco, M., Sciarrillo, R., Maddaloni, M., Laforgia, V. Endocrine-disrupting effects of nonylphenol in the newt, *Triturus carnifex* (Amphibia, Urodela). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2012, 155(2):352-358.

Carballa, M., Fink, G., Omil, F., Lema, J.M., Ternes, T. Determination of the solid–water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals, estrogens and musk fragrances in digested sludge. *Water Res.* 2008, 42(1-2):287-295.

Casatta, N., Mascolo, G., Roscioli, C., Viganò, L. Tracing endocrine disrupting chemicals in a coastal lagoon (Sacca di Goro, Italy): sediment contamination and bioaccumulation in Manila clams. *Sci Total Environ*. 2015, 511:214-222.

Cerda M., Barboza C.D.N., Carvalho C.N, Jandre K.A. Marques A.N. Nutrient budgets in the Piratininga-Itaipu lagoon system (southeastern Brazil): effects of sea-exchange management. *Lat Am J Aquat. Res.* 2013, 41(2): 226-238.

Chandra, K., Bosker, T., Hogan, N., Lister, A., MacLatchy, D., Currie, S. Sustained high temperature increases the vitellogenin response to 17α-ethynylestradiol in mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Aquat Toxicol*. 2012, 118-119:130-140.

Chandrasekar, G., Arner, A., Kitambi, S.S., Dahlman-Wright, K., Lendahl, M.A. Developmental toxicity of the environmental pollutant 4-nonylphenol in zebrafish. *Neurotoxicol Teratol.* 2011, 33(6):75-764.

CLIP - Subcomitê do Sistema Lagunar Itaipu-Piratininga. Estratégia para Gerenciamento Ambiental Compartilhado dos Ecossistemas Lagunares de Itaipu e Piratininga e da Região Hidrográfica.

Disponível em:

http://www.secretariaexecutiva.niteroi.rj.gov.br/images/pdf/Estrategia-

CLIPFINALMAIO2016.pdf. Acessado em: 23/10/18.

Comeau, F., Surette, C., Brun, G.L., Losier, R. The occurrence of acidic drugs and caffeine in sewage effluents and receiving waters from three coastal watersheds in Atlantic Canada. *Sci Total Environ*. 2008, 396(2-3):132-146.

Lange, A., Katsu, Y., Miyagawa, S., Ogino, Y., Urushitani, H., et al. Comparative responsiveness to natural and synthetic estrogens of fish species commonly used in the laboratory and field monitoring. *Aquat Toxicol*. 2012, 109:250-8.

Conselho Nacional de Recursos Hídricos. Moção nº 61, de 10 de julho de 2012. Disponível em: <a href="ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsessp/bibliote/informe\_eletronico/2012/iels.ago.12/Iels153/U\_MO-MMA-CNRH-61\_100712.pdf">https://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsessp/bibliote/informe\_eletronico/2012/iels.ago.12/Iels153/U\_MO-MMA-CNRH-61\_100712.pdf</a>. Acessado em: 23/10/18.

Cunha, D.L., Paula, L.M., Silva, S.M.C., Bila, D.M., Fonseca, E.M., Oliveira, J.L.M. Ocorrência e remoção de estrogênios por processos de tratamento biológico de esgotos. *Rev Amb Água*. 2017, 12(2):249-262.

Cunha, D.L., Silva, S.M.C., Bila, D.M., Oliveira, J.L.M., Sarcinelli, P.N., Larentis, A.L. Regulation of the synthetic estrogen 17α-ethinylestradiol in water bodies in Europe, the United States, and Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2016, 32(3):e00056715.

Dezotti, M. Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos: Volume 5 da Série Escola Piloto de Engenharia Química. [S.l.]: Editora E-papers. 2008.

Diao, P., Chen, Q., Wang, R., Sun, D., Cai, Z., et al. Phenolic endocrine-disrupting compounds in the Pearl River Estuary: Occurrence, bioaccumulation and risk assessment. *Sci Total Environ*. 2017, 584-585:1100-1107.

DHI; DG Environment. Study on enhancing the endocrine disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals. 2007. Disponível em: <a href="http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/pdf/final\_report\_2007.pdf">http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/pdf/final\_report\_2007.pdf</a>. Acessado em: 12/11/18.

Directiva 2008/105/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de dezembro de 2008, relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água, que altera e subsequentemente revoga as Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE e 86/280/CEE do Conselho, e que altera a Directiva 2000/60/CE. Jornal Oficial das Comunidades Europeias. Disponível em: http://eurlex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0105&from=EM. Acessado em: 30/10/18

Diretiva 2013/39/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 12 de agosto de 2013, que altera as Diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que respeita às substâncias prioritárias no domínio da política da água. Jornal Oficial da União Europeia. Disponível em: <a href="https://eurlex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013L0039&from=IT">https://eurlex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013L0039&from=IT</a>. Acessado em: 15/10/18.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de análise de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2ª Ed. Rio de Janeiro, 1997.

Esteban, S., Gorga, M., Petrovic, M., González-Alonso, S., Barceló, D., Valcárcel, Y. Analysis and occurrence of endocrine-disrupting compounds and estrogenic activity in the surface waters of Central Spain. *Sci Total Environ*. 2014, 466-467:939-951.

Routledge, E.J., Sumpter, J.P. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ Toxicol Chem.* 1996, 15(3):241-248.

FEEMA – Fundação Estadual do Meio Ambiente. Relatório de Avaliação das Condições Físico-Químicas do Sistema Lagunar de Piratininga-Itaipu, DEP / DIAG, 08 p. Rio de Janeiro. 1982.

Fent, K., Weston, A.A., Caminada, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol*. 2006, 76(2):122-159.

French, V.A., Codi King, S., Kumar, A., Northcott, G., McGuinness, K., Parry, D. Characterisation of microcontaminants in Darwin Harbour, a tropical estuary of northern Australia undergoing rapid development. *Sci Total Environ*. 2015, 536:639-647.

Franks, C.G., Pearce, D.W., Rood, S.B. A prescription for drug-free rivers: uptake of pharmaceuticals by a widespread streamside willow. *Environ Manage*. 2018, 1-12.

Frische, T., Faust, M., Meyer, W., Backhaus, T. Toxic masking and synergistic modulation of the estrogenic activity of chemical mixtures in a yeast estrogen screen (YES). *Environ Sci Pollut Res Int.* 2009, 16(5):593-603.

Froehner, S., Machado, K.S., Stefen, E., Nolasco, M. Occurrence of Sexual Hormones in Sediments of Mangrove in Brazil. *Water Air Soil Pollut*. 2011, 219(1-4):591-599.

García-Córcoles, M.T., Rodríguez-Gómez, R., de Alarcón-Gómez, B., Çipa, M., Martín-Pozo, et al. Chromatographic methods for the determination of emerging contaminants in natural water and wastewater samples: a review. *Crit Rev Anal Chem.* 2018, 1-27.

Gavrilescu, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., Fava, F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *N Biotechnol.* 2015, 32(1):147-156.

Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., et al. Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *Inter Soil Water Conservation Res.* 2015, 3(1):57-65.

Gilbert, N. Drug-pollution law all washed up. *Nature*. 2012, 491:503-504.

Hirakawa, I., Miyagawa, S., Katsu, Y., Kagami, Y., Tatarazako, N., et al. Gene expression profiles in the testis associated with testis-ova in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to  $17\alpha$ -ethinylestradiol. *Chemosphere*. 2012, 87(7):668-674.

Honda, L., Becerra-Herrera, M., Richter, P. Liquid chromatography-time-of-flight high-resolution mass spectrometry study and determination of the dansylated products of estrogens and their hydroxylated metabolites in water and wastewater. *Anal Bioanal Chem.* 2018, 410(30):7909-7919.

Huang, B., Pan, X.J., Wan, X., Liu, J.L., Zhao, S.M., et al. Simultaneous determination of steroid endocrine disrupting chemicals in water by solid phase extraction derivatization - gas chromatographic-mass spectrometry. *Chinese J Anal Chem.* 2011, 39(4):449-454.

Humble, J.L., Hands, E., Saaristo, M., Lindström, K., Lehtonen, K.K., et al. Characterisation of genes transcriptionally upregulated in the liver of sand goby (*Pomatoschistus minutus*) by 17α-

ethinyloestradiol: identification of distinct vitellogenin and zona radiata protein transcripts. *Chemosphere*. 2013, 90(11):2722-2729.

IOMC – Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. State of the science of endocrine disrupting chemicals. United Nations Environment Programme and World Health Organization. 2012.

Jin, S., Yang, F., Xu, Y., Dai, H., Liu, W. Risk assessment of xenoestrogens in a typical domestic sewage-holding lake in China. *Chemosphere*. 2013, 93(6):892-898.

JRC - Joint Research Centre Institute for Environment and Sustainability. European Commission Directorate General. Development of the first Watch List under the Environmental Quality Standards Directive. Disponível em: <a href="http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC95018/lbna27142enn.pdf">http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC95018/lbna27142enn.pdf</a>. Acessado em: 10/11/18.

Kortenkamp, A. Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ Health Perspect*. 2007, 115(Suppl 1):98-105.

Kunz PY, Simon E, Creusot N, Jayasinghe BS, Kienle C, Maletz S, et al. Effect-based tools for monitoring estrogenic mixtures: Evaluation of five in vitro bioassays. Water Research. 2017 Mar 1;110:378-88.

Kuster, M., José López de Alda, M., Barceló, D. Analysis and distribution of estrogens and progestogens in sewage sludge, soils and sediments. *Trends Analyt Chem.* 2004, 23(10-11):790-798.

Kwak, K., Ji, K., Kho, Y., Kim, P., Lee, J., et al. Chronic toxicity and endocrine disruption of naproxen in freshwater waterfleas and fish, and steroidogenic alteration using H295R cell assay. *Chemosphere*. 2018, 204:156-162.

Legler, J., Dennekamp, M., Vethaak, A.D., Brouwer, A., Koeman, J.H., et al. Detection of estrogenic activity in sediment-associated compounds using in vitro reporter gene assays. *Sci Total Environ*. 2002, 293(1-3):69-83.

Lima, D.R.S., Tonucci, M.C., Libânio, M., Aquino, S.F. Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. *Eng Sanit Ambient*. 2017, 22(6):1043-1054.

Lisboa, N.S., Fahning, C.S., Cotrim, G., dos Anjos, J.P., de Andrade, J.B., et al. A simple and sensitive UFLC-fluorescence method for endocrine disrupters determination in marine waters. *Talanta*. 2013, 117:168-175.

Liu, G., Ke, M., Fan, X., Zhang, M., Zhu, Y., et al. Reproductive and endocrine-disrupting toxicity of Microcystis aeruginosa in female zebrafish. *Chemosphere*. 2017, 192:289-296.

Liu, M., Jia, S., Dong, T., Han, Y., Xue, J., et al. The occurrence of bisphenol plasticizers in paired dust and urine samples and its association with oxidative stress. *Chemosphere*. 2019, 216:472-478.

Lopes, B.C., Sanson, A.L., Aquino, S.F., Souza, C.L, Chernicharo, C.A.L., Afonso, R.J.C.F. Behavior of pharmaceuticals in UV photoreactors fed with sewage treated by anaerobic/aerobic system. *Environ Technol.* 2017, 38(21):2775-2784.

Luo, S., Fang, L., Wang, X., Liu, H., Ouyang, G., et al. Determination of octylphenol and nonylphenol in aqueous sample using simultaneous derivatization and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2010, 1217(43):6762-6768.

Mach, J.S.O, Longo, O.C. Considerações sobre a gestão ambiental – impacto da construção civil: um estudo de caso do sistema lagunar Piratininga-Itaipu. 1998. Disponível em: <a href="http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep1998\_art209.pdf">http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep1998\_art209.pdf</a>. Acessado em: 25/10/18.

Mathias, F.T., Fockink, D.H., Disner, G.R., Prodocimo, V., Ribas, J.L.C., et al. Effects of low concentrations of ibuprofen on freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2018, 59:105-113.

Mo, L., Zheng, J., Wang, T., Shi, Y.G., Chen, B.J., et al. Legacy and emerging contaminants in coastal surface sediments around Hainan Island in South China. *Chemosphere*. 2019, 215:133-141.

Montagner, C.C., Vidal, C., Acayaba, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. *Quím Nova*. 2017, 40(9):1094-1110.

Nascimento, M.T.L., Santos, A.D.O., Felix, L.C., Gomes, G., Sá, M.O., Cunha, D.L., et al. Determination of water quality, toxicity and estrogenic activity in a nearshore marine environment in Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018, 149:197-202.

Nilsen, E., Smalling, K.L., Ahrens, L., Gros, M., Miglioranza, K.S.B., Pico, Y., Schoenfuss, H.L. Grand challenges in assessing the adverse effects of contaminants of emerging concern on aquatic food webs. *Environ Toxicol Chem.* 2018.

<u>Pereira, C.D.S.</u>, <u>Maranho, L.A.</u>, <u>Cortez, F.S.</u>, <u>Pusceddu, F.H.</u>, <u>Santos, A.R.</u>, et al. Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazilian coastal zone. *Sci Total Environ*. 2016, 548-549:148-154.

PMN - Prefeitura Municipal de Niterói. EIA/RIMA. Estudo de Impactos Ambientais das obras de implantação e construção do corredor viário Charitas — Piratininga (BRT Transoceânica). Agrar, 2014.

Pojana, G., Gomiero, A., Jonkers, N., Marcomini, A. Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon. *Environ Int.* 2007, 33(7):929-936.

Porter, K.L., Olmstead, A.W., Kumsher, D.M., Dennis, W.E., Sprando, R.L., et al. Effects of 4-tert-octylphenol on *Xenopus tropicalis* in a long term exposure. *Aquat Toxicol*. 2011, 103(3-4):159-169.

Quadra, G.R., Oliveira de Souza, H., Costa, R.D., Fernandez, M.A. Do pharmaceuticals reach and affect the aquatic ecosystems in Brazil? A critical review of current studies in a developing country. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017, 24(2):1200-1218.

Richardson, S.D., Ternes, T.A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal Chem.* 2011, 83(1):4614-4648.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J., Henderson, G. Farmacologia. 8ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

Rocha, M.J., Cruzeiro, C., Reis, M., Rocha, E., Pardal, M. Determination of seventeen endocrine disruptor compounds and their spatial and seasonal distribution in Ria Formosa Lagoon (Portugal). *Environ Monit Assess*. 2013, 185(10):8215-8226.

Samaras, V.G., Thomaidis, N.S., Stasinakis, A.S., Lekkas, T.D. An analytical method for the simultaneous trace determination of acidic pharmaceuticals and phenolic endocrine disrupting chemicals in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2011, 399(7):2549-2561.

Singh, S.P., Azua, A., Chaudhary, A., Khan, S., Willett, K.L., Gardinali, P.R. Occurrence and distribution of steroids, hormones and selected pharmaceuticals in South Florida coastal environments. *Ecotoxicology*. 2010, 19(2):338-350.

Sisinno, C.L.S., Oliveira-Filho, E.C. Princípios de toxicologia ambiental. 1ª Ed. Editora Interciência: Rio de Janeiro. 2013. 216p.

Sousa, A., Schönenberger, R., Jonkers, N., Suter, M.J.-F., Tanabe, S., Barroso, C.M. Chemical and biological characterization of estrogenicity in effluents from WWTPs in Ria de Aveiro (Portugal). *Arch Environ Contam Toxicol*. 2010, 58(1):1-8.

Sun, L., Gu, L., Tan, H., Liu, P., Gao, G., et al. Effects of 17α- ethinylestradiol on caudal fin regeneration in zebra fish larvae. *Sci Total Environ*. 2018, 653:10-22.

Thompson M, Ellison SLR, Wood, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis - IUPAC thechical report. Budapest, 2002.

- UNEP United Nations Environment Programme and WHO World Health Organization. State of the science of endocrine disrupting chemicals an assessment of the state of the science of endocrine disruptors. WHO: UNEP, Geneva. 2013.
- US EPA Environmental Protection Agency. Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analisys, report n°. EPA/630/R-96/012, Washington D. C., 1997.
- Verderame, M., Prisco, M., Andreuccetti, P., Aniello, F., Limatola, E. Experimentally nonylphenol-polluted diet induces the expression of silent genes VTG and ERα in the liver of male lizard *Podarcis sicula*. *Environ*. *Pollut*. 2011, 159(5):1101-1107.
- Villa, S., Di Nica, V., Pescatore, T., Bellamoli, F., Miari, F., et al. Comparison of the behavioural effects of pharmaceuticals and pesticides on *Diamesa zernyi* larvae (Chironomidae). *Environ Pollut*. 2018, 238:130-139.
- Volkova, K., Reyhanian, N.C., Porseryd, T., Hallgren, S., Dinnétz, P., Porsch-Hällström, I. Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to 17-ethinylestradiol affects non-reproductive behavior and fertility as adults, and increases anxiety in unexposed progeny. *Horm Behav.* 2015, 73:30-8.
- Von Sperling M. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2012. 422 p.
- Wang, Y.Q., Li, Y.W., Chen, Q.L., Liu, Z.H. Long-term exposure of xenoestrogens with environmental relevant concentrations disrupted spermatogenesis of zebrafish through altering sex hormone balance, stimulating germ cell proliferation, meiosis and enhancing apoptosis. *Environ Pollut*. 2019, 244:486-494.
- Wu, Q., Lam, J.C.W., Kwok, K.Y., Tsui, M.M.P., Lam, P.K.S. Occurrence and fate of endogenous steroid hormones, alkylphenol ethoxylates, bisphenol A and phthalates in municipal sewage treatment systems. *J Environ Sci.* 2017, 61:49-58.
- Wu, Q.Y., Shao, Y.R., Wang, C., Sun, Y., Hu, H.Y. Health risk induced by estrogens during unplanned indirect potable reuse of reclaimed water from domestic wastewater. *Huan Jing Ke Xue*. 2014, 35(3):1041-1050.
- Xu, E.G.B., Morton, B., Lee, J.H.W., Leung, K.M.Y. Environmental fate and ecological risks of nonylphenols and bisphenol A in the Cape D'Aguilar Marine Reserve, Hong Kong. *Mar Pollut Bull*. 2015, 91(1):128-138.
- Yu, H., Caldwell, D.J., Suri, R.P. In vitro estrogenic activity of representative endocrine disrupting chemicals mixtures at environmentally relevant concentrations. *Chemosphere*. 2019, 215:396-403.

# 5. <u>CONSIDERAÇÕES GERAIS</u>

Com a elaboração do presente estudo, foi possível consolidar várias informações relevantes sobre as lagoas, seu entorno e os diferentes grupos de contaminantes abordados. A partir de tais informações, e das reflexões sobre a referida temática, corroboro o discurso que ressalta a importância do estudo de tais contaminantes, tendo em vista que muitos destes compostos químicos possuem ampla utilização na vida moderna e, uma vez introduzidos nos corpos hídricos, têm o potencial de desencadear significativos efeitos adversos à biota aquática.

Ao estudar o sistema lagunar Itaipu-Piratininga, observa-se que o mesmo vem sofrendo uma série de impactos da ação antrópica, no seu entorno e no próprio espelho d'água. Neste contexto, o principal meio pelo qual a presença e ações humanas impactam as lagoas é o lançamento de compostos orgânicos e nutrientes, que levam à supernutrição destes ambientes. Este intenso aporte de poluentes, associado a mudanças hidrodinâmicas das lagoas, leva um quadro de comprometimento da qualidade ambiental e desequilíbrio ecossistêmico, principalmente na lagoa de Piratininga, que apresenta menor troca hídrica e influência marinha, comparada a de Itaipu.

Para além deste comprometimento ambiental, mais facilmente diagnosticável, o presente estudo investigou ainda a ocorrência de 51 contaminantes, dentre os quais destacam-se alguns metais pesados, fármacos e DEs.

Nos sedimentos, os metais foram o principal grupo de contaminantes detectados. Dentre estes, Cu e Zn foram aqueles que apresentaram concentrações mais alarmantes, tanto quando comparadas com referências legais, quanto com outros estudos. Este resultado foi confirmado com a utilização do I<sub>geo</sub>, onde foram observadas as maiores diferenças com o níveis basais para Cu>Zn>Pb>Ni. Por suas características biogeoquímicas e relativa baixa mobilidade (se comparado à coluna d'água), os sedimentos apresentaram características similares em ambas as campanhas, verão e inverno.

Com relação aos contaminantes emergentes (nas três matrizes: água, MPS e sedimento) foram detectados alguns fármacos e DEs. Na água (fase diluída + MPS), bisfenol A, 4-octifenol naproxeno e estradiol foram os mais encontrados. Já nos sedimentos superficiais, foram bisfenol A, naproxeno e estradiol. Verificou-se que, para estes contaminantes emergentes, as maiores frequências de detecção e concentrações ambientais foram observadas na campanha do inverno. Esta diferença sazonal se justifica pela menor capacidade de diluição dos efluentes, frente a uma

menor taxa pluviométrica, e a uma relativa redução na capacidade de degradação destas substâncias, pela menor incidência solar e menor dinamismo biogeoquímico.

Para avaliar os potencias efeitos da ocorrência de tais substâncias, além das inferências que podem ser feitas com base nos dados de estudos ecotoxicológicos, foram realizados dois bioensaios (Microtox e YES). O ensaio *in vivo* Microtox, com a bactéria *A. fischeri*, aplicado exclusivamente para as amostras de sedimentos superficiais, apresentou efeito intensamente tóxico apenas em uma das amostras. Entretanto, observou-se o efeito *hormesis*, onde há um aumento da bioluminescência das bactérias expostas, em praticamente todas as demais amostras. Já para o ensaio *in vitro* YES, aplicado às amostras das três matrizes, foi verificada atividade estrogênica em pelo menos uma das três matrizes, em ambas as campanhas, alcançando níveis alarmantes para alguns dos pontos analisados.

Tanto para os bioensaios quanto para as análises químicas, os pontos de amostragem que apresentaram maiores efeitos/concentrações foram aqueles próximos às fozes dos principais rios afluentes, em ambas as lagoas, e ainda nas duas extremidades do canal de Camboatá.

Adicionalmente, com o intuito de ter um olhar mais integrado sobre os potenciais riscos à biota deste ecossistema, é interessante, e sugere-se para trabalhos futuros, conduzir estudos voltados para Avaliação de Risco Ecológico (ARE). Atualmente existem metodologias de ARE voltadas para estimar os efeitos de misturas, ou seja, não só avaliam o efeito de um composto propriamente dito, sendo possível assim identificar efeitos aditivos, sinérgicos e antagônicos de uma matriz ambiental. Dentre estas metodologias, pode ser citada a probabilidade de risco global (Overall Risk Probability – ORP), que se baseia em sofisticadas técnicas probabilísticas aplicáveis a exposição e efeito.

Em um contexto urbano, como o aqui abordado, o lançamento de esgotos e drenagem urbana, são as principais vias de introdução de contaminantes. Neste sentido, para remediar/atenuar tais impactos antrópicos, é fundamental, e urgente, que se invista na ampla cobertura de coleta e tratamento de esgotos, de modo a reduzir a elevada carga de compostos orgânicos e nutrientes.

Entretanto, tem-se observado que as tecnologias de tratamento de efluentes hoje empregadas não são capazes de retirar toda a gama de poluentes gerados pelo homem contemporâneo. A título de exemplo podemos citar os estrogênios, abordados no Artigo 1. Assim, para além de universalizar a coleta e tratamento de esgotos, é importante que se estudem

meios de aprimoramento dos processos de tratamento de esgotos, principalmente quando o efluente das ETEs é lançado em ambientes sensíveis, como lagoas costeiras que, por seu baixo hidrodinamismo, acabam acumulando tais contaminantes.

Com o intuito de enfrentar tais questões que afetam diretamente os recursos hídricos, o Subcomitê do Sistema Lagunar Itaipu-Piratininga (CLIP), colegiado que se reúne periodicamente para discutir e deliberar sobre assuntos relativos às águas desta região, traçou em 2015 linhas gerais de uma "Estratégia para Gerenciamento Ambiental Compartilhado dos Ecossistemas Lagunares de Itaipu e Piratininga e da Região Hidrográfica". Este planejamento macro tem como principal objetivo recuperar e manter a integridade ambiental das lagoas e de sua região hidrográfica, bem como da zona costeira adjacente. Para isso, dentre as ações a serem implementadas estão: melhoria do sistema de drenagem; ampliação da rede de coleta e tratamento de esgotos; melhoria dos canais de Camboatá e Itaipu; manejo do lido e barra da lagoa de Piratininga; desassoreamento e remoção do lixo acumulado no sedimento; melhoria da coleta de lixo; controle de substâncias tóxicas e redução do seu aporte aos rios e às lagoas; etc.

Neste cenário de busca pelos melhores caminhos e estratégias para superação dos desafios ambientais, com reflexos sobre a qualidade das águas, o papel da ciência se antecede aos processos regulatórios. A interação entre diferentes áreas da academia pode auxiliar no melhor conhecimento sobre a introdução de contaminantes no meio ambiente, bem como seu comportamento e riscos associados. Subsidiando assim tomadas de decisões de ordem regulatória e prática.

A situação brasileira quanto ao controle de poluentes vai muito além da esfera legal e normativa. É possível constatar que alguns importantes pontos das leis vigentes ainda não são satisfatoriamente executados. Como a questão dos microcontaminantes se trata de um tema relativamente novo, ainda há uma significativa demanda de monitoramento dos corpos hídricos e a elaboração de uma série de estudos que sirvam de base para a tomada de medidas factíveis e efetivas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barceló, D., Petrovic, M. Emerging contaminants from industrial and municipal waste: occurrence, analysis and effects. Ed. Springer, 206p, 2008.

Casals-Casas, C., Desvergne, B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annual review of physiology*. 2011, 73:135–162.

Cunha, D.L., Silva, S.M.C., Bila, D.M., Oliveira, J.L.M., Sarcinelli, P.N., Larentis, A.L. Regulation of the synthetic estrogen 17α-ethinylestradiol in water bodies in Europe, the United States, and Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2016, 32(3):e00056715.

Franks, C.G., Pearce, D.W., Rood, S.B. A prescription for drug-free rivers: uptake of pharmaceuticals by a widespread streamside willow. *Environ Manage*. 2018, 1-12.

Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., et al. Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *Inter Soil Water Conservation Res.* 2015, 3(1):57-65.

JRC - Joint Research Centre Institute for Environment and Sustainability. European Commission Directorate General. EU Wide Monitoring Survey of Polar Persistent Pollutants in European River Waters. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. 2008. 51p.

Kwak, K., Ji, K., Kho, Y., Kim, P., Lee, J., et al. Chronic toxicity and endocrine disruption of naproxen in freshwater waterfleas and fish, and steroidogenic alteration using H295R cell assay. *Chemosphere*. 2018, 204:156-162.

Miranda, L.A.S., Monteggia, L. O. Sistemas e processos de tratamento de águas de abastecimento. Guia do profissional em treinamento. Nível 2. Porto Alegre. 2007. 148 p.

Montagner, C.C., Vidal, C., Acayaba, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. *Quím Nova*. 2017, 40(9):1094-1110.

Nilsen, E., Smalling, K.L., Ahrens, L., Gros, M., Miglioranza, K.S.B., Pico, Y., Schoenfuss, H.L. Grand challenges in assessing the adverse effects of contaminants of emerging concern on aquatic food webs. *Environ Toxicol Chem.* 2018.

Paschoalini, A.L., Savassi, L.A., Arantes, F.P., Rizzo, E., Bazzoli, N. Heavy metals accumulation and endocrine disruption in Prochilodus argenteus from a polluted neotropical river. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018,169:539-550.

Sun, L., Gu, L., Tan, H., Liu, P., Gao, G., et al. Effects of  $17\alpha$ - ethinylestradiol on caudal fin regeneration in zebra fish larvae. *Sci Total Environ*. 2018, 653:10-22.

Varol, M., Sünbül, M.R. Environmental contaminants in fish species from a large dam reservoir and their potential risks to human health. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018, 169:507-515.

Von Sperling, M.V. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Editora UFMG, 1996.

Wang, Y.Q., Li, Y.W., Chen, Q.L., Liu, Z.H. Long-term exposure of xenoestrogens with environmental relevant concentrations disrupted spermatogenesis of zebrafish through altering sex hormone balance, stimulating germ cell proliferation, meiosis and enhancing apoptosis. *Environ Pollut*. 2019, 244:486-494.

Yamashita, N., Kannan, K., Taniyasu, S., Horii, Y., Okazawa, T., et al. Analysis of perfluorinated acids at parts-per-quadrillion levels in seawater using liquid chromatographytandem mass spectrometry. *Environ Sci Technol*. 2004, 38:5522-5528.