



SETAC – Brazil

Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil)

F. F. SODRÉ,* C. C. MONTAGNER, M. A. F. LOCATELLI & W. F. JARDIM

Laboratório de Química Ambiental, Instituto de Química, UNICAMP, Caixa Postal 6154, CEP 13084-862, Campinas, SP

(Received February 6, 2007; Accepted May 3, 2007)

RESUMO

Este trabalho mostra a ocorrência de alguns compostos orgânicos emergentes em águas superficiais da Região Metropolitana de Campinas (RMC). Dez compostos classificados como interferentes endócrinos e cinco fármacos foram investigados em amostras coletadas em seis pontos amostrais localizados na bacia do rio Atibaia. As amostras foram submetidas ao processo de extração em fase sólida e os extratos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. Compostos orgânicos exógenos foram detectados em 83% das amostras. Dentre os compostos investigados, mais de um foi determinado em 66% das amostras. O 17 β -estradiol, o 17 α -etinilestradiol, o paracetamol (acetaminofeno), o ácido acetilsalicílico, a cafeína, o di-n-butilftalato e o bisfenol A foram detectados ao menos uma vez nas amostras. No ponto amostral a jusante da cidade de Campinas foram determinados os níveis mais elevados de cafeína, bisfenol A, 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol, evidenciando a contaminação das águas. Finalmente, foi observado aumento na concentração destes compostos durante o período de menor pluviosidade.

Palavras-chave: compostos orgânicos emergentes, interferentes endócrinos, águas superficiais, saneamento básico.

ABSTRACT

Occurrence of endocrine disrupting chemicals and pharmaceutical products in surface freshwaters from Campinas region (SP, Brazil)

The aim of this work was to evaluate the occurrence of some emerging organic compounds in surface freshwaters samples collected in the Metropolitan Region of Campinas. Ten substances classified as endocrine disrupting chemicals as well as five pharmaceutical drugs were investigated in samples from six individual sampling points in the Atibaia River basin. Samples were submitted to solid phase extraction and the extracts were analyzed by high performance liquid chromatography. Exogenous organic compounds were detected in 83% of the samples. More than one compound, amongst the fifteen, was determined in 66% of the samples. 17 β -estradiol, 17 α -ethynylestradiol, paracetamol (acetaminophen), acetylsalicylic acid, di-n-butyl phthalate, bisphenol A, and caffeine were detected at least once. Higher levels of 17 β -estradiol, 17 α -ethynylestradiol, bisphenol A, and caffeine were detected in the sampling point located downstream the city of Campinas, evidencing the contamination in this water body. Finally, it was noticed that during the low precipitation period the concentration of the majority analyzed compounds increases.

Key words: emerging organic compounds, endocrine disrupting chemicals, surface freshwaters, basic sanitation.

INTRODUÇÃO

Atualmente, cerca de 11 milhões de substâncias químicas são conhecidas no planeta. Em países industrializados cerca de 100.000 compostos são produzidos deliberadamente e

utilizados para diversos fins. Apenas nos Estados Unidos são registrados de 1.200 a 1.500 novas substâncias químicas por ano (U.S.EPA, 2006). Em todo o mundo, aproximadamente 3.000 compostos são produzidos em grande escala, atingindo mais de 500.000 kg por ano. Destes, menos de 45% foram

*Corresponding author: Fernando F. Sodré, e-mail: ffsodre@iqm.unicamp.br.

submetidos a algum tipo de ensaio toxicológico básico e menos de 10% foram estudados considerando-se qualquer tipo de efeito tóxico sobre organismos em desenvolvimento (Mello-da-Silva & Fruchtgarten, 2005).

A produção e uso crescente de compostos químicos e a inexistência de políticas de controle baseadas em critérios toxicológicos e ambientais têm levado ao aparecimento das chamadas substâncias emergentes. Estas substâncias não compreendem somente os produtos químicos sintetizados nos últimos anos, mas também uma série de compostos orgânicos exógenos ou endógenos que somente agora vêm sendo detectados em diferentes compartimentos ambientais. Além disso, muitos destes compostos têm apresentado em comum o fato de atuarem como interferentes do sistema endócrino de humanos e de diversos seres vivos (Sumpter & Johnson, 2005). A maioria dos interferentes endócrinos são moléculas pequenas que possuem a capacidade de mimetizar alguns hormônios esteroidais ou da tireóide, comprometendo os processos reprodutivos, de desenvolvimento e de manutenção da homeostase celular (Sadik & Witt, 1999). Os interferentes endócrinos podem perturbar o funcionamento do sistema endócrino, mimetizando hormônios naturais, estimulando a formação de mais receptores hormonais, bloqueando sítios receptores em uma célula, acelerando a síntese e a secreção de hormônios naturais, desativando enzimas responsáveis pela secreção de hormônios e/ou destruindo a habilidade dos hormônios em interagir com os receptores celulares (Birkett & Lester, 2003).

Muitos compostos orgânicos têm sido classificados como interferentes endócrinos por diversas agências ambientais e organizações não-governamentais de todo o mundo. Segundo o Programa Internacional de Segurança Química, um interferente endócrino é classificado como *“uma substância ou mistura exógena que altera a função do sistema endócrino e conseqüentemente causa efeitos adversos em um organismo intacto, ou em seus descendentes, ou subpopulações”* (Damstra et al., 2002). A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos propõe uma definição mais detalhada que reflete a diversidade de mecanismos envolvidos na perturbação do sistema endócrino. Segundo a U.S.EPA (1997), *“um interferente endócrino é um agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais que são responsáveis pela manutenção da homeostase, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento”*.

Dentre os compostos classificados como interferentes endócrinos, os que vêm merecendo maior destaque são os estrogênios naturais, os estrogênios sintéticos e alguns xenoestrogênios, tais como o bisfenol A, os surfactantes alquilfenóis e alguns ftalatos. Estes compostos têm sido mais estudados, pois suas ocorrências no ambiente e seus possíveis efeitos sobre a biota somente agora vêm sendo elucidados.

Os xenoestrogênios são constituídos basicamente de compostos utilizados em produtos industrializados. Compostos

empregados como plastificantes ou como aditivos na síntese de polímeros apresentam a lixiviação como fonte minoritária de aporte para os corpos aquáticos. Descartes industriais provenientes de empresas que utilizam essas substâncias na manufatura de seus produtos são considerados importantes fontes para o ambiente. Além dos compostos orgânicos introduzidos no ambiente via atividades industriais, vários hormônios podem surgir em águas superficiais em função da eliminação destes compostos por muitos seres vivos. Estrogênios naturais ou sintéticos são excretados através da urina em suas formas biologicamente ativas, ou seja, como conjugados solúveis em água e, em menor proporção, por meio das fezes. Sob condições naturais, estes metabólitos podem ser rapidamente hidrolisados, retornando a sua forma original. Sendo assim, as principais fontes de interferentes endócrinos para as águas superficiais são os efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE) ou, no caso de países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, o esgoto bruto despejado nos corpos aquáticos receptores.

A presença de interferentes endócrinos em águas superficiais está diretamente relacionada com a eficiência dos processos de tratamento de efluentes e esgotos, pelo menos em países onde existe esta prática de saneamento. Porém, invariavelmente, muitos interferentes endócrinos ainda são detectados em águas superficiais devido à inadequação dos sistemas de tratamento ou à falta de tratamento de esgotos ou efluentes.

Diante da crescente preocupação com o estado de degradação dos corpos de água superficiais brasileiros, foi feita uma avaliação preliminar da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na Região Metropolitana de Campinas (RMC) quanto aos compostos orgânicos emergentes, incluindo alguns interferentes endócrinos e outros compostos de origem antrópica.

MATERIAL E MÉTODOS

A RMC possui cerca de 2,3 milhões de habitantes distribuídos por dezenove municípios que ocupam 3.673 km² do território paulista. O rio Atibaia é um dos mais importantes mananciais com vistas ao abastecimento público da região. Pertence à bacia do rio Piracicaba, que, juntamente com as bacias dos rios Capivari e Jundiá, forma a Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos 05 (UGRHI-5) do Estado de São Paulo, de acordo com a Lei Estadual 7.663. A Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento S/A (SANASA), empresa responsável pelo gerenciamento de águas e esgotos no município de Campinas, utiliza durante a captação 92% das águas do rio Atibaia e apenas 8% do rio Capivari. Cerca de 98% da população da cidade de Campinas, aproximadamente um milhão de habitantes, é abastecida com água tratada por meio das redes de distribuição, enquanto o restante recebe água potável por meio de caminhões-pipa e torneiras coletivas. A

coleta de esgoto é bastante eficiente, porém o tratamento é inoperante. Aproximadamente 90% da população é atendida por redes de esgotamento, mas apenas 15% do esgoto é tratado. Neste caso, aproximadamente 280.000 m³ de esgoto bruto são descartados diariamente nos rios da região (IBGE, 2002).

Foram selecionados seis pontos de amostragem inseridos na UGRHI-5 (Figura 1). Os três primeiros estão situados no rio Atibaia, e os demais no Ribeirão Anhumas e nos rios Capivari e Jundiá. O primeiro ponto de amostragem (P1) localiza-se na estação de captação de água do município de Atibaia. O segundo ponto (P2) está situado entre os municípios de Campinas e Valinhos, na estação de captação de água das estações de tratamento de água (ETA) 3 e 4 da SANASA. O ponto P3 situa-se no município de Paulínia, a jusante da Refinaria do Planalto Paulista (REPLAN), sobre a ponte da SP-332, no trecho que liga Campinas a Cosmópolis. O ponto P4 está localizado no Ribeirão Anhumas imediatamente a jusante da cidade de Campinas e a montante de sua afluição no rio Atibaia. Sob a Rodovia dos Bandeirantes, na captação de águas da SANASA no rio Capivari, foi estabelecido o ponto P5. O ponto P6 está localizado no rio Jundiá, no município de Indaiatuba.

Em três campanhas amostrais, realizadas em março, junho e agosto de 2006, foram coletadas amostras de águas superficiais, com o auxílio de um balde previamente ambientado com a própria amostra a ser coletada. Cerca de quatro litros de água foram transferidos para frascos de vidro-âmbar previamente limpos. Os frascos foram selados com papel alumínio, tampados e colocados em caixa de isopor para transporte. No laboratório,

alíquotas das amostras foram filtradas em membranas de fibra de vidro com porosidade aproximada de 1,2 µm (Schleicher & Shuell) e de acetato de celulose (0,45 µm). Foi utilizada extração em fase sólida (SPE) empregando-se um litro da amostra filtrada e acidificada até pH ~3. Foram empregados cartuchos contendo 500 mg de poliestireno-divinilbenzeno (HLB Oasis, Waters) previamente condicionados com metanol (nanograde, Mallinckrodt), água deionizada (Milli-Q, Millipore) e água deionizada pH ~3. A eluição dos compostos-alvo foi feita por meio da adição de 12 mL de metanol em cada cartucho, e o extrato final foi seco com nitrogênio até 0,5 mL.

Foi investigada a presença de 15 compostos exógenos nas amostras: dois estrogênios sintéticos (17α-etinilestradiol e levonorgestrel), três estrogênios naturais (estrone, 17β-estradiol, progesterona), cinco xenoestrogênios (4-octilfenol, 4-nonilfenol, dietilftalato, di-n-butilftalato e bisfenol A) e cinco fármacos (ibuprofeno, paracetamol, ácido acetilsalicílico (AAS), diclofenaco e cafeína). A concentração dos compostos foi avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em um equipamento Shimadzu (SCL 10AVP) acoplado a dois detectores: um de ultravioleta com arranjo de fotodiodos (UV/DAD, SPD-M10VP) e um de fluorescência molecular (FL, RF-10A XL). A constituição da fase móvel variou em função do tipo de detecção utilizada. Para identificação dos compostos por UV/DAD foi construído um gradiente de concentração entre água purificada (pH ~3) e acetonitrila (HPLC, JT Baker), enquanto nas análises por FL foi empregada uma relação isocrática (1:1). Em ambos os métodos a vazão foi mantida em 0,8 mL min⁻¹ e o volume injetado foi de 20 µL.

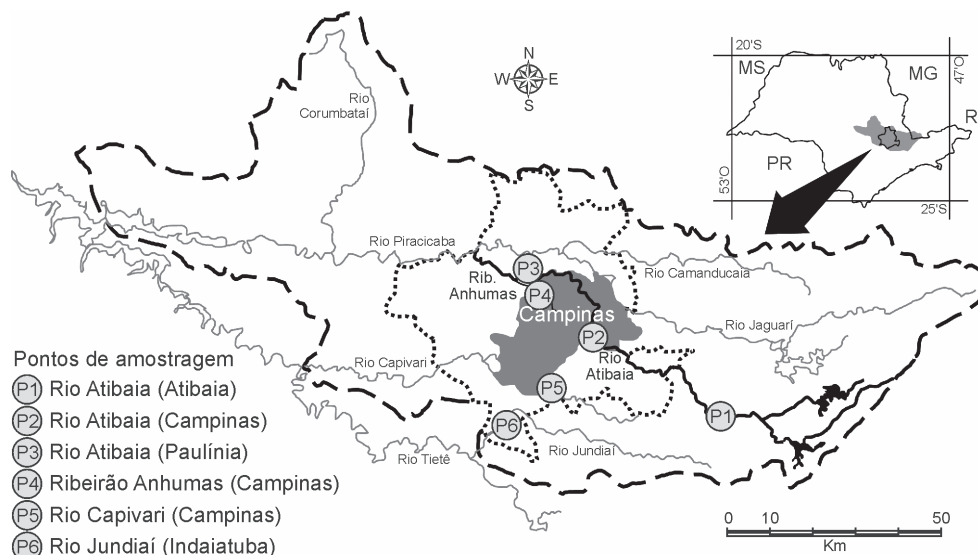


Figura 1 – Localização dos pontos amostrais.

Soluções-estoque dos compostos foram preparadas a partir da medição exata dos padrões (pureza >99%) e da dissolução em metanol. Soluções de trabalho, obtidas por meio da diluição das soluções-estoque, foram armazenadas em refrigerador ($\leq 4^{\circ}\text{C}$) por, no máximo, duas semanas. A quantificação dos compostos foi realizada por meio da construção de curvas analíticas. Os limites de detecção (LD) para cada composto foram obtidos por meio de equações de regressão linear. LD foi calculado por meio da razão entre o desvio-padrão do coeficiente linear e o coeficiente angular da reta multiplicados por 3,3. A Tabela 1 mostra os valores de LD, a faixa linear de trabalho, os coeficientes de correlação de Pearson (R^2), os tempos de retenção e os parâmetros envolvidos na detecção dos compostos por UV/DAD e FL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 mostra as concentrações dos 15 compostos investigados nos seis pontos de coleta em diferentes campanhas amostrais. Em 83% das amostras foram detectadas substâncias consideradas emergentes, tais como fármacos, interferentes endócrinos e indicadores de contaminação fecal, tais como a cafeína e o bisfenol A (Glassmeyer *et al.*, 2005). Resultados similares foram obtidos pelo centro de pesquisas geológicas dos Estados Unidos (USGS) em estudo envolvendo a ocorrência de 95 compostos em 139 corpos de água (Kolpin *et al.*, 2002), evidenciando a relevância dos compostos selecionados neste trabalho. Dentre os quinze compostos analisados, mais de um foi determinado em 66% das amostras. Sete substâncias químicas foram determinadas, ao menos uma vez, nas amostras: cafeína, di-n-butilftalato, bisfenol A, 17β -estradiol, 17α -etinilestradiol, paracetamol e ácido acetilsalicílico. As duas últimas foram determinadas apenas na terceira campanha e somente nas amostras do Ribeirão Anhumas. As concentrações de paracetamol e AAS encontradas neste corpo de água foram $0,84$ e $4,15 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

A presença de fármacos em águas naturais tem sido atribuída ao descarte de esgoto bruto e tratado em ETE (Routledge *et al.*, 1998; Ternes, 1998; Hirsch *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 2002). Neste trabalho, foi observado que no período de menor pluviosidade, mês de agosto, as concentrações de compostos oriundos da atividade antrópica aumentaram devido à ausência do efeito de diluição predominante no verão chuvoso. Por este motivo, tanto o paracetamol quanto o ácido acetilsalicílico foram determinados apenas na terceira campanha.

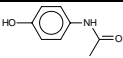


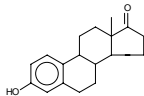
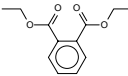
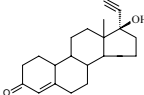
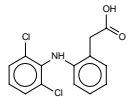
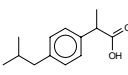
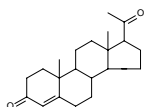
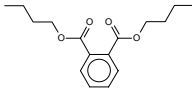
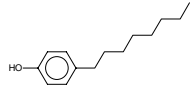
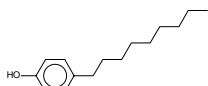
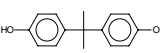
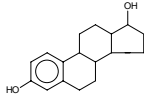
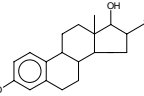
Dentre os cinco compostos mais freqüentes, o di-n-butilftalato foi encontrado em 78% das amostras, seguido da cafeína (61%), do bisfenol A (33%), do 17β -estradiol (28%) e do 17α -etinilestradiol (23%). Os níveis de concentração destes cinco compostos são mostrados na Figura 2, em um gráfico do tipo box-whiskers. Pode-se observar que os níveis dos cinco

compostos variaram em até cinco ordens de magnitude. A menor variabilidade foi verificada para o di-n-butilftalato, cujas concentrações médias e medianas foram de $9,75$ e $6,75 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Este composto foi determinado em todos os pontos amostrais em, pelo menos, uma campanha de amostragem. Os níveis mais elevados deste composto foram determinados nos pontos P1, P4 e P6 durante o período de maior pluviosidade. A ocorrência do di-n-butilftalato no ambiente pode ser consequência de sua lixiviação a partir de materiais plásticos, por meio do descarte de lixo e esgoto e via lançamento de efluentes industriais (Fromme *et al.*, 2002).

A cafeína apresentou valores médios e medianos de $13,1$ e $8,46 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, evidenciando também baixa variabilidade dos dados em função do aporte constante desta substância. A cafeína tem sido reconhecida como uma importante indicadora da contaminação por substâncias antropogênicas (Siegener & Chen, 2002). Foi encontrada em cinco dos seis pontos amostrais, sendo que concentrações mais elevadas foram determinadas no Ribeirão Anhumas, que recebe efluentes provenientes da região mais densamente urbanizada da bacia do rio Atibaia. Além disso, os níveis de concentração encontrados para a cafeína nas águas superficiais da RMC são compatíveis com os teores determinados em amostras de esgoto bruto de países mais desenvolvidos, tais como a Noruega (Weigel *et al.*, 2004), evidenciando o elevado grau de impactação dos rios analisados.

As concentrações de 17α -etinilestradiol variaram de 6 a 310 ng L^{-1} , enquanto para o 17β -estradiol foram determinados valores mínimos e máximos de 38 e 2510 ng L^{-1} , respectivamente. Esta grande variabilidade na concentração justificase em função dos níveis mais baixos determinados para estes compostos. Ambos os estrogênios foram determinados em concentrações mais elevadas durante o período de menor pluviosidade nos pontos P1 e P6. O 17β -estradiol é um dos principais hormônios produzidos no corpo humano, exercendo papel fundamental no controle do ciclo menstrual em conjunto com a progesterona. Sua presença em águas naturais é um forte indício do descarte de esgoto doméstico (Desbrow *et al.*, 1998). O 17α -etinilestradiol é um hormônio sintético utilizado em anticoncepcionais. Apenas 15% da substância é metabolizada no corpo humano; o restante é eliminado pela urina (Ranney, 1977; Maggs *et al.*, 1983). Belfroid e colaboradores (1999) encontraram concentrações médias de 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol de $5,5$ e $4,3 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente, em águas superficiais de Amsterdã, na Holanda. A concentração mais elevada de 17β -estradiol nos rios da RMC é cerca de 700 vezes maior do que a média determinada em amostras de esgoto bruto da Holanda (Vethaak *et al.*, 2005). Nestas mesmas amostras de esgoto, os níveis encontrados de 17α -etinilestradiol são, no mínimo, 60 vezes menores do que os determinados nos pontos P1 e P6 durante o período de estiagem.

Tabela 1 – Características dos 15 compostos orgânicos exógenos investigados neste trabalho.

Composto	Estrutura	<i>m</i>	<i>t_r</i>	Faixa linear	R ²	LD	Deteção
Paracetamol		151,2	7,8	0,10-1,00	0,998	0,050	λ_{abs} : 244
Cafeína		194,2	9,6	0,10-1,00	0,999	0,050	λ_{abs} : 272
AAS		180,2	15,8	0,10-1,00	0,998	0,050	λ_{abs1} : 275 λ_{abs2} : 301
Estrona		270,4	23,9	0,10-1,00	0,999	0,050	λ_{abs} : 280
Dietilftalato		222,2	24,4	0,10-1,00	0,999	0,050	λ_{abs} : 274
Levonorgestrel		312,4	25,4	0,75-2,50	0,999	0,380	λ_{abs} : 241
Diclofenaco		296,2	26,3	0,10-1,00	0,999	0,050	λ_{abs} : 275
Ibuprofeno		206,3	26,9	0,10-1,00	0,999	0,050	λ_{abs1} : 254 λ_{abs2} : 261
Progesterona		314,5	28,9	1,00-5,00	0,999	0,750	λ_{abs} : 240
Di-n-butilftalato		278,3	32,2	0,10-1,00	0,997	0,050	λ_{abs1} : 262 λ_{abs2} : 273
4-octilfenol		206,3	34,6	0,25-2,50	0,999	0,050	λ_{abs} : 278
4-nonilfenol		220,3	36,6	0,25-2,50	0,998	0,130	λ_{abs} : 278
Bisfenol A*		228,3	6,50	0,01-0,80	0,999	0,005	λ_{ex} : 230 λ_{em} : 310
17 β -estradiol*		272,4	7,13	0,01-1,00	0,999	0,005	λ_{ex} : 230 λ_{em} : 310
17 α -etinilestradiol*		296,4	8,08	0,01-1,00	0,999	0,005	λ_{ex} : 230 λ_{em} : 310

*Compostos detectados por fluorescência. *m*: massa molar (g mol^{-1}), *t_r*: tempo de retenção (min), faixa linear em mg L^{-1} , R²: coeficiente de correlação de Pearson, LD: limite de detecção em $\mu\text{g L}^{-1}$, λ_{abs} : comprimento de onda de máxima absorção no ultravioleta (nm), λ_{exc} : comprimento de onda de excitação (nm), λ_{em} : comprimento de onda de emissão de fluorescência (nm).

Tabela 2 – Concentração dos compostos, em $\mu\text{g L}^{-1}$, investigados na bacia do rio Atibaia.

Composto	Mês	Pontos amostrais					
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
Paracetamol	M	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	J	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	A	nd	nd	nd	0,84	nd	nd
Cafeína	M	<LD	<LD	<LD	8,46	<LD	4,61
	J	<LD	<LD	6,04	32,4	10,4	18,3
	A	1,95	<LD	4,08	41,7	5,50	10,3
AAS	M	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	J	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	A	nd	nd	nd	4,15	nd	nd
Estrona	M	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	J	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Dietilftalato	M	–	–	–	–	–	–
	J	–	–	–	–	–	–
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Levonorgestrel	M	–	–	–	–	–	–
	J	–	–	–	–	–	–
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Diclofenaco	M	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	J	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ibuprofeno	M	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	J	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Progesterona	M	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	J	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Di-n-butilftalato	M	<LD	30,1	<LD	14,9	<LD	21,5
	J	–	7,82	9,86	5,67	7,47	6,58
	A	4,89	3,76	6,90	5,83	4,63	6,59
4-octilfenol	M	–	–	–	–	–	–
	J	–	–	–	–	–	–
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4-nonilfenol	M	–	–	–	–	–	–
	J	–	–	–	–	–	–
	A	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Bisfenol A*	M	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	J	<LD	0,015	<LD	–	0,005	0,037
	A	<LD	<LD	0,38	1,76	<LD	<LD
17 β -estradiol*	M	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	J	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	A	<LD	<LD	<LD	2,51	0,038	0,051
17 α -etinilestradiol*	M	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	J	<LD	<LD	0,006	<LD	<LD	0,034
	A	<LD	<LD	<LD	0,3	<LD	0,31

*Compostos detectados por fluorescência. M: março, J: junho, A: agosto; nd: não detectado, LD: limite de detecção.

No caso do bisfenol A, a concentração variou entre 5 e 1760 ng L⁻¹. Mais uma vez, níveis mais elevados foram determinados durante o período de estiagem nos pontos P3 e P4. O bisfenol A surge em águas naturais, principalmente por meio de efluentes industriais, embora também esteja presente em efluentes de ETE. É um composto muito empregado em diversas atividades industriais, atuando como constituinte de várias resinas epóxi. Vem sendo largamente empregado para aumentar a estabilidade, a flexibilidade e a resistência de diversos materiais. No ambiente, este composto apresenta elevada persistência. As concentrações de bisfenol A determinadas em rios da RMC são muito superiores às comumente descritas na literatura. Nakada e colaboradores (2006), por exemplo, detectaram níveis de cerca de 100 ng L⁻¹ em amostras de efluentes de ETE do Japão.

Os cinco compostos mais frequentemente detectados neste trabalho também apresentaram, em sua totalidade, concentrações mais elevadas que aquelas determinadas em amostras de águas superficiais de países mais desenvolvidos

(Belfroid *et al.*, 1999; Kuch & Ballschmitter, 2001; Cargouet *et al.*, 2004; Heisterkamp *et al.*, 2004; Kolodziej *et al.*, 2004; Suzuki *et al.*, 2004; Dorabawila & Gupta, 2005). Nestes países, efluentes de ETE são considerados as principais fontes de aporte de inúmeras substâncias químicas para águas superficiais. Por exemplo, alguns estudos têm demonstrado que até 40% do conteúdo de estrogênios presente no esgoto bruto não é removido por estações de lodo ativado em condições normais de operação (Lee & Peart, 1998; Baronti *et al.*, 2000; Johnson *et al.*, 2000; Nasu *et al.*, 2001). No Brasil, entretanto, pouca atenção é dada ao tratamento de esgotos, uma vez que grande parte do esgoto bruto retorna aos corpos aquáticos superficiais por meio de ligações clandestinas ou redes de esgotamento sanitário (IBGE, 2002). Considerando-se este aspecto, é possível deduzir que as concentrações mais elevadas de cafeína, di-n-butilftalato, bisfenol A, 17β-estradiol e 17α-etinilestradiol, determinadas nos rios da bacia do rio Atibaia, refletem o baixo percentual de tratamento de esgotos da RMC.

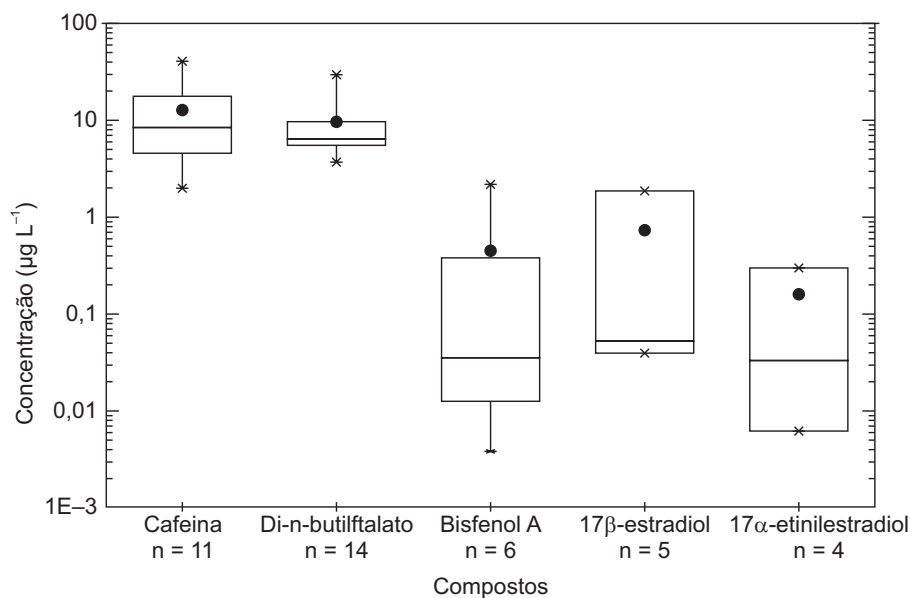


Figura 2 – Concentração dos cinco compostos determinados com mais freqüência nos rios estudados em todas as campanhas de amostragem. A média aritmética é representada pelo círculo preenchido. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 (mediana) e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99%; (–) corresponde aos valores máximos e mínimos; e n indica o número de determinações para cada composto.

Em países mais desenvolvidos, interferentes endócrinos em efluentes de ETE são considerados os principais suspeitos de causar a intersexualidade de peixes em regiões próximas aos pontos de descarte dos efluentes (Jobling *et al.*, 1998). No Brasil, pouquíssimos trabalhos, muitos deles em fase inicial de execução, têm abordado o efeito destas espécies para a biota. A diferença entre o cenário atual envolvendo a RMC e os países mais desenvolvidos, pelo menos em termos da presença de interferentes endócrinos no ambiente, é que no nosso caso, esta questão também pode assumir um papel importante em termos de saúde pública. A possibilidade de transferência destes compostos para as ETA e, conseqüentemente, para a água destinada ao consumo humano deve ser levada em consideração. Alguns trabalhos demonstram que a remoção de interferentes endócrinos nas ETA depende tanto das características intrínsecas de cada composto quanto dos métodos de tratamento. Westerhoff e colaboradores (2005) demonstraram que métodos convencionais, ou seja, contendo apenas etapas de coagulação, sedimentação e filtração, promovem a remoção de menos de 25% da concentração da maioria dos interferentes endócrinos. A presença de uma etapa de cloração, muito comum para desinfecção de águas no Brasil, reduz em 20 a 90% os níveis de concentração, dependendo das características de cada composto.

É importante considerar ainda que a concentração de um interferente endócrino no ambiente deve ser avaliada juntamente com sua potência. Ensaio realizados *in vitro* (Gutendorf & Westendorf, 2001) e *in vivo* (Sohoni *et al.*, 2001; Thorpe *et al.*, 2003) têm demonstrado que os estrogênios, sejam eles naturais ou sintéticos, são de três a quatro ordens de magnitude mais potentes que a maioria dos xenoestrogênios. Portanto, seria um equívoco focalizar toda a atenção naqueles compostos produzidos em grande escala e que estão no ambiente sob concentrações elevadas à custa daqueles menos predominantes, embora mais potentes.

A avaliação integrada dos interferentes endócrinos no ambiente, considerando-se tanto a ocorrência quanto a potência destes compostos, ainda representa um grande desafio em estudos ecotoxicológicos realizados sob condições naturais. Enquanto métodos analíticos voltados para a determinação da concentração destes compostos em matrizes ambientais são bem estabelecidos e continuamente validados, ensaios *in situ* envolvendo a potência dos interferentes endócrinos diante da biota e do homem ainda não são totalmente conclusivos. Alguns ensaios, conduzidos tanto em laboratório quanto em campo, têm demonstrado que concentrações na faixa de ng L^{-1} afetam o desenvolvimento de peixes (Sumpter & Johnson, 2006). Além disso, o impacto dos interferentes endócrinos sobre algumas espécies somente é observado quando os organismos são continuamente expostos. Uma grande quantidade de evidências, muitas delas obtidas a partir de experimentos conduzidos em laboratórios, mas algumas em campo, demonstram que a exposição contínua pode levar a efeitos adversos mesmo quando a concentração do composto for extremamente baixa.

Finalmente, é importante mencionar que os organismos raramente interagem com apenas um interferente endócrino no ambiente. Ao contrário, são expostos simultaneamente a vários compostos com potências variadas, sendo que cada um está presente no meio sob uma concentração única.

Atualmente, muitos estudos têm sido realizados, tanto pela comunidade científica quanto por órgãos e agências ambientais governamentais, enfocando diferentes ângulos do problema, tais como a ocorrência e os efeitos no ambiente, a toxicidade aguda e crônica para a biota e os riscos da exposição dos interferentes endócrinos para a população. Mesmo apresentando concentrações significativas no ambiente, muitos compostos não são incluídos em padrões de potabilidade da água. Poucos são os países que contemplam a presença de algum interferente endócrino na água potável. Tradicionalmente, as regulamentações nesta área enfocam, principalmente, aqueles compostos capazes de provocar efeitos agudos ou o aparecimento de câncer em seres humanos. Entretanto, muitas agências ambientais internacionais têm estabelecido diretrizes para a inclusão de compostos orgânicos que podem causar diferentes tipos de toxicidade, tanto em seres humanos quanto na biota. Por exemplo, em 1996, o congresso americano solicitou à U.S.EPA o desenvolvimento de um programa para definição das substâncias que poderiam apresentar efeitos similares aos dos estrogênios nos seres humanos (Fenner-Crisp *et al.*, 2000). Atualmente, o escopo deste programa envolve também os efeitos de androgênios, hormônios da tireóide e compostos orgânicos sintéticos sobre a atividade endócrina, tanto de seres humanos quanto de animais presentes em diversos ecossistemas. Os resultados obtidos nestes programas deverão ser considerados na inserção de níveis máximos permitidos para interferentes endócrinos na água potável e em alimentos.

CONCLUSÃO

Considerando-se a realidade de saneamento básico da RMC, caracterizada pelo baixo índice de tratamento de esgoto e conseqüente aporte de esgoto bruto nas águas da bacia do rio Atibaia, os resultados mostrados neste trabalho tornam-se fundamentais para a avaliação dessa bacia em relação a uma série de compostos emergentes que recebem pouca atenção no Brasil, mesmo dentro da comunidade científica.

Com a deterioração acentuada da qualidade da água bruta nestes últimos anos, fruto da alta densidade populacional e da inexistência de tratamento adequado de esgoto, recai a dúvida sobre a eficiência das ETA, as quais ainda usam tecnologia simples e convencional, estabelecidas há mais de cem anos. Com base nos resultados obtidos neste trabalho, observam-se não só alterações qualitativas no estado atual da água bruta, mas também quantitativas. Este aspecto, aliado à manutenção da tecnologia empregada nas ETA, evidencia a necessidade de, em curto prazo, implantar novas tecnologias voltadas à eliminação de interferentes endócrinos e fármacos, que podem ser transferidos para a água potável. Como medida preventiva

de longo prazo, é imperativa a implementação de ações que eliminem o descarte de esgoto bruto nos corpos receptores. Devido à importância destas substâncias, sob o ponto de vista ecotoxicológico, é essencial elucidar suas ocorrências nos sistemas aquáticos superficiais, mesmo que a grande maioria ainda não seja contemplada em legislações ambientais. Finalmente, espera-se que os resultados mostrados neste trabalho forneçam bases sólidas para o estabelecimento de valores máximos permitidos para estas substâncias tanto na água bruta quanto na potável.

Agradecimentos — Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo 03/117573).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARONTI, C., CURINI, R., D'ASSENZO, G., DI CORCIA, A., GENTILI, A. & SAMPERI, R., 2000, Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 5059-5065.
- BELFROID, A. C., VAN DER HORST, A., VETHAAK, A. D., SCHAFER, A. J., RIJS, G. B. J., WEGENER, J. & COFINO W. P., 1999, Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Sci. Total Environ.*, 225: 101-108.
- BIRKETT, J. W. & LESTER, J. N., 2003, *Endocrine disruptors in wastewater and sludge treatment processes*. IWA Publishing, Londres, 295p.
- CARGOUET, M., PERDIZ, D., MOUATASSIM-SOUALI, A., TAMISIER-KAROLAK, S. & LEVI, Y., 2004, Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Sci. Total Environ.*, 324: 55-66.
- DAMSTRA, T., BARLOW, S., BERGMAN, A., KAVLOCK, R. & VAN DER KRAAK, G., 2002, *Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors*. International Programme on Chemical Safety, WHO, Geneva, 180p.
- DESBROW, C., ROUTLEDGE, E. J., BRIGHTY, G. C., SUMPTER, J. P. & WALDOCK, M., 1998, Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 1549-1558.
- DORABAWILA, N. & GUPTA, G., 2005, Endocrine disrupter estradiol in Chesapeake Bay tributaries. *J. Hazard Mater.*, 120: 67-71.
- FENNER-CRISP, P. A., MACIOROWSKI, A. F. & TIMM, G. E., 2000, The Endocrine Disruptor Screening Program Developed by the U.S. Environmental Protection Agency. *Ecotoxicology*, 9: 85-91
- FROMME, H., KUHLER, T., OTTO, T., PILZ, K., MULLER, J. & WENZEL A., 2002, Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Res.*, 36: 1429-1438.
- GLASSMEYER, S. T., FURLONG, E. T., KOLPIN, D. W., CAHILL, J. D., ZAUGG, S. D., WERNER, S. L., MEYER, M. T. & KRYAK D. D., 2005, Transport of chemical and microbial compounds from known wastewater discharges: potential for use as indicators of human fecal contamination. *Environ. Sci. Technol.*, 39: 5157-5169.
- GUTENDORF, B. & WESTENDORF, J., 2001, Comparison of an array of in vitro assays for the assessment of the estrogenic potential of natural and synthetic estrogens, phytoestrogens and xenoestrogens. *Toxicology*, 166: 79-89.
- HEISTERKAMP, I., GANRASS, J. & RUCK, W., 2004, Biosay-directed chemical analysis utilizing LC-MS: a tool for identifying estrogenic compounds in water samples. *Anal. Bioanal. Chem.*, 378: 709-715.
- HIRSCH, R., TERNES, T., HABERER, K. & KRATZ, K. L., 1999, Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.*, 225: 109-118.
- IBGE, 2002, *Pesquisa nacional de saneamento básico 2000*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Departamento de População e Indicadores Sociais, Rio de Janeiro, 397p.
- JOBLING, S., NOLAN, M., TYLER, C. R., BRIGHTY, G. & SUMPTER, J. P., 1998, Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 2498-2506
- JOHNSON, A. C., BELFROID, A. & DI CORCIA, A., 2000, Estimating steroid estrogen inputs to activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Sci. Total Environ.*, 256: 163-173.
- JONES, O. A. H., VOULVOULIS, N. & LESTER J. N., 2002, Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Res.*, 36: 5013-5022.
- KOLODZIEJ, E. P., HARTER, T. & SEDLAK, D. L., 2004, Dairy wastewater, aquaculture, and spawning fish as sources of steroid hormones in the aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 6377-6384.
- KOLPIN, D. W., FURLONG, E. T., MEYER, M. T., THURMAN, E. M., ZAUGG, S. D., BARBER, L. B. & BUXTON, H. T., 2002, Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 1202-1211.
- KUCH, H. M. & BALLSCHMITER, K., 2001, Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range. *Environ. Sci. Technol.*, 35: 3201-3206.
- LEE, H. B. & PEART, T. E., 1998, Determination of 17-estradiol and its metabolites in sewage effluent by solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, 81: 1209-1216.
- MAGGS, J. L., GRIMMER, S. F. M., L'E-ORME, M., BRECKENRIDGE, A. M., PARK, B. K. & GILMORE, I. T., 1983, The biliary and urinary metabolites of [3H]17 α -ethynylestradiol in women. *Xenobiotica*, 13: 421-431.
- MELLO-DA-SILVA, C. A. & FRUCHTENGARTEN, L., 2005, Environmental chemical hazards and child health. *J. Pediatr.*, 81: 205-211.
- NAKADA, N., YASOJIMA, M., OKAYASU, Y., KOMORI, K., TANAKA, H. & SUZUKI, Y., 2006, Fate of oestrogenic compounds and identification of oestrogenicity in a wastewater treatment process. *Water Sci. Technol.*, 53: 51-63.
- NASU, M., GOTO, M., KATO, H., OSHIMA, Y. & TANAKA, H., 2001, Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water Sci. Technol.*, 43: 101-108.
- RANNEY, R. E., 1977, Comparative metabolism of 17 α -ethynylesteroids used in oral contraceptives. *J. Toxicol. Environ. Health*, 3: 139-166.
- ROUTLEDGE, E. J., SHEAHAN, D., DESBROW, C., BRIGHTY, G. C., WALDOCK, M. & SUMPTER J. P., 1998, Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 1559-1565.
- SADIK, O. A. & WITT, D. M., 1999, Monitoring endocrine disrupting chemicals. *Environ. Sci. Technol.*, 33: 368-374.
- SIEGENER, R. & CHEN, R. F., 2002, Caffeine in Boston Harbor seawater. *Mar. Pollut. Bull.*, 44: 383-387.

- SOHONI, P., TYLER, C. R., HURD, K., CAUNTER, J., HETHERIDGE, M., WILLIAMS, T., WOODS, C., EVANS, M., TOY, R., GARGAS, M. & SUMPTER, J. P., 2001, Reproductive effects of long-term exposure to bisphenol A in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ. Sci. Technol.*, 35: 2917-2925.
- SUMPTER, J. P. & JOHNSON, A. C., 2005, Lessons learned from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.*, 39: 4321-4332.
- SUZUKI, T., NAKAGAWA, Y., TAKANO, I., YASUDA, K., 2004, Environmental fate of bisphenol A and its metabolites in river water and their xeno-estrogenic activity. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 2389-2396.
- TERNES T. A., 1998, Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.*, 32: 3245-3260.
- THORPE, K. L., CUMMINGS, R. I., HUTCHINSON, T. H., SCHOLZE, M., BRIGHTY, G., SUMPTER, J. P. & TYLER, C. R., 2003, Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 1142-1149.
- U.S.EPA, 1997, *Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis (EPA/630/R-96/012)*. United States Environmental Protection Agency, Washington, 120p.
- U.S.EPA, 2006, *National Primary Drinking Water Regulations*. United States Environmental Protection Agency, <http://www.epa.gov/safewater/mcl.html>, Acessado em novembro de 2006.
- VETHAAK, A. D., LAHR, J., SCHRAP, S. M., BELFROID, A. C., RIJS, G. B. J., GERRITSEN, A., DE BOER, J., BULDER, A. S., GRINWIS, G. C. M., KUIPER, R. V., LEGLER, J., MURK, T. A. J., PEIJNENBURG, W., VERHAAR, H. J. M. & DE VOOGT, P., 2005, An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands. *Chemosphere*, 59: 511-524.
- WEIGEL, S., BERGER, U., JENSEN, E., KALLENBORN, R., THORESEN, H. & HUHNERFUSS, H., 2004, Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. *Chemosphere*, 56: 583-592.
- WESTERHOFF, P., YOON, Y., SNYDER, S. & WERT, E., 2005, Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environ. Sci. Technol.*, 39: 6649 -6663.