

IV-034 - AVALIAÇÃO DA PRESENÇA HORMÔNIOS NO MANANCIAL DE ABASTECIMENTO JOÃO LEITE EM GOIÂNIA-GO**Iara Nunes Cunha**⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Federal de Goiás. Especialista em Educação Ambiental e Desenvolvimento Sustentável pela Universidade Gama Filho – RJ. Mestranda em Engenharia Ambiental no PPGEMA – UFG.

Katia Saavedra del Aguila⁽²⁾

Possui graduação em Biologia pela Universidad Nacional Agraria La Molina (Peru), mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos - USP e doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos-USP. Pós-doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos-USP. Atualmente é professora adjunto da Universidade Federal de Goiás – UFG.

Endereço⁽²⁾: Avenida Universitaria, nº 1488. Qd. 86, sala 7, bloco A, Escola de Engenharia Civil – UFG, Goiânia – GO. CEP-74605-220 – Brasil – Tel: (62)3209-6264. Email: katia.saavedra@gmail.com

RESUMO

Grande parte das doenças que acometem a população mundial é provocada por águas contaminadas por efluentes não tratados adequadamente e por agentes químicos chamados contaminantes emergentes que podem apresentar risco ao ecossistema e a saúde humana. Dentre os contaminantes emergentes, alguns hormônios são considerados desreguladores endócrinos que contêm micropoluentes em nível de ng.L^{-1} e $\mu\text{g.L}^{-1}$ em sua composição e acabam contaminando águas superficiais e de abastecimento público. Em quantidades e proporções diversas, os desreguladores endócrinos, causam efeitos desconhecidos nos animais aquáticos e também nas pessoas que consomem essa água. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença dos hormônios 17β -estradiol, estriol, estrona e 17α -etinilestradiol nas águas do ribeirão João Leite que abastece Goiânia. A determinação dos hormônios foi feita através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, sendo necessária a derivatização previa com o MSTF sendo anotados o tempo e a temperatura de derivatização. A extração e pré concentração dos compostos foi feita por meio de extração em fase sólida (SPE) utilizando cartuchos Oasis® HBL. As amostras de água superficiais foram coletadas no ribeirão João Leite em 5 pontos: na ponte de Teresópolis e no paredão da barragem do reservatório em 4 diferentes profundidades dos meses de abril a julho de 2014. Dentre os compostos monitorados, os hormônios 17β -estradiol, estriol, estrona e 17α -etinilestradiol foram encontrados nas seguintes concentrações: 2,11 a 2,94 ng.L^{-1} de estrona, 1,72 a 6,73 ng.L^{-1} de estriol, 0,52 a 4,69 ng.L^{-1} de 17β -estradiol e 0,21 a 1,25 ng.L^{-1} de 17α -etinilestradiol. Os resultados gerados neste projeto fornecerão informações sobre os níveis de contaminantes presentes no manancial, de forma a subsidiar ações normativas e/ou corretivas na gestão dos serviços de água da ETA de Goiânia.

PALAVRAS-CHAVE: Análise de água, hormônios, SPE, cromatografia gasosa, ribeirão João Leite.

INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural disponível em abundância no planeta (cerca de 70% da superfície), porém o grande problema está relacionado à má distribuição e a baixa qualidade dessa água. Grande parte das doenças que acometem a população são causadas por veiculação hídrica, ocasionada pela falta de coleta e tratamento adequado dos esgotos e pela presença de contaminantes químicos nessa água. A comunidade científica vem chamando a atenção para a presença de micropoluentes em nível de ng.L^{-1} e $\mu\text{g.L}^{-1}$, tais como: os desreguladores endócrinos, fármacos, hormônios, produtos de cuidado pessoal e de limpeza e subprodutos da desinfecção de água potável. Atualmente, há pouco conhecimento sobre os efeitos destes contaminantes em águas superficiais, embora muitos deles sejam classificados como interferentes endócrinos (GLASSMEYER et al., 2005). Os desreguladores endócrinos compreendem uma grande variedade de compostos tanto de origem natural como os hormônios 17β -estradiol, o estriol, a estrona e compostos de origem sintética como o 17α -etinilestradiol, que vêm despertando grande preocupação pois, mesmo em dosagens de nanogramas por litro (ng.L) podem ocasionar efeitos prejudiciais à saúde dos seres humanos e animais (SANTOS et al., 2013). Os

desreguladores endócrinos agem por mecanismos fisiológicos pelos quais substituem os hormônios do nosso corpo, ou bloqueiam a sua ação natural, ou ainda, aumentando ou diminuindo a quantidade original de hormônios, alterando as funções endócrinas (SANTAMARTA, 2001).

Atualmente, atenção especial tem sido dada à presença destes contaminantes em mananciais utilizados para o abastecimento público, bem como na água distribuída à população após tratamento. No Brasil, esta questão reveste-se de importância devido à carência de políticas públicas sobre o tema, bem como, aos baixos índices em tratamento de esgoto, principal vetor de contaminação de águas superficiais e subterrâneas utilizadas como fontes de abastecimento público (JARDIM, 2011). Segundo Jardim (2011), é cada vez mais comum encontrar contaminantes nas torneiras das residências, pois não há uma legislação que obrigue as empresas que distribuem a água retirar essas substâncias tanto do esgoto a ser jogado nos rios, como da água delas captada. Pesquisadores afirmam que a cafeína e outros contaminantes na água acusa contaminação dos mananciais por esgoto e que as estações de tratamento não são eficientes na remoção destes e outros compostos químicos.

O interesse no estudo sobre hormônios é relativamente recente e foi motivado a partir de observações sobre a ocorrência de anormalidades no sistema endócrino de animais submetidos à exposição a alguns compostos orgânicos (RAIMUNDO, 2007). Apesar de pouco estudados, já foi comprovado que muitos desses compostos são lipofílicos persistentes e que causam efeitos a nível bioquímico/molecular com consequências sobre o sistema endócrino, e em alguns casos podendo acarretar em deficiência do sistema imunológico, carcinogênese e mutagenia. Alterações crônicas no desenvolvimento e na reprodução de várias espécies presentes em diferentes compartimentos ambientais têm sido atribuídas à ocorrência de uma grande variedade de substâncias químicas, principalmente em sistemas aquáticos naturais.

Pesquisas em diferentes países relataram a presença de hormônios e fármacos em águas superficiais (TERNES, 1998; STUMP et al., 1999; WINKLER et al., 2001; WEIGEL et al., 2002), e como as ETE não são eficientes na remoção destes resíduos este tipo de contaminação; torna-se mais preocupante já que estes efluentes são lançados diretamente em rios provocando a contaminação das águas superficiais (BAUTITZ, 2006). Outro aspecto a ser considerado, tange sobre a difícil remoção destes compostos no tratamento em ciclo completo de água, sendo grande parte dos hormônios considerados como substâncias recalcitrantes (JONES et al., 2002). O grande progresso na instrumentação analítica nos últimos anos e o desenvolvimento de técnicas de extração mais robustas possibilitaram a detecção e identificação de novos compostos em faixas de concentração mais baixas, contribuindo, assim, para o melhor entendimento do problema de contaminação do meio ambiente (KUSTER et al., 2008 e SODRÉ, 2010).

Efeitos da atividade estrogênica como anomalias no crescimento da concha de mexilhões machos e fêmeas da espécie *Elliptio complanata* foram observados por Gagné et al. (2004). Vários estudos relacionam a poluição ambiental das águas naturais com anomalias no sistema reprodutivo e no desenvolvimento de espécies de animais. A exposição aos desreguladores endócrinos pode ser responsável por alterações fisiológicas e histológicas em animais silvestres e de laboratório, incluindo alterações nos níveis de vitelogenina no plasma sanguíneo, feminização de peixes machos, indução ao hermafroditismo, inibição no desenvolvimento das gônadas e declínio na reprodução (BILA e DEZOTTI, 2007). Em outro estudo feito por Sanchez (2006), os hormônios 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol administrados via hídrica induziram a expressão da vitelogenina em machos de Jundiá (*Rhamdia quelen*), 14 dias após à exposição.

O Ribeirão João Leite é um importante manancial de água que abastece Goiânia entre outras cidades do Estado de Goiás e, recentemente, foram verificadas intensas modificações no uso do solo e disponibilidade de água. O processo para tratamento da água no Brasil é do tipo ciclo completo e em geral não remove contaminantes, sendo necessário o levantamento e quantificação desses compostos para verificar ao que a população está exposta. Neste contexto, a pesquisa foi feita no intuito de avaliar a presença de hormônios com o objetivo de atualizar os conhecimentos sobre a problemática destes no meio ambiente, bem como ressaltar a importância do seu estudo e suas consequências. O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a presença dos hormônios 17 β -estradiol, estriol, estrona e 17 α -etinilestradiol no manancial de abastecimento João Leite em diferentes pontos de coleta nos períodos de chuva e de estiagem. Poucos estudos foram feitos sobre a ocorrência de desreguladores endócrinos em águas destinadas ao abastecimento no Brasil. Em Goiás é bem menor a quantidade de trabalhos envolvendo a determinação de hormônios em águas superficiais demonstrando, assim, a carência de dados na literatura que descrevam as condições dos corpos hídricos deste estado.

MATERIAIS E MÉTODOS

O Ribeirão João Leite é um importante manancial de água que abastece Goiânia entre outras cidades do Estado de Goiás. A Barragem implantada no Ribeirão João Leite, a montante da cidade de Goiânia, junto ao morro do Bálsamo e destina-se ao abastecimento público, sendo a área total do seu reservatório de 129 hm³ e que irá atender 98% da população até 2025. Foram selecionados 5 pontos de amostragem de coleta de água sendo: o ponto 1 localizado na ponte de Terezópolis (estrada para Nerópolis), os pontos 2, 3, 4 e 5 (quadro 1) no paredão da barragem onde foram coletadas amostras de água em 4 profundidades na barragem (figura 1). As amostras foram coletadas a cada 15 dias entre os meses de março a maio de 2014.

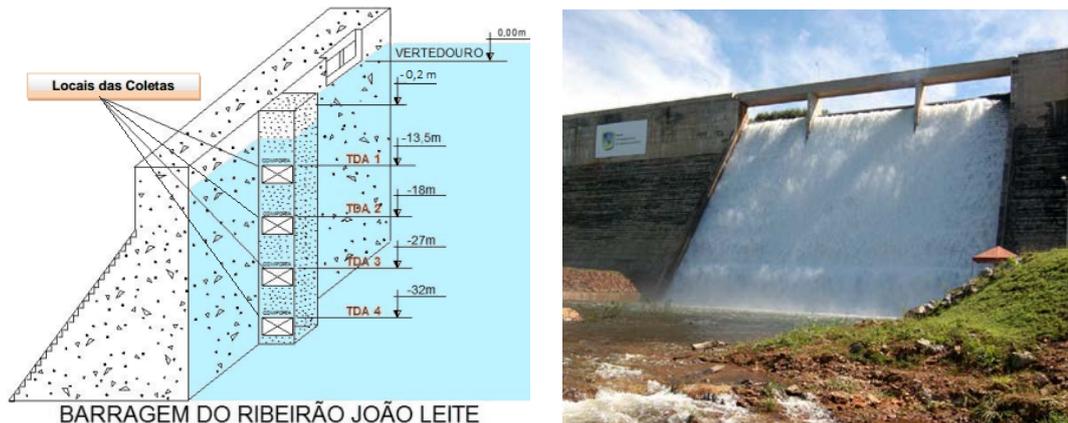


Figura 1: Desenho esquemático das comportas seletivas da barragem e pontos onde serão realizadas as coletas. Desenho arq^a. Debora Lopes de Paula. Adaptado de Carmo (2012)

Quadro 1: Pontos de coleta e suas localizações

Ponto	Referencia	Profundidade	Coordenadas
Ponto 1	Ponte Teresópolis	0,2 m	16°28'24"S e 49°6'43"W
Ponto 2	Paredão da barragem	0,2 m	16°32'31"S e 49°10'13"W
Ponto 3	Paredão da barragem	13 m	
Ponto 4	Paredão da barragem	18 m	
Ponto 5	Paredão da barragem	27 m	

As amostras foram coletadas em diferentes profundidades com o auxílio de uma garrafa de van Dorn com capacidade de 5L e transferidas para garrafas de vidro âmbar com capacidade de 1 L pré-lavadas com água ultrapura. Os frascos foram preenchidos de forma homogênea e colocados em caixas térmicas contendo gelo e mantidas a temperatura de 4°C até serem transportadas ao laboratório para as respectivas análises. No laboratório, alíquotas das amostras foram filtradas em membranas de fibra de vidro com porosidade de 1,2 µm e de 0,45 µm e logo em seguida foram congeladas até o processo de extração em fase sólida (SPE).

A extração e pré concentração dos compostos foi feita empregando-se um litro da amostra filtrada e acidificada até pH 3 por meio de extração em fase sólida (SPE) utilizando cartuchos Oasis® HLB com características lipofílicas e hidrofílicas (0,25 µm, 200 mg, 6mL). Foram empregados cartuchos contendo 500 mg de poliestireno-divinilbenzeno (HLB Oasis, Waters) previamente condicionados com metanol (J.T. BAKER), água deionizada (Milli-Q, Millipore) e água deionizada pH 3. A eluição dos compostos-alvo foi feita por meio da adição de 9 mL de metanol em cada cartucho, e o extrato final foi seco com nitrogênio até 0,5 mL. Foram utilizados padrões de hormônios com pureza mínima de 98% que foram obtidos da Sigma Aldrich. Os solventes orgânicos de grau cromatográfico, metanol (MeOH), acetonitrila (ACN) e acetona foram obtidos da J.T. BAKER. Água deionizada obtida do sistema MILLI-Q.

A concentração dos compostos foi avaliada utilizando um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas da Shimadzu, equipado com uma coluna Restec Rtx-5MS (30mx0,25mmx0,25µm). As condições de análise foram: gás de arraste: hélio, fluxo gás de arraste: 1mL.min⁻¹, volume de injeção: 1µL, modo de injeção:

Splitless, temperatura do injetor: 250° C. 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 ($\leq 4^{\circ}\text{C}$). Os limites de detecção (LD) para cada composto foram obtidos por meio de equações de regressão linear.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas abaixo mostram os resultados obtidos dos parâmetros físico químicos das amostras de água. Dos parâmetros analisados, nenhum se contra fora dos valores máximos admitidos para rio classe 2 (figuras 2 a 7). A temperatura é fator interferente na disponibilidade dos contaminantes emergentes, mas não houve variação considerável nos períodos de coleta (figura 8).

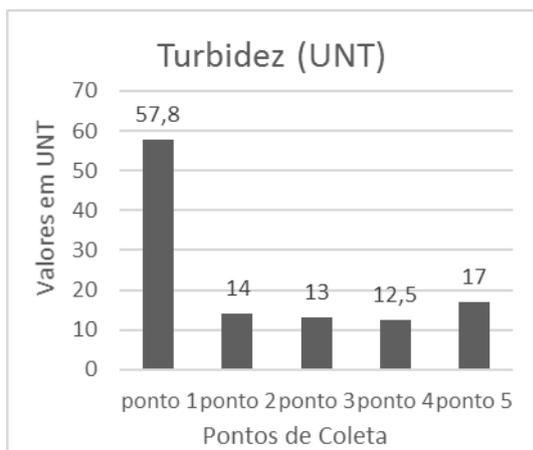


Figura 2: Valores de turbidez nos pontos de coleta

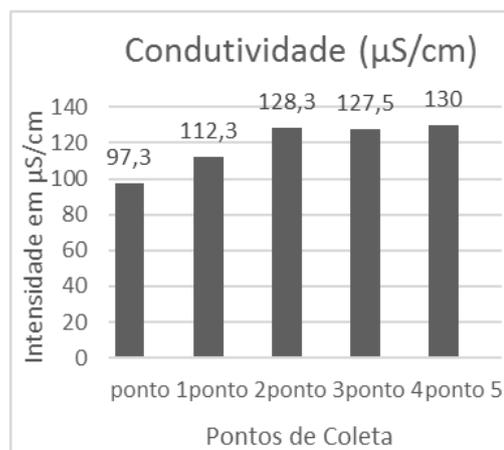


Figura 3: Valores de condutividade nos pontos de coleta

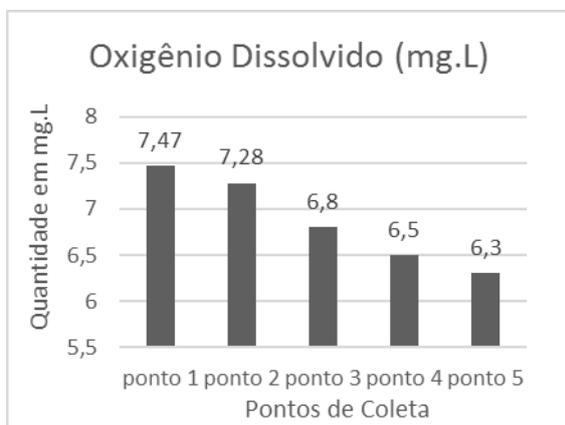


Figura 4: Valores de Oxigênio Dissolvido nos pontos de coleta.

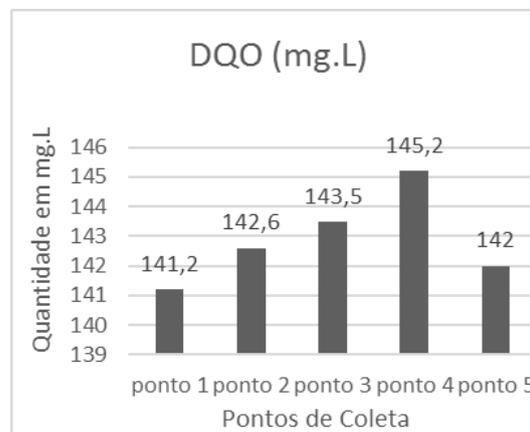


Figura 5: Valores de Demanda Química de Oxigênio nos pontos de coleta.

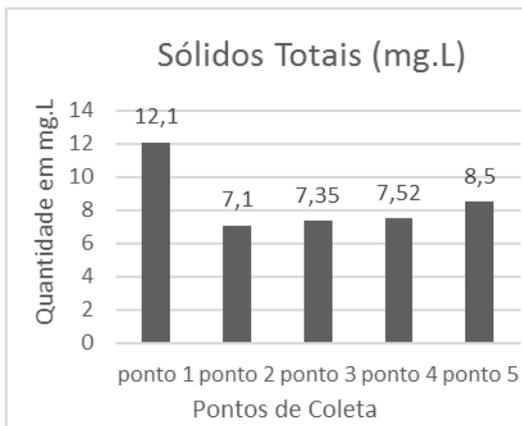


Figura 6: Valores de Sólidos Totais nos pontos de coleta

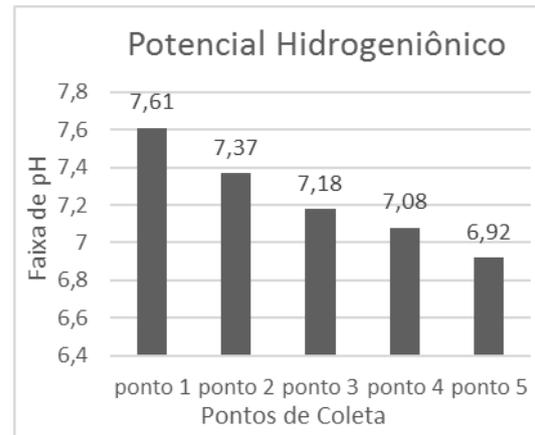


Figura 7: Valores de pH pontos de coleta.

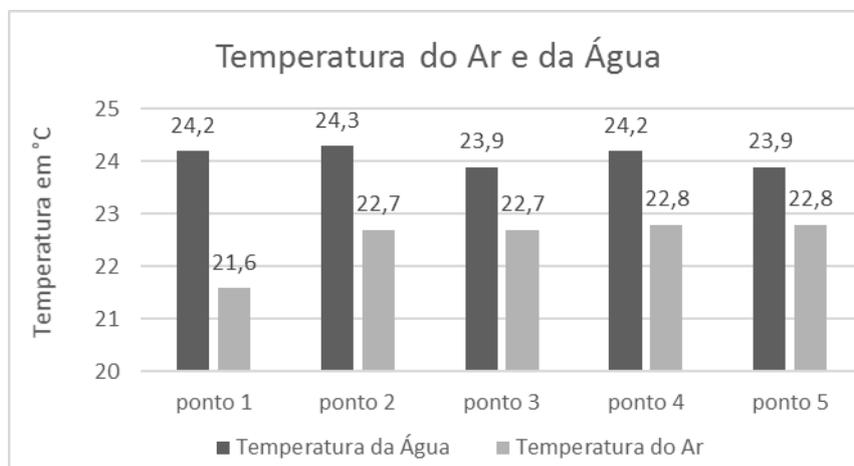


Figura 8: Valores de Temperatura do Ar e da Água nos pontos de coleta.

Foi investigada a presença de 4 hormônios nas amostras: um hormônio sintético (17- α etinilestradiol) e três hormônios naturais (17- β -estradiol, o estriol, a estrona). 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. A presença de hormônios 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). A menor variabilidade foi verificada para o hormônio estrona, cujas concentrações mínimas e máximas foram 0,21 e 3,81 ng.L⁻¹ respectivamente. As concentrações de 17- α etinilestradiol variaram de 0,22 a 5,50 ng.L⁻¹, enquanto para o 17 β -estradiol foram determinados valores mínimos e máximos 0,31 a 4,69 ng.L⁻¹, respectivamente. O estriol variou de 1,39 (concentração mínima) a 6,76 ng.L⁻¹ (concentração máxima). O 17 β -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 17 α -etinilestradiol é um hormônio sintético utilizado em anticoncepcionais. Apenas 15% da substância é metabolizada no corpo humano; o restante é eliminado pela urina (Maggs et al., 1983). Dos hormônios estudados, os valores de menor concentração detectado foi de 0,21 ng.L⁻¹ do hormônio estrona no ponto 2 e o valor máximo de 6,76 ng.L⁻¹ do hormônio estriol no ponto 1 (quadro 2). Dentre os contaminantes estudados, 17 α -Etinilestradiol foi encontrado em 73 % das amostras. Algumas análises e quantificações de hormônios não puderam ser realizados pois o método ainda não havia sido adaptado e otimizado. Outras leituras não puderam ser feitas pois a concentração era menor que o limite de detecção (LD=0,2 ng.L⁻¹).

Quadro 2: Valores médios encontrados nos pontos de coletas nos meses de março, abril e maio de 2014

	Mês	Ponto 1 ng.L ⁻¹	Ponto 2 ng.L ⁻¹	Ponto 3 ng.L ⁻¹	Ponto 4 ng.L ⁻¹	Ponto 5 ng.L ⁻¹
Estrona	Março	<LD	<LD	2,11	2,45	2,99
	Abril	<LD	<LD	<LD	2,43	2,90
	Maio	0,34	0,21	0,64	1,16	3,81
Estriol	Março	NA	NA	NA	NA	NA
	Abril	6,76	5,29	4,39	1,72	4,75
	Maio	4,03	3,26	2,12	1,39	3,08
17 β-estradiol	Março	NA	NA	NA	NA	NA
	Abril	4,69	2,38	1,40	0,53	0,66
	Maio	3,30	2,51	1,51	0,31	0,78
17 α-Etinilestradiol	Março	<LD	<LD	0,28	0,6	1,21
	Abril	<LD	<LD	0,22	0,8	1,27
	Maio	2,95	4,08	2,06	2,70	5,50

Legenda: LD-Limite de Detecção. NA- Não Avaliado. LD=0,2 ng.L⁻¹

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base no trabalho realizado até o momento, foi possível detectar com maior frequência a presença do hormônio 17 α-etinilestradiol nas amostras embora outros compostos também tenham sido identificados com menor frequência como: 17β-estradiol, estriol, estrona. Os procedimentos analíticos se mostraram eficientes para identificação desses contaminantes nas amostras de água. Com mais análises, espera-se poder verificar se há uma correlação entre os parâmetros físico químicos e a presença dos contaminantes. Os resultados deste trabalho servirão como base de informações sobre os níveis de contaminação do reservatório de abastecimento João Leite e possíveis formas de tratamento/ remoção destes hormônios.

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a necessidade de implantar novas tecnologias na ETA que irá tratar essa água a fim de eliminar os interferentes endócrinos e fármacos, que podem ser transferidos para a água potável. 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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUTITZ, I. R. Degradação de tetraciclina utilizando o processo foto-fenton. 2006. 85f. Dissertação (Mestrado em Química) – Inst. de Química, Universidade Estadual Paulista- UNESP, Araraquara, 2006.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. Química Nova, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007
- CARMO, W.G.S.; SAAVEDRA, N.K.A.; SCALIZE, P.S. Tratabilidade da água da barragem do Ribeirão Joao Leite visando remoção de cor, turbidez e compostos orgânicos naturais. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO. 2012
- 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.
- FILLMANN, G. Poluentes Emergentes- O risco da contaminação ambiental pelo desconhecido. FURG – RS, 2009.
- GAGNÉ, F.; BLAISE, C.; HELLOU, J. Endocrine disruption and health effects of caged mussels, *Elliptio complanata* placed downstream from a primary-treated municipal effluent plume for one year. Comparative Bioch. and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, v. 138, n. 1, p. 33-44, 2004
- GLASSMEYER, S.T et al. Transport of chemical and microbial compounds from known wastewater discharge: potential for use as indicators of human fecal contamination. Environmental Science Technology, 39, p.5157-5169, 2005.
- HIRSCH, R., TERNES, T., HABERER, K. & KRATZ, K. L., 1999, Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. Sci. Total Environ., 225: 109-118.

9. JARDIM, W. Entrevista com o professor Wilson Jardim do Instituto de Química da Universidade de Campinas (Unicamp) à FAPESP. Disponível em: <https://www.ecologiamedica.net/2011>. Acessado em dezembro de 2013
10. 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.
11. 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.
12. KUSTER, M.; De ALDA, M. J. L.; HERNANDO, M. D.; PETROVIC, M.; MARTIN-ALONSO, J.; BARCELÓ, D.; *Journal Hydrology*. 2008, 358, 112
13. 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.
14. NASCIMENTO, M. T. L.; BILA, D. M.; NETO, J. A. B.; SANTOS, A. D. O. Avaliação da presença de atividade estrogênica na água da enseada de jurujuba-baía da Guanabara. ABES- Goiânia, GO. 2013.
15. RAIMUNDO, C. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Campinas, SP: 2007.
16. 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
17. SANCHEZ, D. C. O. Desreguladores endócrinos na indução da vitelogenina em peixes nativos. 2006. 55 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Federal do Paraná, 2006
18. SANTAMARTA, José. A ameaça dos disruptores endócrinos. *Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*, Porto Alegre: v.2, n.3, jul.2001
19. SANTOS, E. P. C.C. et al. Avaliação da remoção de etinilestradiol para águas com valores de turbidez de 10 e 100 ut, utilizando o tratamento convencional com pré-oxidação. ABES, Goiânia-GO. 2013
20. SODRÉ, F.F; 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). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol*, v.2, n.2, p. 187-196, 2007
21. SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F.; *Microchemmistry Journal*. 2010.
22. STUMP, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W.; *Science Total Environment*.1999, 225
23. TERNES, T. A.; *Water Research*. 1998, 32, 3245.
24. WEIGEL, S.; KUHLMANN, J.; HÜHNERFUSS, H.; *Science Total Environment*. 2002, 295, 131
25. WINKLER, H.; LAWRENCE, J. R.; NEU, T. R.; *Water Research*. 2001, 35, 3197.