UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

TERESA HATSUE SASAKI

O estado da arte da remoção de fármacos e perturbadores endócrinos em estações de tratamento de água (ETAs) e estações de tratamento de esgoto (ETEs)

SÃO CARLOS

2012

TERESA HATSUE SASAKI

O estado da arte da remoção de fármacos e perturbadores endócrinos em estações de tratamento de água (ETAs) e estações de tratamento de esgoto (ETEs)

Trabalho de Graduação apresentado à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Engenharia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Daniel

São Carlos

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

SS252r
o

Sasaki, Teresa Hatsue
O estado da arte da remoção de fármacos e perturbadores endócrinos em estações de tratamento de água (ETAs) e estações de tratamento de esgoto (ETEs) / Teresa Hatsue Sasaki; orientador Luiz Antonio Daniel. São Carlos, 2012.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2012.

1. remoção. 2. fármacos. 3. perturbadores endócrinos. 4. tratamento de água. 5. tratamento de esgoto. I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato(a): **Teresa Hatsue Sasaki**

Monografia defendida e aprovada em: **28/11/2012** pela Comisão Julgadora:

Prof. Dr. Luiz Antonio Daniel

Profa. Dra. Lyda Patricia Sabogal Paz

Profa. Dra. Eny Maria Vieira

Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

DEDICATÓRIA

Dedico esta monografia ao meu pai Milton Kiyoshi Sasaki. Em homenagem por sua força, carinho, amor, exemplo e inspiração.

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora Aparecida pelas benção dadas.

À minha mãe Fátima Hatsumi Tateishi Sasaki pelo amor, incentivo, apoio e amizade.

Ao prof. Dr. Luiz Antonio Daniel pela orientação, disponibilidade, compreensão e amizade.

À prof. Dr. Eny Maria Vieira pelo apoio, supervisão e disponibilidade pessoal e do seu laboratório durante período de realização de Iniciação Científica.

Aos professores do curso de Engenharia Ambiental da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP) pela minha formação profissional e pessoal.

Às secretárias Rose e Silvana pela disponibilidade e apoio.

Aos alunos de mestrado Natália Fischer e Andressa Bichara e de doutorado Gabriela Oliveira, Marcos Schaaf, Raphael Medeiros, Gabriel Sacchi e Lucas Marcon do Laboratório de Tratamento Avançado e Reúso de Águas (LATAR), pela amizade, apoio, ajuda e ensinamentos.

À técnica do LATAR Maria Teresa Hoffman.

Aos funcionários do Departamento de Hidráulica e Saneamento da EESC-USP.

Ao grupo de Química Analítica Aplicada a Medicamentos e a Ecossistemas Aquáticos e Terrestres do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (IQSC-USP) pela disponibilidade e ensinamentos durante período de realização de Iniciação Científica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica (processo nº 146440/2011-0).

Ao Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa (processo nº 2011/08653-8).

Aos meus colegas de curso Liziane, Eliana, Ana Elisa, Letícia, Ricardo, Henrique, Rafael, Arthur, Kenzo, Fernanda e Eduardo, que se tornaram grandes amigos, pela amizade, compreensão, apoio e momentos de alegria.

Aos meus colegas e aos meus chefes da SHS Consultoria e Projetos em Engenharia pelo apoio e compreensão.

RESUMO

SASAKI, T. H. **O estado da arte da remoção de fármacos e perturbadores endócrinos em estações de tratamento de água (ETAs) e estações de tratamento de esgoto (ETEs).** 2012. 106 f. Trabalho de Graduação – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2012.

O lançamento do esgoto sanitário sem tratamento e do efluente líquido de estações de tratamento de esgoto (ETEs) em águas superficiais expõe seres vivos aos perturbadores endócrinos e fármacos. Esses compostos causam risco à saúde uma vez que interferem no sistema hormonal e são bioativos. As águas superficiais, comumente, no Brasil, são mananciais para produção de água para consumo humano e os sistemas de tratamento de água convencionais não removem esses compostos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência de remoção de fármacos e perturbadores endócrinos por tratamento primário e secundário de esgoto, tratamento convencional de água, cloração, ozonização, processos oxidativos avançados (POA), adsorção em carvão ativado, ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa e biorreator com membranas, considerando o panorama brasileiro em relação ao tratamento de água e esgoto. Devido à presença e aos impactos desses compostos no meio ambiente, faz-se necessária uma legislação que regule suas concentrações nos efluentes e na água para consumo humano além de uma metodologia de detecção e quantificação para o emprego em análises de rotina, viável de ser aplicada em diferentes laboratórios num espaço de tempo adequado para controle de suas concentrações e toxicidade em estações de tratamento de água (ETAs) e ETEs. Considerando-se os estudos existentes e o panorama brasileiro de tratamento de água e esgoto, recomenda-se, atualmente, a utilização de ozonização na remoção de fármacos e perturbadores endócrinos, pois é um processo viável técnica e economicamente de ser aplicado em ETEs e ETAs brasileiras e apresenta alta eficiência de remoção desses compostos.

Palavras-chave: remoção, fármacos, perturbadores endócrinos, tratamento de água, tratamento de esgoto.

ABSTRACT

SASAKI, T. H. **The state of the art of removal of pharmaceutical products and endocrine disruptors in water treatment plants and sewage treatment plants.** 2012. 106 p. Monograph – Engineering School of São Carlos, São Paulo University, São Carlos, SP, 2012.

The untreated sewage and effluent from sewage treatment plants (STPs) discharge in surface water exposes living beings to pharmaceuticals and endocrine disruptors. These compounds cause health risks since they interfere with the hormonal system and are bioactive. Surface waters in Brazil are commonly springs for drinking water production and conventional water treatment systems don't remove these compounds. Therefore, this study aimed to evaluate the efficiency of removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors by primary and secondary sewage treatment, conventional water treatment, chlorination, ozonation, advanced oxidation processes (AOP), adsorption on activated carbon, ultrafiltration, nanofiltration, reverse osmosis and membrane bioreactor, considering the Brazilian panorama regarding water and sewage treatment. Due to the presence and impact of these compounds in the environment, it's required some legislation to regulate their concentrations in effluents and drinking water, as well as a detection and quantification methodology to be used in in routine analysis, feasible to be applied in different laboratories within a proper time to control their concentrations and toxicity in water treatment plants (WTPs) and STPs. Considering the existing studies and the Brazilian panorama regarding water and sewage treatment, it is recommended, nowadays, the use of ozonation in removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors, since this process is technically and economically feasible to be applied in Brazilian STPs and WTPs and it has a high removal efficiency of these compounds.

Keywords: removal, drugs, endocrine disrupters, water treatment, sewage treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula dos fármacos mais relevantes (GHISELLI, 2006) 22
Figura 2 – Fórmulas dos interferentes endócrinos abordados (BIRKETT E LESTER, 2003) 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas dos fármacos mais relevantes (WESTERHOFF *et al.*, 2005) 23
Tabela 2 – Excreção diária (µg) per capita de estrogênios por humanos (JOHNSON *et al.*, 2000) 32
Tabela 3 – Propriedades físico-químicas dos interferentes endócrinos abordados (WESTERHOFF *et al.*, 2005) 36
Tabela 4 – Quantidade de perturbadores endócrinos e fármacos encontrada em águas naturais 51
Tabela 5 – Quantidade de perturbadores endócrinos e fármacos encontrada em efluentes de ETE 55
Tabela 6 – Quantidade de perturbadores endócrinos e fármacos encontrada em água potável 56
Tabela 7 – Atividade estrogênica encontrada em águas naturais e possíveis substâncias responsáveis pela atividade estrogênica 57
Tabela 8 – Remoção de estrógenos e fármacos em sistemas de lodos ativados e por processo anaeróbio/anóxico/óxico 68
Tabela 9 – Remoção de atividade estrogênica em sistemas de lodos ativados e possíveis substâncias responsáveis pela atividade estrogênica 70
Tabela 10 – Remoção de estrógenos e fármacos por processos utilizados no tratamento convencional de água 72
Tabela 11 – Remoção de estrógenos e fármacos por cloração 75
Tabela 12 – Remoção de atividade estrogênica por cloração 76
Tabela 13 – Remoção de estrógenos e fármacos por ozonização 79
Tabela 14 – Remoção de atividade estrogênica por ozonização e possível substância responsável pela atividade estrogênica 80
Tabela 15 – Remoção de estrógenos e fármacos por processos oxidativos avançados (POA) 83
Tabela 16 – Remoção de atividade estrogênica por processos oxidativos avançados (POA) . 84
Tabela 17 - Remoção de estrógenos por adsorção em carvão ativado 86
Tabela 18 – Remoção de estrógenos e fármacos em biorreatores com membrana, por ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa 88

Tabela 19 – Remoção de atividade estrogênica em biorreatores com membrana e possíveis substâncias responsáveis pela atividade estrogênica 91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/A/O	Anaeróbio/anóxico/óxico
A/M	Alimento/microrganismo
AAS	Ácido acetilsalicílico
Al	Íon de alumínio
ANA	Agência Nacional de Águas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BLYES	*Bioluninescent yeast estrogen assay*
BSTFA	Bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida
C18	Octadesilsilano
CAG	Carvão ativado granular
CAP	Carvão ativado em pó
CdS	Sulfeto de cádmio
CETESB	Agência Ambiental de São Paulo
Cl_2	Cloro
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT	Carbono orgânico total
DAD	Detector por arranjo de diodos
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DNA	*Deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)
EDSP	*Endocrine Disruptor Screening Program*
EDSTAC	*Endocrine Disruptor Screening and Testing and Advisory Committee*
EEQ	*Estradiol equivalent*
EESC	Escola de Engenharia de São Carlos
ELISA	*Enzyme linked immunonosorbent assay*
ELL	Extração líquido-líquido
ESI	Ionização por spray de elétrons
ETA	Estação de tratamento de água
ETE	Estação de tratamento de esgoto

EU	União Europeia
FAPESP	Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
Fe	Íon de ferro
Fe_2O_3	Óxido de ferro (III)
FID	*Flame ionization detector*
Flu	Detector de fluorescência
FSH	Hormônio estimulador do folículo
GC	Cromatografia gasosa
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HPO_4^{2-}	Íon hidrogenofosfato
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IPCS	*International Program of Chemical Security* (Programa Internacional de Segurança Química)
IQSC	Instituto de Química de São Carlos
LATAR	Laboratório de Tratamento Avançado e Reúso de Águas
LC	Cromatografia líquida
LD	Limite de detecção do método
LH	Hormônio luteinizante
Log	Logaritmo
LQ	Limite de quantificação do método
LSC	*Liquid scintillation conter*
LYES	*Yeast estrogen screen-assay assisted by enzymatic digestion with lyticase*
MBTFA	N-metilbis(trifluoroacetamida)
MON	Material orgânico natural
MS	Espectrômetris de massas
ND	Não detectado
NE	Não encontrado
NH_4^+	Íon amônio
O_3	Ozônio
OECD	*Organisation for Economic Co-operation and Development* (Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento)
OH^-	Radical hidroxila

PM	Peso molecular
POA	Processos oxidativos avançados
PTFE	Politetrafluoroetileno
PVC	Cloreto de polivinila
RE	Resolução
RIE	Radio-imuno ensaio
RMC	Região Metropolitana de Campinas
SPE	Extração em fase sólida
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TiO_2	Dióxido de titânio
UASB	Reator anaeróbio de manta de lodo
UPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência
USEPA	*United States Environmental Protection Agency* (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
VTG	Vitelogenina
WHO	*World Healthy Organization* (Organização Mundial da Saúde)
WO_3	Trióxido de tungstênio
YES	*Yeast estrogen screen*
ZnO	Óxido de zinco
ZnS	Sulfeto de zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

L	litro
ng	nanograma
mg	miligrama
K_{OW}	coeficiente de partição octanol-água
µg	micrograma
g	grama
mmHg	milímetro de mercúrio
nm	nanômetro
mL	mililitro
^{o}C	graus Celsius
-	não analisado ou não informado
dm^3	decímetro cúbico
nM	nanomolar
W	Watt
mW	miliWatt
mM	milimolar
cm^2	centímetro quadrado
cm^3	centímetro cúbico
µM	micromolar
h	hora
min	minuto
mJ	miliJoule
rpm	rotação por minuto
mm^2	milímetro quadrado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17
2 FÁRMACOS 19
3 PERTURBADORES ENDÓCRINOS 24
3.1 EXPOSIÇÃO, AÇÃO E EFEITOS DOS PERTURBADORES ENDÓCRINOS NO MEIO AMBIENTE E NA SAÚDE HUMANA 24
3.2 COMPOSTOS CLASSIFICADOS COMO PERTURBADORES ENDÓCRINOS 30
4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E PERTURBADORES ENDÓCRINOS E PARA DETECÇÃO DE ATIVIDADE ESTROGÊNICA 38
4.1 CROMATOGRAFIA 39
4.2 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS 41
4.3 ENSAIOS *IN VITRO* PARA DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ESTROGÊNICA 43
4.4 ENSAIOS *IN VIVO* PARA DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ESTROGÊNICA 45
5 POLUIÇÃO DAS ÁGUAS E LEGISLAÇÃO SOBRE FÁRMACOS E PERTURBADORES ENDÓCRINOS 48
6 TRATAMENTO DE ÁGUA E ESGOTOS E PANORAMA BRASILEIRO 60
7 PROCESSOS, OPERAÇÕES UNITÁRIAS E TRATAMENTOS PARA DEGRADAÇÃO OU REMOÇÃO DE FÁRMACOS E PERTURBADORES ENDÓCRINOS E INTERRUPÇÃO DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA 65
7.1 TRATAMENTO PRIMÁRIO E SECUNDÁRIO DE EFLUENTES SANITÁRIOS 65
7.2 TRATAMENTO CONVENCIONAL DE ÁGUA 71
7.3 CLORAÇÃO 74
7.4 OZONIZAÇÃO 77
7.6 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS (POA) 81
7.7 ADSORÇÃO EM CARVÃO ATIVADO 85
7.8 ULTRAFILTRAÇÃO, NANOFILTRAÇÃO, OSMOSE REVERSA E BIORREATOR COM MEMBRANA 87
8 CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES 92
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 96

1 INTRODUÇÃO

Apesar do aumento significativo do número de cidades brasileiras que possuem sistema de tratamento de esgoto, o efluente líquido desse tratamento é lançado em rios, córregos e águas superficiais, do mesmo modo que o esgoto sanitário sem tratamento. Essa prática expõe humanos e animais aos perturbadores endócrinos e aos fármacos, pois esses compostos não são completamente degradados ou inativados após o processo de tratamento (ZORITA *et al.*, 2009). O aporte de esgoto sanitário é praticamente constante ao longo do ano, porém no período de menor pluviosidade, as concentrações de compostos oriundos da atividade antrópica aumentam devido à ausência do efeito de diluição promovido pela alta pluviosidade predominante no verão (RAIMUNDO, 2007).

A maioria dos compostos farmacêuticos presentes na formulação de medicamentos, como os antibióticos, analgésicos e anti-inflamatórios, reguladores lipídicos, antiepiléticos e contraceptivos orais, após serem consumidos, são total ou parcialmente metabolizados e excretados pelo organismo. Perturbadores endócrinos são componentes de produtos de uso doméstico e industrial, podendo, assim, ser encontrados no esgoto, efluente e lodo biológico de estações de tratamento de esgoto (ETEs). Também podem ser liberados naturalmente através da urina pela população.

Muitos compostos orgânicos presentes nos corpos d'água, embora não contemplados nas legislações ambientais brasileiras necessitam ser avaliados por apresentarem elevada toxicidade. Perturbador endócrino é uma substância exógena que interfere no funcionamento do sistema hormonal de um organismo ou de seus descendentes, portanto pode por em perigo à sobrevivência de espécies inteiras (SANTAMARTA, 2001). De acordo com Baronti *et al.* (2000), os efeitos e os riscos associados à presença de substâncias químicas com atividade estrogênica em águas de superfície estão relacionados às funções endócrinas e reprodutivas em peixes selvagens, como, por exemplo, a feminização de peixes machos.

Em relação à exposição de humanos e animais aos perturbadores endócrinos, as maiores preocupações são: possibilidade de produção de efeitos tóxicos em baixas concentrações, identificação das substâncias associadas aos efeitos tóxicos a baixas concentrações, presença dessas substâncias em concentrações ambientalmente relevantes que possam ser uma ameaça à saúde de animais e humanos, identificação de uma concentração limiar abaixo da qual as substâncias químicas podem ser consideradas como seguras, ensaios

que possam fornecer ferramentas para o entendimento do mecanismo de ação dos perturbadores endócrinos e utilização desses ensaios em larga escala para monitorar os efeitos no meio ambiente.

Diversos fármacos como o ácido acetilsalicílico (AAS), a cafeína, o diclofenaco, e ainda hormônios naturais e sintéticos tem sido encontrados em amostras de esgotos sanitários tratados, águas superficiais e em água potável. Efluentes sanitários brutos e tratados, que são lançados em corpos d'água, podem ser considerados como fonte antrópica importante de fármacos e esteroides sexuais. A presença desses compostos em água potável é devido à sua presença no manancial. Assim, para os seres humanos, a ingestão de água potável contaminada por fármacos e interferentes endócrinos é uma importante fonte de exposição a esses compostos, uma vez que várias destas substâncias não são totalmente destruídas durante os processos empregados nas estações de tratamento, tanto de água como de esgoto.

Devido à presença e aos impactos desses compostos no meio ambiente, faz-se necessária uma legislação que regule suas concentrações nos efluentes e na água para consumo humano além de uma metodologia de detecção e quantificação para o emprego em análises de rotina, viável de ser aplicada em diferentes laboratórios num espaço de tempo adequado para controle de suas concentrações em estações de tratamento de água (ETAs) e ETEs.

O objetivo deste trabalho é, através da revisão da literatura, sugerir processos, operações unitárias e tratamentos para degradação de fármacos e perturbadores endócrinos e interrupção da atividade estrogênica que sejam viáveis para aplicação em ETAs e ETEs. Desse modo, serão abordados os principais fármacos devido à quantidade consumida e hormônios eliminados pela urina e fezes dos seres humanos, cujo destino, após coleta e tratamento, frequentemente é um manancial para produção de água para abastecimento público, já que pequenas concentrações desses compostos podem comprometer o sistema endócrino de animais e seres humanos, além de serem substâncias potencialmente cancerígenas.

2 FÁRMACOS

Os fármacos abrangem um grupo bastante diversificado de compostos, de uso interno ou externo, compreendendo princípios-ativos utilizados na formulação de medicamentos de aplicação veterinária, em seres humanos e plantas, como anti-inflamatórios não esteroidais e estimulantes. São bastante bioativos, muitos deles polares e opticamente ativos, e na maioria das vezes, quando presentes no meio ambiente, ocorrem em baixíssimas concentrações, na faixa de $\mu g\ L^{-1}$ e $ng\ L^{-1}$.

A presença de produtos farmacêuticos em matrizes ambientais como nos efluentes, nas águas superficiais e subterrâneas, e menos frequentemente em água potável, juntamente aos hormônios esteroides, foi identificada e primeiramente relatada por Ternes (1998). Suspeitava-se que estes compostos poderiam estar no meio ambiente através de várias rotas, como pelo aporte de esgotos sanitários tratados e não tratados nos corpos d'água. A ocorrência de fármacos em águas superficiais tornou-se mais evidente nas duas últimas décadas devido basicamente ao aperfeiçoamento das metodologias analíticas, permitindo ou facilitando a detecção de baixas concentrações destes compostos (DAUGHTON, 2001).

Uma vez administrados, alguns fármacos são completamente metabolizados pelo organismo, tornando-se, assim, inativos. Entretanto, cerca de 50 a 90% dessas substâncias originais e seus metabólitos são excretados nas fezes e urina, sendo que o seu principal destino é o esgoto sanitário (MULROY, 2001). Durante os processos de tratamento das ETEs, os fármacos excretados como moléculas polares conjugadas são transformados nos fármacos originais, sendo, assim, lançados no ambiente aquático (REDDERSEN *et al*., 2002). Alguns fármacos podem ser persistentes no meio ambiente e não são completamente removidas nas ETEs, pois são lipofílicos, frequentemente apresentando baixa biodegradabilidade (CHRISTENSEN, 1998). Pouco se conhece sobre o comportamento e o destino dos fármacos no meio ambiente, que dependem de suas propriedades físico-químicas e concentrações médias presentes no meio ambiente. Como alguns fármacos resistem aos processos convencionais de tratamento de água, estes são ingeridos pela população (STUMPF *et al*., 1999; TERNES, 1998).

As águas subterrâneas podem ser contaminadas com fármacos pela infiltração de águas superficiais contendo fármacos, bem como pelo chorume proveniente de aterros sanitários. Pelo fato de alguns fármacos serem solúveis em água e terem baixa afinidade com

o solo, muitas dessas substâncias migram rapidamente para as águas subterrâneas (BILA, 2005).

Dois problemas ambientais relacionados à presença de fármacos no meio ambiente são amplamente discutidos. O primeiro é a mudança do material genético de bactérias, que adquirem resistência aos antibióticos devido ao uso desenfreado. O segundo são efeitos danosos ao sistema endócrino dos animais pelo 17α-etinilestradiol, um fármaco muito usado como contraceptivo oral classificado como perturbador endócrino. Os fármacos são desenvolvidos para alterar processos fisiológicos ou bioquímicos nos organismos de animais e humanos, muitas vezes em baixas doses e com um objetivo específico, sendo assim, as implicações para a saúde humana devido a sua presença no meio ambiente devem ser avaliadas, uma vez que não estão claros quais organismos são afetados e em que grau (BILA, 2005).

Segundo Stumpf *et al*. (1999), os fármacos mais frequentemente detectados em amostras de efluentes de ETEs, águas superficiais e água potável foram o ácido clofíbrico, ibuproprofeno, diclofenaco, bezafibrato e naproxeno. A concentração média nos efluentes de ETE, da maioria dos fármacos investigados, foi de 0,1 a 1,0 μgL-1. Nos rios, as concentrações médias ficaram entre 0,02 e 0,04 μg L^{-1}, como consequência da incompleta remoção dos fármacos individuais durante sua passagem pela ETE e pelo descarte de esgoto *in natura*. A taxa de remoção de fármacos individuais durante a passagem pela ETE variou de 12 a 90%.

Dentre os fármacos, muitos compostos são utilizados como analgésicos, anti-inflamatórios e antitérmicos. Por exemplo, diclofenaco e ibuprofeno são poderosos agentes não esteroides usados no combate à febre e para o alívio de dores em geral, como antigripais, no tratamento de reumatismo etc. O diclofenaco é um fármaco utilizado principalmente na forma sódica, persistente e altamente estável sob as condições de operação utilizadas nas ETEs. Foram detectados em mais de 50% dos efluentes municipais na Alemanha em concentrações de aproximadamente 2,5 μg L^{-1}, sendo que apenas 20% de remoção foi observada para este composto após o tratamento do esgoto (HEBERER, 2002; RAVINA *et al*., 2002).

O ibuprofeno é o terceiro medicamento mais utilizada no mundo, administrada em elevadas quantidades, cuja dose terapêutica está entre 600 e 1200 mg. Pode ser encontrado em duas formas enantioméricas, mas seu efeito farmacológico é dado exclusivamente na forma enantiomérica S (ativa), ainda que tal composto seja administrado como uma mistura racêmica. Algumas pesquisas mostraram que no organismo humano e no de outros mamíferos pode ocorrer a inversão quiral da forma enantiomérica R (inativa) para a forma enantiomérica

S. Embora esta última forma seja excretada em maior quantidade que a forma R, ela degrada mais rapidamente quando presente nos efluentes sanitários e nas águas superficiais. Apenas 15% do ibuprofeno ingerido é eliminado na forma original, enquanto que 26 % são excretados nas formas hidroxi-ibuprofeno e 43% como carboxi-ibuprofeno. Estes dados têm importante implicação na toxicidade deste composto frente aos organismos aquáticos, incluindo a possibilidade de intervenção no sistema endócrino (BUSER *et al*., 1999; WEIGEL *et al*., 2004).

Buser *et al.* (1999) mostraram que, embora o ibuprofeno tenha sido facilmente degradado nas amostras de esgoto provenientes das ETEs avaliadas, o diclofenaco e ácido clofíbrico foram mais resistentes a este tipo de tratamento. Por outro lado, em águas naturais como lagos e rios, o diclofenaco foi facilmente eliminado sob radiação solar, mostrando que o mecanismo de degradação mais provável para a eliminação *in situ* deste composto é a fotodecomposição. O ácido clofíbrico mostrou ser o mais persistente dentre os três compostos avaliados (BUSER *et al*., 1998a; BUSER *et al*., 1998b).

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é uma das substâncias mais consumidas no mundo e pode ser encontrada em diversos produtos como os alimentícios (chá, café, erva-mate, pó de guaraná, bebidas como os refrigerantes a base de cola, condimentos etc.), tabaco, medicamentos do tipo analgésico, contra a gripe e inibidores de apetite, dentre outros. As xantinas são substâncias capazes de estimular o sistema nervoso, produzindo um estado de alerta de curta duração (GARDINALI e ZHAO, 2002). Estudos têm mostrado que entre 3 e 10% deste composto não á absorvido pelo organismo e é excretado na urina. Em adição, uma grande quantidade de produtos alimentícios contendo cafeína é descartada nas residências e estabelecimentos comerciais, fazendo com que esteja presente nos efluentes sanitários. Em ETEs, a cafeína é lentamente metabolizada pela bactéria *Pseudomonas putida*. A presença deste composto no meio ambiente, principalmente nas águas naturais, é sobretudo de origem antrópica. Embora a cafeína não seja considerada uma substância suspeita de causar alteração no sistema endócrino, e também não se conheça seu efeito à biota, em alguns casos foi associada com elevadas concentrações de nitrato no meio aquático (CHEN *et al*., 2002). É bastante utilizada em estudos ambientais como um traçador de contaminação fecal, de atividade humana e da contaminação por nitrato (KOLPIN *et al*., 2002).

Os compostos paracetamol, dipirona e AAS também possuem ação analgésica, antitérmica e anti-inflamatória e estão comumente presentes em uma infinidade de formulações de medicamentos, principalmente os não prescritos. O paracetamol tem sido

encontrado em afluentes de ETEs e, em menor concentração, em águas superficiais de diversos países. Embora facilmente degradado no meio aquático, o AAS foi detectado em 22 dos 49 afluentes de ETEs analisados na Alemanha em concentrações de até 1,5 μg L^{-1}, e nos rios, em concentrações até 0,34 μg L^{-1}. (TERNES, 1998). Entretanto, há pouca informação disponível na literatura em relação à ocorrência de efeitos ecotoxicológicos destes compostos no meio ambiente.

Portanto, nas ETEs, há três destinos possíveis para qualquer fármaco individual: (1) pode ser biodegradado, sendo mineralizado a gás carbônico e água, como, por exemplo, o AAS; (2) pode ser metabolizado ou ser parcialmente degradado, como o ibuprofeno; (3) ou pode ser persistente como o diclofenaco. Pouco se conhece sobre as rotas de degradação dos fármacos no ambiente, mas sabe-se que os esgotos sanitário e hospitalar são as principais fontes de contaminação, sobretudo de matrizes aquáticas. Raimundo (2007) não observou atividade estrogênica para o ibuprofeno, o AAS, o paracetamol e o diclofenaco, mas afirma que a maneira como a concentração deles no meio vem aumentando é preocupante. A Figura 1 ilustra as fórmulas estruturais dos fármacos relevantes devido à quantidade consumida.

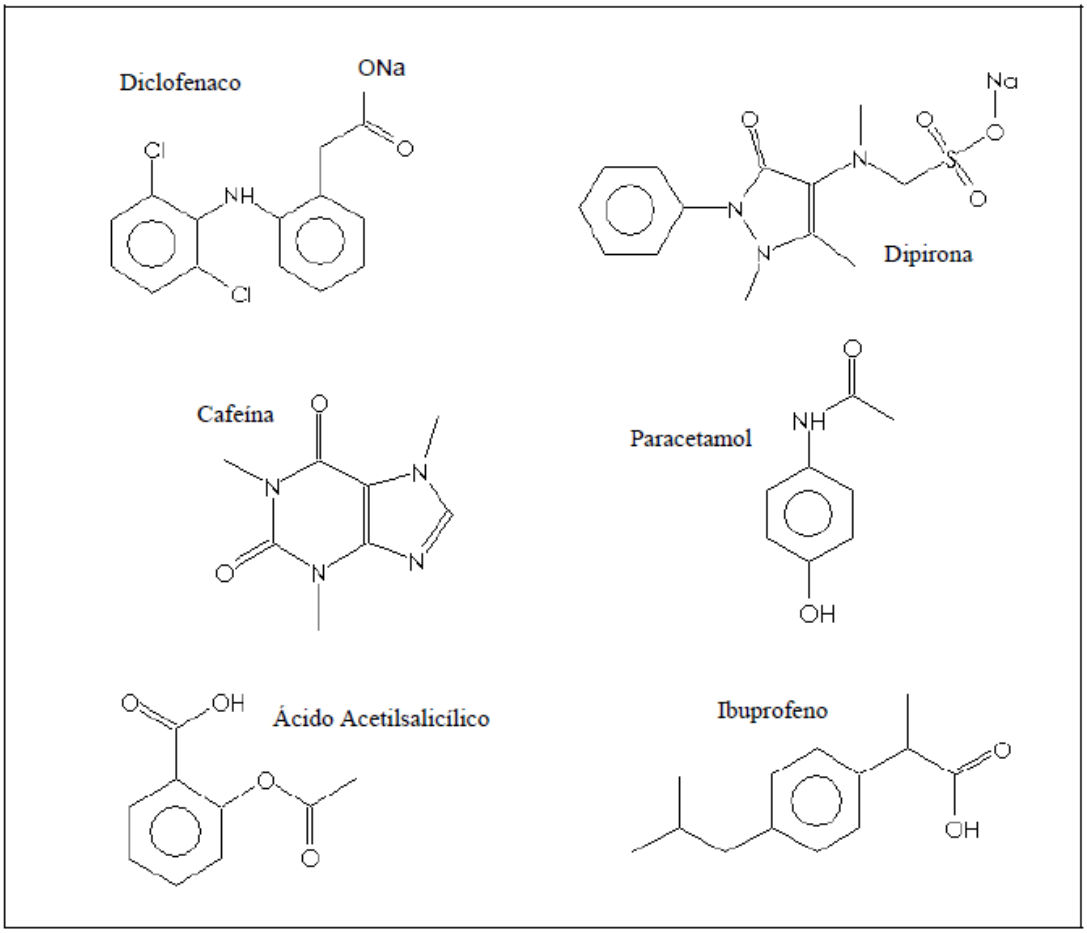

Figura 1 – Fórmula dos fármacos mais relevantes (GHISELLI, 2006)

Na Tabela 1, estão apresentadas algumas propriedades físico-químicas dos fármacos abordados anteriormente. Os valores de pKa correspondem às constantes de ionização ácida, enquanto que K_{OW} é o coeficiente de partição octanol-água dado em escala logarítmica decimal, representando o grau de hidrofobicidade de um determinado composto, bastante utilizado para inferir o fator bioconcentração.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas dos fármacos mais relevantes (WESTERHOFF *et al*., 2005)

Composto	**PM (g/mol)**	**Solubilidade em Água (mg L^{-1})**	**pKa**	**Log K_{OW}**
AAS	180,16	3.300	3,5	1,19
Ibuprofeno	206,28	21	4,9	3,97
Paracetamol	151,17	NE	9,4	0,46
Cafeína	194,19	21.700	10,0	< 0
Dipirona	351,36	667.000	NE	NE
Diclofenaco	318,13	9.000	4,2	0,70

PM = peso molecular
NE = não encontrado
AAS = ácido acetilsalicílico
K_{OW} = coeficiente de partição octanol-água

A cafeína e o paracetamol são exemplos de compostos com valores de pKa elevados, acima de 9, e log K_{OW} entre 0,01 e 0,5, apresentam alta solubilidade em água, por isso são encontrados em maiores concentrações em matrizes aquáticas. Os fármacos AAS, diclofenaco e ibuprofeno são compostos de natureza hidrofílica, que tendem a se dissociar mais facilmente em meio aquoso. Os fármacos estudados dificilmente se bioacumulam, pois apresentam baixa afinidade com tecidos gordurosos.

3 PERTURBADORES ENDÓCRINOS

3.1 Exposição, ação e efeitos dos perturbadores endócrinos no meio ambiente e na saúde humana

A exposição aos perturbadores endócrinos pode ocorrer de diversas formas, como através do contato direto no local de trabalho ou em casa, ou através da ingestão de água, ar, alimentos contaminados, ao contato com o solo e com o ar (BILA, 2005). No caso de seres humanos, estima-se que mais de 90% dos tóxicos ambientais são absorvidos por via digestiva, através de alimentos contaminados (REYS, 2001). A presença de perturbadores endócrinos em águas pode ocorrer de diferentes maneiras. Podem estar presentes em mananciais, ser formados durante o tratamento de água, quando compostos clorados e oxigenados são produzidos como resultado da desinfecção ou serem adicionados à água tratada por contato com material contaminado (BIRKETT e LESTER, 2003). Os hormônios 17β-estradiol, 17α-etinilestradiol e o levonorgestrel são usados como contraceptivos por mulheres, sendo que os dois últimos são estrogênios sintéticos. Uma vez ingeridos, os mesmos são excretados pelo corpo humano e lançados na rede de esgoto, tendo como destino final mananciais (CORDEIRO, 2009).

Alguns perturbadores endócrinos são solúveis em gordura, assim, altos níveis de hormônios estão presentes na carne, peixes, ovos e derivados de leite (HARTMANN *et al*., 1998). A contaminação de alimentos pode vir do fato de que alguns hormônios são aplicados na criação de animais que são utilizados na alimentação humana. A exposição também pode vir de pesticidas residuais que contaminam frutas, vegetais e, em baixas concentrações, a água potável. O uso de produtos pessoais como maquiagem, cremes de pele, produtos para os cabelos e produtos de banho é outra fonte de exposição direta aos perturbadores endócrinos (BIRKETT e LESTER, 2003). Essas substâncias também são encontradas em embalagens de alimentos e em brinquedos infantis. Estudos demonstram que compostos residuais podem ser encontrados em alguns alimentos devido à sua migração das embalagens (BILES *et al*., 1997). Alguns estudos científicos investigam a hipótese de que crianças podem ser expostas aos compostos presentes em brinquedos infantis de plástico ao colocá-los na boca (EARLS *et al*., 2003).

Santamarta (2001) afirma que um grande número de substâncias químicas artificiais que foram colocadas no meio ambiente, assim como algumas substâncias naturais, tem o

potencial para perturbar o sistema endócrino afetando a saúde, crescimento e reprodução dos animais, inclusive o dos seres humanos. Entre elas, se encontram substâncias persistentes, bioacumulativas e organoalógenas, que incluem alguns agrotóxicos (fungicidas, herbicidas e inseticidas) e as substâncias químicas industriais, outros produtos sintéticos e alguns metais pesados.

Ainda segundo o autor, muitas populações de animais já foram afetadas por essas substâncias. Entre essas repercussões, figuram a disfunção da tireoide em aves e peixes; a diminuição da fertilidade em aves, peixes e crustáceos e mamíferos; a diminuição do sucesso da incubação em aves, peixes e tartarugas; graves deformidades de nascimento em aves; desmasculinização e feminilização de peixes, aves e mamíferos machos; desfeminilização e masculinização de peixes e aves fêmeas; e o perigo para os sistemas imunológicos de aves e mamíferos. Peixes, como vertebrados, possuem um sistema endócrino similar ao dos mamíferos. Isso significa que se um micropoluente possui atividade estrogênica em mamíferos, também terá em peixes e causará efeitos similares, porém de diferente magnitude. De acordo com Baronti (2000), estudos *in vitro* mostram que a exposição de peixes a uma faixa de 1 a 10 ng L^{-1} de 17β-estradiol provocam feminilização de machos de algumas espécies selvagens. Por isso, como será mencionado no Item 4, peixes são utilizados para avaliar a toxicologia de perturbadores endócrinos (SUMPTER, 2008).

Os efeitos dos perturbadores endócrinos no meio ambiente não dependem somente das suas concentrações no meio, mas também de outros fatores, tais como a lipofilicidade, persistência, bioacumulação, tempo de exposição, seus mecanismos de biotransformação e de excreção etc.. Algumas substâncias presentes no meio ambiente sofrem biotransformação, resultando em metabólitos ou subprodutos igualmente ou até mais danosos que os compostos originais (BILA, 2005). Evidências crescentes mostram que os perturbadores endócrinos não obedecem ao princípio clássico de toxicologia dose-resposta, em contraste, produzem respostas significativas em doses extremamente baixas (SADIK *et al.*, 1999).

Apesar de os hormônios naturais possuírem meia vida relativamente curta de aproximadamente dois a dez dias, os estrógenos naturais são continuamente lançados no meio ambiente, o que lhes concede um caráter de persistência. Os estrógenos de origem sintética, como o 17α-etinilestradiol e o levonorgestrel, persistem no meio ambiente, se acumulando no solo, sedimentos e ao longo da cadeia trófica, causando descontrole hormonal (CORDEIRO, 2009).

A exposição a baixos níveis de perturbadores endócrinos, que bioacumulam, com o tempo, pode levar aos altos níveis no corpo dos animais. Por isso, em uma cadeia alimentar, os animais que se encontram no topo da cadeia apresentam concentrações mais altas dessas substâncias no corpo do que os organismos do início da cadeia alimentar.

Os perturbadores endócrinos estão relacionados com a alta incidência de câncer em seres humanos (USEPA, 1997). Os esteroides podem, em alguns casos, estar envolvidos na iniciação de um tumor e induzirem eventos críticos na "progressão" maligna destes cânceres (DICKSON e LIPPMAN, 1986[1] apud BILA, 2005).

Em geral, o sistema endócrino de organismos adultos é resistente a mudanças impostas pela exposição às substâncias química, embora esse sistema seja passível de danos. Entretanto, alterações durante períodos sensíveis ou críticos de desenvolvimento podem gerar alterações importantes, as quais podem se manifestar em fases tardias do ciclo de vida ou mesmo serem repassadas às gerações posteriores (THOMAS, 1998[2] apud REIS FILHO *et al*, 2007).

Essas substâncias químicas presentes nos organismos das fêmeas podem ser transferidas aos seus embriões, fetos ou filhotes através dos ovos, placenta ou leite materno; e assim, afetar o desenvolvimento fetal. Os hormônios desempenham um papel muito importante no desenvolvimento embrionário e fetal. Segundo Reys (2001), nos mamíferos, alguns perturbadores endócrinos atravessam a barreira placentária afetando o desenvolvimento fetal e podem igualmente ultrapassar a barreira hemato-encefálica e exercer seus efeitos no sistema nervoso. Podem ainda ser responsáveis por anormalidades genitais não malignas em bebês.

Pesquisas demonstram que altas concentrações de substâncias químicas são encontradas no tecido adiposo ou no leite, o que pode resultar em distúrbios no sistema hormonal de recém-nascidos (HARTMANN *et al*., 1998).

Em 1998, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), através de seu comitê consultivo responsável pela avaliação e diagnóstico de interferentes endócrinos (EDSTAC) propôs uma definição detalhada para interferente endócrino: "substância ou mistura química exógena que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, bem como a sua estrutura, causando efeitos adversos tanto sobre um organismo e sua descendência, como

---

[1] DICKSON, R. B.; LIPPMAN, M. E. Role of estrogens in the malignant progression of breast cancer: new perspectives. *Tips*, p. 294-296, 1986.
[2] THOMAS, J. A. Drugs and chemicals that affect the endocrine system. *Int. J. Toxicol.* V. 17, n. 2, p. 129-138, 1998.

em populações ou subpopulações de organismos, tendo como base estudos científicos, dados, evidências de peso e princípios de precaução".

De acordo com Birkett e Lester (2003), o sistema endócrino é constituído por um conjunto de glândulas localizadas em diferentes áreas do corpo como a tireoide, as gônadas e as glândulas supra-renais, e pelos hormônios por elas sintetizados tais como a tiroxina, os estrogênios e progestagênios, a testosterona e a adrenalina.

Os perturbadores endócrinos interferem no funcionamento do sistema hormonal, mediante alguns dos três mecanismos seguintes: substituindo os hormônios naturais; bloqueando a ação hormonal; afetando a síntese, o transporte, o metabolismo e a excreção dos hormônios naturais no organismo, aumentando ou diminuindo os níveis de hormônios naturais (SANTAMARTA, 2001). Os hormônios são substâncias químicas (mensageiros) produzidas e excretadas pelas glândulas endócrinas e que, lançadas na corrente sanguínea, coordenam o funcionamento do organismo como um todo (atividades de órgãos completos, níveis de sais, açúcares e líquidos no sangue, o uso e armazenamento de energia, o crescimento e o desenvolvimento de um determinado organismo, sua reprodução, suas características sexuais etc.) (GHISELLI, 2006). Ou seja, devido à função dos hormônios no organismo, os perturbadores endócrinos podem pôr em perigo a sobrevivência de espécies inteiras.

A ação de um determinado hormônio inicia-se através da sua ligação a um receptor específico, no interior da célula. O complexo resultante liga-se a regiões específicas do ácido desoxirribonucleico (DNA) presente no núcleo da célula, o que determina a ação dos genes.

Após complexos processos bioquímicos em cadeia, o hipotálamo por meio da secreção hormonal gonadotrófica, controla a liberação de outros hormônios pela glândula pituitária. Estas glicoproteínas, por sua vez, induzem a síntese e a atividade de hormônios de tecidos específicos presentes nas glândulas internas. Os hormônios produzidos nessas glândulas são transportados pela corrente sanguínea até tecidos-alvo, iniciando uma mudança na atividade celular nos seus receptores. Esta mudança de atividade é transmitida por várias vias metabólicas, através da membrana plasmática, dependendo do tipo de hormônio. Estes diferentes processos fisiológicos são controlados por mecanismos complexos como os de *feedback*, que são ativados ou desativados de acordo com os níveis dos hormônios encontrados no organismo (GHISELLI, 2006).

Um receptor hormonal possui elevada sensibilidade e afinidade por um hormônio específico produzido no organismo. Por isso, concentrações extremamente baixas de um

determinado hormônio geram um efeito, produzindo uma resposta natural. Entretanto, estes receptores hormonais também podem se ligar a outros componentes químicos.

A alteração no sistema endócrino ocorre quando o interferente endócrino interage com os receptores hormonais modificando a sua resposta natural. Dois processos distintos podem ser desencadeados. A substância pode se ligar ao receptor hormonal e produzir uma resposta, atuando, então, como um mimetizador, ou seja, imitando a ação de um determinado hormônio. Algumas vezes, essas substâncias podem amplificar ou reduzir as respostas dos hormônios endógenos. Se o interferente endócrino se ligar ao receptor, mas nenhuma resposta for produzida, ele estará agindo como um bloqueador, ou seja, estará impedindo a interação entre um hormônio natural e o seu respectivo receptor. Como citado anteriormente, outros efeitos que podem ocorrer no sistema endócrino são alterações na síntese e na remoção dos hormônios de seus respectivos receptores, e ainda interações com sistemas multi-hormonais (BIRKETT E LESTER, 2003).

A maioria dos estudos ecotoxicológicos realizados mostram que as glândulas mais afetadas pelos interferentes endócrinos constituem os sistemas reprodutivos masculino (testículos) e feminino (ovários) (GHISELLI, 2006). Muitos interferentes endócrinos competem pelos receptores com o estradiol ou com o di-hidrotestosterona, hormônios sexuais feminino e masculino, respectivamente, produzidos naturalmente pelo organismo.

Os testículos são os responsáveis pela produção de espermatozoides e androgênios, os hormônios sexuais masculinos. Os espermatozoides são produzidos durante toda a vida e, quando não são liberados, morrem e são reabsorvidos pelo organismo. A formação dos espermatozoides é controlada pelo hormônio estimulador do folículo (FSH), hormônio luteinizante (LH) e pela testosterona, principal androgênio. A testosterona é responsável pelo desenvolvimento do órgão reprodutor masculino, desde a gestação, além de aumentar a síntese de proteínas, especialmente nos músculos, e contribuir com as funções anabólicas.

Os ovários são responsáveis por produzir e expelir o óvulo, após o seu amadurecimento. Também produzem os hormônios sexuais, regulam a ovulação e a menstruação, garantem a manutenção da gravidez e são os responsáveis pelo desenvolvimento dos caracteres femininos, influenciando no crescimento dos órgãos reprodutivos. O ciclo menstrual é controlado por quatro hormônios: o FSH, o LH, os estrogênios (como o estradiol, que estimula o desenvolvimento do endométrio e influencia a libido), e a progesterona, essencial para o desenvolvimento do embrião (placenta e glândulas mamárias).

Estudos relatam os efeitos provocados pelos interferentes endócrinos nos sistemas reprodutivos: no sistema reprodutivo feminino, pode acarretar em diferenciação sexual,

disfunção dos ovários, aumento no risco de câncer de mama e vagina, ovários policísticos e endometriose, irregularidade no ciclo menstrual e prejuízos na fertilidade; no sistema reprodutivo masculino, pode acarretar em redução na produção de esperma, aumento do risco de câncer testicular e de próstata e infertilidade (DASTON *et al*., 1997; USEPA, 1997).

Além dos mecanismos de ação dos perturbadores endócrinos descritos anteriormente, ainda podem ser citados os seguintes (BILA, 2005):

- Depleção de hormônios: aceleração da clivagem do hormônio e sua eliminação, que conduz a depleção da concentração desse hormônio no corpo.
- Estimulação: estimulação da formação de mais receptores de hormônios dentro da célula, gerando múltiplos sinais, amplificando o efeito tanto do hormônio natural como do perturbador endócrino.
- Inibição de enzimas: interferência com as enzimas que são responsáveis pela ruptura de hormônios no corpo, causando hiperestimulação dos receptores pelos hormônios naturais que não são metabolizados.
- Destruição: destruição do hormônio ou da capacidade do hormônio de executar a sua função, alterando sua estrutura direta ou indiretamente, faz com que o hormônio não se encaixe no sítio receptor.

Para muitas substâncias, um aumento na concentração acarreta um aumento dos efeitos tóxicos. Entretanto, para os perturbadores endócrinos, os maiores efeitos podem ocorrer em baixas concentrações. Isto porque os hormônios normalmente são efetivos em baixas concentrações, pois os receptores têm uma afinidade muito grande para um hormônio específico, de forma que baixas concentrações são necessárias para se obter uma resposta. Apesar da sua alta afinidade por hormônios, esse receptor pode se ligar a outras substâncias químicas. Assim, perturbadores endócrinos presentes em baixas concentrações podem causar um efeito e elucidar uma resposta (BIRKETT e LESTER, 2003). De acordo com Alda e Barceló (2001), os compostos estrogênicos mais potentes (17β-estradiol e o 17α-etinilestradiol) são capazes de induzir alterações nos sistemas endócrinos de organismos vivos em concentrações abaixo de 1,0 ng L^{-1}.

O organismo é capaz de decompor e excretar os estrógenos vegetais, mas muitos dos compostos artificiais resistem aos processos normais de decomposição e se acumulam no organismo, submetendo humanos e animais a uma contaminação de baixo nível, mas de longa duração.

3.2 Compostos classificados como perturbadores endócrinos

A União Europeia elaborou um relatório contendo uma vasta lista de compostos suspeitos de interferir no sistema endócrino, tanto de seres humanos como de diferentes espécies animais. Foram identificadas 118 substâncias, sendo 12 destas designadas prioritárias para a condução de estudos mais detalhados. São elas: dissulfeto de carbono, orto-fenilfenol, difenil éter tetrabromado, 4-cloro-3-metilfenol, resorcinol, 2,1-diclorofenol, 2,2-bis(4-(2,3-epoxipropoxi)fenil)propano, 4-nitrotolueno, 4-octifenol, etinilestradiol, estrona e estradiol (COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS, 1999).

Os interferentes endócrinos são classificados em hormônios naturais e compostos sintéticos ou de origem antrópica. Os primeiros incluem o estrogênio, a progesterona e a testosterona, presentes no corpo humano e nos animais, e os fitoestrogênios, compostos presentes em algumas plantas como nas sementes de soja, e que apresentam uma atividade semelhante aos esteroides hormonais quando ingeridos por determinado organismo. Os compostos sintéticos incluem os hormônios sintéticos, idênticos aos naturais, fabricados pelo homem e utilizados como contraceptivos orais e aditivos na alimentação animal; e os xenoestrogênios (substâncias sintéticas com atividade estrogênica), produzidos para a utilização nas indústrias, na agricultura e para os bens de consumo. Também estão incluídos nesta categoria os pesticidas e aditivos plásticos (ftalatos), compostos de organoestanho, alquifenóis, as bifenilas policloradas, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, retardantes de chama (éteres difenílicos polibromados) e ainda subprodutos de processos industriais, como as dioxinas e furanos (BIRKETT e LESTER, 2003). Alguns compostos como o cádmio e mercúrio também alteram o funcionamento do sistema endócrino, especialmente nas suas formas orgânicas como, por exemplo, o metilmercúrio.

Esteroides compreendem um imenso grupo de compostos como os hormônios e seus precursores, frequentemente determinados em materiais biológicos como sangue e urina. De acordo com as suas funções, podem ser divididos em três principais grupos: (1) esteroides hormonais como os androgênios, corticoides, estrogênios e progestagênios; (2) colesterol e derivados; e (3) fitoesteroides.

De acordo com Purdom *et al*. (1994), estrogênios, androgênios e progestagênios, tanto naturais quanto sintéticos, são excretados principalmente pela urina, na forma biologicamente inativa, ou seja, como conjugados solúveis em água, principalmente como glicuronídeos e sulfatos, apresentando variações com relação à solubilidade em água, taxa de excreção e catabolismo biológico. A quantidade excretada de esteroides sexuais também depende da

idade, do estado de saúde, da dieta ou gravidez. Sob condições ambientais, estes conjugados são rapidamente hidrolisados ou desconjugados pela enzima β-glicuronidase, sintetizada pela bactéria *Escherichia coli*, encontrada em efluentes sanitários, transformando-se em hormônios livres e aos seus metabólitos.

Os androgênios são esteroides que contém em sua estrutura dezenove átomos de carbono distribuídos de forma cíclica e cuja substância mais característica é a testosterona, principal hormônio sexual masculino. Os corticoides são produzidos nas glândulas suprarrenais, na parte externa denominada córtex, cujos representantes principais são os glucocorticoides e a aldosterona, que tem como principal função regular o metabolismo dos íons de potássio e sódio nos rins (BIRKETT e LESTER, 2003).

A estrutura básica dos estrogênios é constituída por três anéis hexagonais e um pentagonal. Estrogênios esteroides são caracterizados por seu anel fenólico, essencial para a atividade biológica, pois apresentam alta afinidade com os receptores estrogênicos (BIRKETT E LESTER, 2003). Mulheres excretam entre 10 e 100 μg de estrogênio por dia dependendo da fase de seu ciclo, e mulheres grávidas podem excretar até 30 mg de estrogênio por dia (BARONTI, 2000). Nos progestagênios, o grupo fenólico é substituído por um grupo cetona. Os estrogênios e progestogênios são os principais responsáveis pelo crescimento e pela reprodução de espécies animais, incluindo os seres humanos. Por isso, seus derivados sintéticos são bastante empregados como contraceptivos inibindo o processo de ovulação, ao passo que os estrogênios são também administrados no tratamento dos sintomas que envolvem a menopausa, da deficiência do hormônio de crescimento, do hipotireoidismo e do câncer de próstata e de mama. Os estrogênios são responsáveis pelas características secundárias femininas, agem no controle da ovulação, no desenvolvimento e preparo cíclico do sistema reprodutor para a fertilização e implantação do óvulo, estimulam o crescimento dos tecidos ao promover a proliferação celular nos órgão sexuais femininos (seios e útero), e exercem influência sobre o crescimento, desenvolvimento e comportamento (NASSIF *et al.*, 2005). Os tecidos reprodutores masculinos, tais como testículos e próstata, são igualmente alvos de estrogênios, porém nos machos, estes desempenham um papel secundário em relação aos androgênios. No entanto, o excesso deles pode feminilizá-los. Os progestogênios ajudam a regular as mudanças que ocorrem durante a menstruação, influenciam o desenvolvimento das membranas fetais e glândulas mamárias durante a gestação e são conhecidos por hormônios da gravidez. São empregados nos tratamentos voltados para as causas de

infertilidade e descontrole do ciclo menstrual. Em geral, os esteroides são rapidamente absorvidos pelo organismo e estão metabolizados no fígado (BIRKETT e LESTER, 2003).

Dentre os estrogênios naturais, o 17β-estradiol apresenta o maior potencial estrogênico do que a estrona e o estriol, sendo que estes dois últimos são derivados do primeiro. Estriol é o principal estrogênio encontrado na urina de mulheres grávidas e também na placenta. A estrona está em equilíbrio metabólico com o 17β-estradiol (BILA, 2005). O 17β-estradiol é um hormônio esteroide natural liberado por seres humanos e animais (GENTILI, 2002). Entre 1,6 e 259 μg de 17β-estradiol, são excretados diariamente pelo ciclo feminino. A quantidade excretada de hormônios depende da idade, do estado de saúde, da dieta e do estado de gestação (Tabela 2). Além disso, estrogênios equinos conjugados, como estrona, 17α e 17β-estradiol, são utilizados em terapias de reposição hormonal numa dose diária de 0,625mg. O 17α-etinilestradiol é um hormônio sintético utilizado como contraceptivo. Uma parcela dessas substâncias ingeridas atinge o ambiente aquático (BIRKETT E LESTER, 2003).

Tabela 2 – Excreção diária (μg) per capita de estrogênios por humanos (JOHNSON *et al*., 2000)

Sexo/idade	**17β-estradiol**	**Estrona**	**Estriol**	**17α-etinilestradiol**
Homens	1,6	3,9	1,5	-
Mulheres em menstruação	3,5	8,0	4,8	-
Mulheres em menopausa	2,3	4,0	1,0	-
Mulheres em gestação	259	600	6.000	-
Mulheres	-	-	-	35

O colesterol, esteroide de origem animal, é precursor dos hormônios sexuais e um importante lipídeo que atua em muitos processos vitais, sendo um constituinte estrutural presente nas membranas celulares e um substrato na síntese de ácidos biliais. Por outro lado, é considerado como sendo o principal responsável pelos distúrbios ocorridos nas artérias, como a hipertensão. No meio ambiente, este tipo de esteroide é bastante encontrado em sedimentos, inclusive marinhos, e em menor proporção nas águas superficiais, como resultado de numerosas sínteses biológicas e processos de degradação natural, bem como de atividades antrópicas (KAWASAKI e MONTONE, 2002; NIVEN *et al*., 2001).

Os fitoestrogênios, análogos estruturalmente e funcionalmente ao colesterol, são encontrados nas plantas e atuam como constituintes das membranas celulares, como hormônios de crescimento, como antioxidantes, fungicidas, e algumas vezes como herbicidas. Estes fitoquímicos não nutricionais somam mais de doze mil compostos químicos naturais presentes nos alimentos de origem vegetal. Diferentemente dos hormônios sexuais, os fitoestrogênios são compostos que apresentam uma estrutura do tipo 2-fenilnaftaleno,

basicamente pertencendo à família dos flavonoides e das ligninas (BIRKETT e LESTER, 2003).

Embora a concentração dos fitoestrogênios no corpo humano possa ser até 100 vezes maior que os valores encontrados para os estrogênios endógenos, eles são facilmente metabolizados e excretados pela urina e pela bílis, na forma de glicuronídeos e sulfatos conjugados. Portanto, a inclusão destas substâncias na dieta humana tem conferido mais um efeito benéfico à saúde do que deletério. Evidências científicas têm mostrado que os fitoestrogênios podem apresentar alguns benefícios à saúde quando relacionados às doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas da menopausa (BIRKETT e LESTER, 2003; COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS, 1999).

Por outro lado, estudos realizados com animais provenientes de regiões agrícolas, onde há o predomínio de monocultura, demonstram que alguns fitoestrogênios apresentam atividade estrogênica com efeitos deletérios à saúde animal. Algumas ovelhas, após terem sido alimentadas por um longo período com um tipo especial de pasto que continha as isoflavonas genisteína, formonoetina e biochanina A, desenvolveram sintomas de infertilidade (LINTELMANN *et al.*, 2003). Posteriormente, estudos envolvendo ensaios *in vivo* com camundongos fêmeas ovariectomizadas comprovaram tal potencial estrogênico (LINTELMANN *et al.*, 2003). Ensaios *in vitro* mais recentes também mostraram que muitos fitoestrogênios ligam-se aos receptores hormonais produzindo um efeito agonista similar aos esteroides sexuais exógenos (LINTELMANN *et al.*, 2003).

Outros fitestrogênios com atividade estrogênica são a zearalenona, uma micotoxina produzida por um fungo presente nos alimentos embolorados como o milho, algodão e cevada, e o β-sitosterol, encontrado em óleos vegetais, legumes e na madeira (LINTELMANN *et al.*, 2003).

Os compostos de origem antrópica constituem outra classe de interferentes endócrinos, composta pelos xenoestrogênios e os compostos comumente utilizados como matéria-prima ou fabricados durante os processos industriais. Também fazem parte desta classe os compostos usados nas atividades agrícolas, como os pesticidas (BIRKETT e LESTER, 2003).

O pentaclorofenol é utilizado desde 1936 como pesticida com múltiplos usos: herbicida como desfolhante pré-colheita, inseticida no controle de cupins, fungicida como preservantes de madeira e no tratamento de sementes, e como moluscicida no controle de lesmas. Este composto apresenta elevada toxicidade, uma vez que é considerado como sendo

uma das maiores fontes de geração de dioxinas para o ambiente, por exemplo, após a queima da madeira tratada com pentaclorofenol (GHISELLI, 2007).

Bisfenol é um nome genérico dado a um grupo de difenilalcanos comumente empregados na produção de plásticos. O bisfenol A, principal representante deste grupo, é uma substância amplamente utilizada durante os processos industriais como monômero na produção de polímeros, policarbonatos, resinas epóxi, resinas de poliéster-estireno insaturadas, fungicidas e agentes retardantes de chama (BILES *et al*., 1997; FÜRHACKER *et al*, 2000; USEPA, 2001). Pode ainda ser encontrado em adesivos, papéis para fax, tubulações, painéis de carros e produtos eletrônicos. Também estão presentes em revestimentos de latas de conservas e frascos de alimentos para bebês e em polímeros utilizados no tratamento dentário (BILA, 2005). Este composto ocorre no ambiente como resultado do processo de lixiviação dos produtos finais manufaturados a partir deste, podendo estar presente nos vários compartimentos: ar, água, sedimento e biota (GHISELLI, 2007). Uma vez presente no meio ambiente, o bisfenol A pode vir a ser degradado biologicamente, com velocidades bastante diferenciadas, apresentando um tempo de meia vida variando entre 1 a 180 dias em solos, bem como um tempo de meia vida de 2,5 a 4 dias quando em água. Com relação à sua atividade estrogênica, alguns estudos envolvendo ensaios *in vitro* mostram que o bisfenol A possui um potencial de 4 a 6 ordens de magnitude menor que o 17β-estradiol, e ainda que pode apresentar atividade enti-androgênica. Pelo fato de o bisfenol A ser bastante empregado nos processos industriais e também por participar das formulações de produtos de uso doméstico, suas principais fontes no meio ambiente são os efluentes industriais, o esgoto sanitário, bem como os lodos provenientes de ETEs (BIRKETT e LESTER, 2003).

Os diésteres derivados do ácido ftálico são empregados basicamente como plastificantes, principalmente aqueles contendo o grupo vinil como o cloreto de polivinila (PVC) e outras resinas como acetato de polivinila e poliuretano, bem como na fabricação de tintas, adesivos, papelão, lubrificantes e fragrâncias. Ftalatos podem ser introduzidos no ambiente através da lixiviação, sobretudo dos plastificantes utilizados na fabricação de plásticos de uso comum. Tais ftalatos são encontrados não apenas na água lixiviada como também nos lodos provenientes dos esgotos, na água superficial, no sedimento e em algumas espécies aquáticas, inclusive peixes (BIRKETT e LESTER, 2003). Por serem lipofílicos tendem em acumular nos tecidos adiposos das espécies envolvidas numa determinada cadeia alimentar, num processo conhecido como biomagnificação. Como os seres humanos são muitas vezes o topo desta cadeia alimentar, altas concentrações destas substâncias poderão estar presentes na sua dieta. Em geral, a toxicidade aguda destes compostos é relativamente

baixa. Porém, estudos ecotoxicológicos têm mostrado que alguns produtos da degradação destes, como os monoésteres, podem ser tóxicos para os mamíferos (BIRKETT e LESTER, 2003).

Os alquifenóis compreendem os surfactantes não iônicos empregados principalmente na forma de etoxilados e que são sintetizados através da adição de óxido de etileno ao nonilfenol, sob condições alcalinas. Dentre os alquifenóis, 4-nonilfenol e 4-octilfenol são os compostos de maior importância ambiental devido à escala em que são produzidos no ambiente, a partir de processos de biodegradação dos alquifenóis etoxilados. Embora nos últimos anos o uso destes compostos na formulação de detergentes de uso doméstico ter sido diminuído em alguns países da Europa, eles ainda continuam sendo empregados como componentes de detergentes industriais, como agentes dispersantes na produção de polpa e papel, como agentes emulsificantes nas formulações de tintas látex, de produtos de uso pessoal e pesticidas, como aditivos plásticos na produção de resinas fenólicas, como agente floculante, como espermicida em aplicações contraceptivas, nas indústrias têxteis, dentre outras (BIRKETT e LESTER, 2003; USEPA, 2001). A maioria destes etoxilados, durante os processos de biodegradação como os empregados nas ETEs, geram subprodutos tóxicos e persistentes que, após serem introduzidos no meio ambiente, são acumulados nos organismos aquáticos uma vez que são mais lipofílicos que os compostos que os originaram (BIRKETT e LESTER, 2003 e ROUTLEDGE e SUMPTER, 1996).

Compostos orgânicos contendo estanho são substâncias sintéticas que também causam efeitos no sistema endócrino de animais. Esses compostos apresentam uma infinidade de aplicações, sendo seu maior uso em tintas usadas no casco de embarcações para protegê-las da ação de organismos incrustantes (antiincrustantes), além de também serem usados como estabilizantes em plásticos e pesticidas (LINTELMANN *et al*., 2003). Podem ser detectados em águas naturais e sedimentos marinhos, impondo um grande risco aos organismos aquáticos. Estudos demonstram o desenvolvimento de anomalias no sistema reprodutivo relacionado à exposição de animais a essas substâncias (FERNANDEZ *et al*., 2002).

Na Figura 2 são ilustradas as fórmulas estruturais dos hormônios sexuais que serão abordados neste trabalho. Os compostos estradiol, estriol, etinilestradiol e progesterona estão classificados como potencialmente cancerígenos.

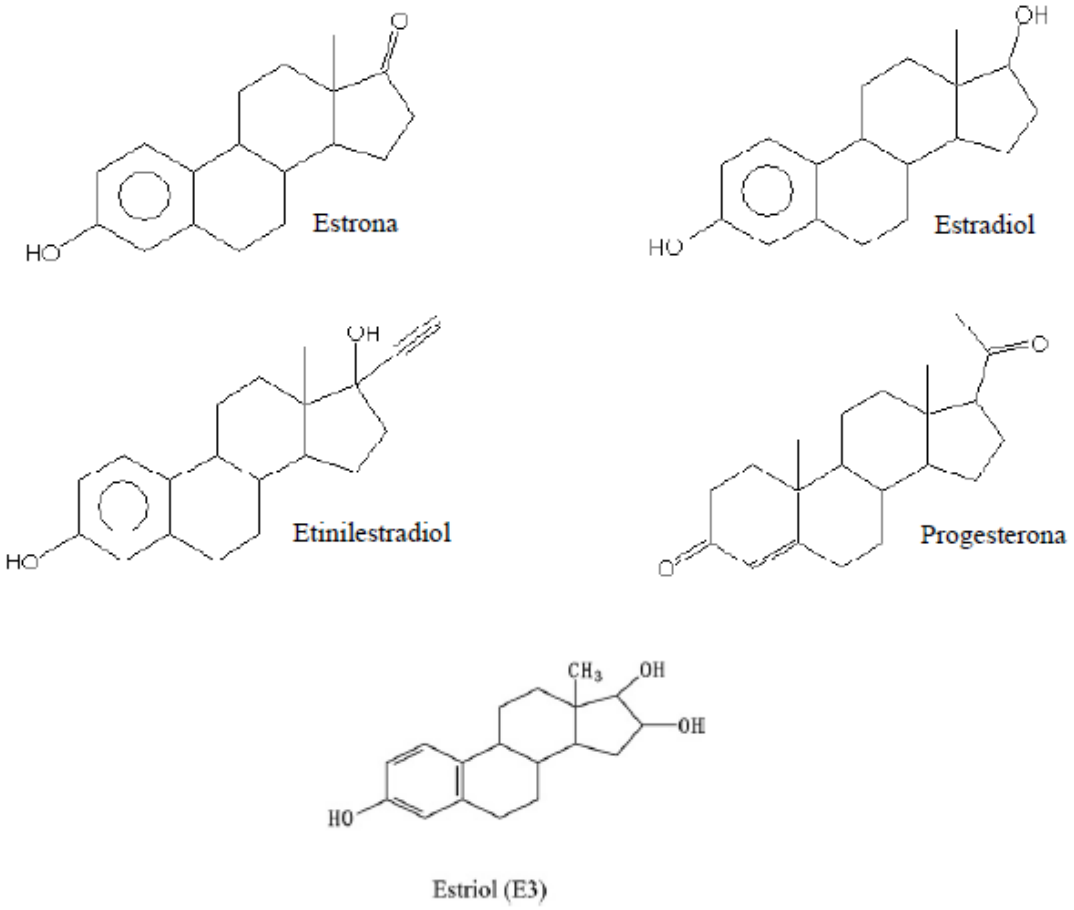

Figura 2 – Fórmulas dos interferentes endócrinos abordados (BIRKETT E LESTER, 2003)

As posições relativas de um grupo fenólico no primeiro anel hexagonal das moléculas são cruciais para a alta afinidade de ligação ao receptor de estrogênio e para a estrogenicidade (BIRKETT E LESTER, 2003).

Na Tabela 3 são mostradas algumas propriedades físico-químicas para os hormônios sexuais abordados neste trabalho.

Tabela 3 – Propriedades físico-químicas dos interferentes endócrinos abordados (WESTERHOFF *et al.*, 2005)

Composto	**PM (g/mol)**	**Solubilidade em Água (mg L^{-1})**	**pKa**	**Log K_{OW}**
Estrona	270,37	12,42	10,5	3,13
Estriol	288,39	13,25	10,4	2,45
Estradiol	272,39	12,96	10,4	4,01
Etinilestradiol	296,41	4,83	10,5	3,67
Progesterona	314,47	7,20	NE	3,87

PM = peso molecular
NE = não encontrado
K_{OW}: coeficiente de partição octanol/água

Todos esses estrogênios têm pressão de vapor na faixa de $2,3x10^{-10}$ a $6,7x10^{-15}$ mmHg indicando baixa volatilidade. Hormônios naturais e sintéticos apresentam natureza lipofílica, ou seja, são poucos solúveis em água. Os valores de log K_{OW} para os estrogênios livres estão entre 2,45 e 4,01. Hormônios naturais apresentam solubilidade em água entre 5,75 e 13,25 mg L^{-1}, enquanto que os esteroides sintéticos possuem solubilidade em água entre 0,16 e 4,83 mg L^{-1} (YING *et al*., 2002). No entanto, a esterificação com glicuronídeos ou ácidos altera as propriedades físico-químicas desses estrogênios que, quando conjugados, passam a ser mais hidrofílicos e menos ativos biologicamente podendo permanecer por mais tempo em ambientes aquáticos (BIRKETT e LESTER, 2003).

4 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS E PERTURBADORES ENDÓCRINOS E PARA DETECÇÃO DE ATIVIDADE ESTROGÊNICA

É de grande importância o desenvolvimento de metodologias analíticas e técnicas de monitoramento para quantificar e analisar os efeitos dos perturbadores endócrinos em humanos e animais expostos a eles. Também é importante a identificação dos compostos e a determinação destes. Análises rápidas e confiáveis de um grande número de substâncias químicas em amostras ambientais requerem ensaios simples, sensíveis e algumas vezes específicos.

A cromatografia normalmente é utilizada para a determinação de fármacos e perturbadores endócrinos. Como os perturbadores endócrinos são pouco voláteis, para detecção por cromatografia gasosa, deve-se utilizar da derivatização. A cromatografia líquida de alta eficiência é comumente aplicada para a determinação de fármacos e perturbadores endócrinos, acoplada a detectores. Esses procedimentos para quantificação de substâncias possuem diferentes limites de detecção e de quantificação que dependem dos compostos analisados, matrizes, procedimentos de extração e derivatização, equipamentos, colunas, fase móvel etc.. No Item 7, serão apresentados os métodos utilizados por cada autor e os limites de detecção e quantificação atingidos.

Vários ensaios *in vivo* e *in vitro* são desenvolvidos para analisar os efeitos causados por perturbadores endócrinos no meio ambiente. Contudo, ainda há necessidade de validar esses ensaios para avaliar, com melhor precisão, esses efeitos. Organizações mundiais renomadas, tais como, a Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD) e USEPA, elaboram diretrizes internacionais de métodos de ensaios para investigar os efeitos dos perturbadores endócrinos (EDSTAC, 1998 e OECD, 2002).

Os ensaios *in vivo* utilizam vários parâmetros, como peso de órgãos sexuais, diferenciação celular, expressão de proteínas e atividades enzimáticas (BAKER, 2001; GRAY *et al*., 1997). Os ensaios *in vitro*, que são utilizados para analisar a atividade estrogênica de substâncias químicas, são baseados em mecanismos de ação que elucidam respostas e utilizam pontos mais definidos do que os ensaios *in vivo*, tais como a interação com receptores hormonais, proliferação de células, entre outros. Contudo, ensaios *in vitro* em conjunto com ensaios *in vivo* são requeridos para uma completa análise dos potenciais riscos dos perturbadores endócrinos presentes no meio ambiente (BILA, 2005).

Os ensaios *in vitro* têm algumas vantagens tais como sensibilidade a baixas concentrações, respostas específicas, custo baixo, requer pouca quantidade de amostra, pode ser utilizado para misturas complexas. Porém, resultados inconsistentes entre diferentes ensaios *in vitro* também têm sido relatados, que podem ser devido à capacidade metabólica diferente dos diversos organismos teste usados (BERESFORD *et al*., 2000).

Em contrapartida, os ensaios *in vivo* apresentam vantagens como explicações para os mecanismos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção. São ensaios bem definidos usados por décadas para testes toxicológicos e análise de riscos, incorpora uma larga faixa de mecanismos, fornece a compreensão e avaliação do sistema endócrino como unidade (GRAY *et al*., 1997; ZACHAREWSKI, 1997). Porém, a falta de especificidade é uma das limitações dos ensaios *in vivo*, quando o objetivo do estudo é analisar mecanismos de ação específicos, como a síntese de um hormônio esteroide, além do problema da utilização de animais nos ensaios (GRAY *et al*., 1997).

4.1 Cromatografia

A determinação de estrógenos, em amostras ambientais, requer a utilização de metodologias analíticas para a detecção de concentrações na faixa de μg L^{-1} e ng L^{-1}. Além disso, as matrizes complexas como, por exemplo, o esgoto sanitário, contêm uma infinidade de compostos que podem interferir na análise de hormônios em níveis abaixo de ng L^{-1}. Desse modo, as amostras devem passar por etapas de preparo, como extração, limpeza dos extratos (*clean-up*) e concentração, anteriormente à etapa de quantificação. Nesta última etapa, outros fatores também devem ser levados em consideração, tais como a disponibilidade, adaptabilidade e capacidade total da técnica instrumental escolhida para a quantificação, tempo de análise e custos envolvidos, seletividade, detectabilidade, precisão nas medidas, repetibilidade e reprodutibilidade, robustez, faixa de aplicação, entre outros. Os métodos analíticos publicados são frequentemente baseados em extração líquido-líquido (ELL) e em extração em fase sólida (SPE) e para a quantificação, a cromatografia gasosa (GC) e a líquida de alta eficiência (HPLC), levando-se sempre em consideração as propriedades químicas dos fármacos e interferentes endócrinos. Por exemplo, para a maioria dos fármacos e interferentes endócrinos que apresentam elevada solubilidade em água e elevada polaridade, como vários fármacos não prescritos e antibióticos, a técnica comumente empregada é a cromatografia líquida (LC). Enfatizam-se os fármacos não prescritos, pois são consumidos e,

consequentemente, eliminados pelo organismo, em maior quantidade, já que podem ser comprados sem receita médica e se destinam a aliviar sintomas que ocorrem frequentemente.

A extração pode ser utilizada para isolar um ou mais analitos presentes em amostras complexas, para a concentração de analitos (enriquecimento) ou isolamento da matriz. A ELL, com ou sem filtração prévia da amostra, utiliza diclorometano ou acetato de etila como solvente extrator. Na SPE, a variedade de sorventes utilizados é imensa, incluindo grupos octadecil, resinas poliméricas, resina de troca iônica, carbono grafitizado etc..

No caso da determinação de hormônios em esgotos sanitários, o SPE é utilizado principalmente para o isolamento do analito de interesse, enriquecimento da amostra e o *clean-up*. As etapas envolvidas na extração em fase sólida são: condicionamento do adsorvente contido no cartucho, adição da amostra, remoção de interferentes (*clean-up*) e eluição do analito (LANÇAS, 2004).

Frequentemente, a extração é feita em microescala com sílica gel na forma de cartuchos ligada quimicamente ao grupo apolar Octadesilsilano (C18), utilizado como fase sólida. Os cartuchos são seringas de polipropileno, que contém material de empacotamento, cujo diâmetro médio das partículas é usualmente de 40 μm, de alta capacidade de carga e sílica irregular, entre dois discos de polietileno. São descartáveis e possuem um espaço para adição da amostra e dos solventes de condicionamento, lavagem e extração (LANÇAS, 2004).

Os detectores e acoplamentos de detectores mais empregados para análise de hormônios pela técnica de HPLC são: eletroquímico, fluorescência (Flu), espectrômetro de massas (MS/MS), ultravioleta (UV) com varredura de diodo e UV com varredura de diodo acoplado a espectrômetro de massas (PEREIRA, 2011).

A espectrometria de massas é um dos métodos mais comumente utilizados apesar do seu alto custo, da necessidade de um operador especializado e dos gastos com manutenção. O espectrômetro de massas separa e detecta um analito baseado na razão entre a massa e a carga elétrica, apresenta alta sensibilidade e seletividade, fornece a massa molecular dos solutos e permite a elucidação estrutural destes. O composto deve ser ionizado antes de entrar no detector (PEREIRA, 2011).

Como alternativa, pode ser utilizado o detector de fluorescência, cujo princípio é a emissão de energia fluorescente por um soluto que foi excitado por radiação UV. Baseia-se no fato de que, quando uma molécula absorve luz e um elétron é promovido a um estado de maior energia, existe uma série de caminhos pelos quais esta energia pode ser dissipada. Algumas moléculas podem perder apenas parte da energia indo ao mais baixo nível vibracional do estado excitado. A energia restante pode ser perdida pela emissão de fóton,

sendo este processo denominado de fluorescência. É um detector seletivo para essas moléculas que fluorescem, ou seja, que contém duplas ligações conjugadas múltiplas. Os comprimentos de onda de absorção e emissão devem ser escolhidos pelo espectro de fluorescência do soluto.

Para detecção por cromatografia gasosa, o analito de interesse deve ser volátil e termicamente estável. Quando o composto é pouco volátil, caso do 17β-estradiol, a derivatização pode ser utilizada. Quando da derivatização, os reagentes silanizantes como o N-metilbis(trifluoroacetamida), mais conhecido como MBTFA, e bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida, o BSTFA, são os mais empregados. Entretanto, a derivatização é um trabalho extensivo que pode levar à redução na recuperação do analito (REIS FILHO *et al*., 2006).

4.2 Validação de métodos

A validação é a garantia que o método tenha confiabilidade dos resultados por estudos envolvendo diversos parâmetros estatísticos. O objetivo de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos. A validação aplica-se a técnicas analíticas que façam uso de métodos de cromatografia gasosa (GC) ou cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), métodos não cromatográficos, desde que estes ofereçam uma seletividade aceitável e testes imunológicos ou microbiológicos, desde que observado o grau de variabilidade usualmente associado a estas técnicas (ANVISA, 2003).

Segundo Ribani *et al*. (2004), há dois tipos de validação de métodos. O primeiro, chamado de validação no laboratório, consiste das etapas de validação, sem a verificação da reprodutibilidade, dentro de um único laboratório, seja para validar um método que tenha sido desenvolvido localmente ou para verificar que um método adotado de outras fontes está bem aplicado. O segundo tipo, validação completa, envolve todas as características de desempenho e um estudo interlaboratorial que é utilizado para verificar como a metodologia se comporta com uma determinada matriz em vários laboratórios, estabelecendo a reprodutibilidade da metodologia e a incerteza expandida associada à metodologia como um todo.

No Brasil, dentre os órgãos que deliberam sobre a validação de métodos, destacam-se a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). Estes órgãos disponibilizam guias para o

procedimento de validação de métodos analíticos, respectivamente, a Resolução ANVISA RE nº 899, de 29/05/2003 e o documento INMETRO DOQ-CGCRE-008, de março/2003.

De acordo com Ribani *et al*. (2004), os parâmetros analíticos normalmente encontrados para a validação de métodos de separação são: seletividade, linearidade e faixa de aplicação, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação, recuperação e robustez. É importante que todos os equipamentos e materiais apresentem-se devidamente calibrados e os analistas sejam qualificados e treinados (ANVISA, 2003).

A seletividade é a capacidade do método em diferenciar o analito de interesse das impurezas contidas na sua amostra. A seletividade garante que a resposta seja exclusivamente de um composto de interesse ou, se presentes, os interferentes não estejam em concentração que influencie negativamente o resultado analítico (ANVISA, 2003).

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito adicionado, dentro de uma determinada faixa de aplicação (ANVISA, 2003).

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões sob condições definidas. A precisão pode ser avaliada quanto à repetibilidade (intracorrida), que consiste em várias medidas de uma mesma amostra em diferentes preparações em um mesmo dia. Como, também, pode ser avaliada quanto à precisão intermediária (intercorridas) que consiste na variação das condições dentro de um mesmo laboratório, isto é, dias diferentes ou diferentes analistas, equipamentos ou uma combinação de diferentes fatores. A reprodutibilidade é a precisão entre dois ou mais laboratórios sob condições variadas. A exatidão representa a dispersão entre os resultados individuais encontrados e um valor aceito como referência, ou seja, está relacionada com a veracidade das medidas. Assim como para a precisão, existe a exatidão intercorridas, intracorrida e reprodutibilidade (ANVISA, 2003).

O limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003).

A recuperação mede a capacidade de um método analítico isolar (recuperar) os analitos de interesse frente aos interferentes considerando as perdas durante o processo analítico, principalmente durante as etapas de extração e *clean-up* definindo-se um limite de variação aceitável (ANVISA, 2003).

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos. Indica sua confiança durante o uso normal (ANVISA, 2003).

4.3 Ensaios *in vitro* para determinação de atividade estrogênica

Numerosos ensaios *in vitro* foram utilizados em estudos para avaliar a atividade estrogênica de efluentes de ETEs, esgotos sanitários e águas naturais em vários países. Podem ser citados: ensaio de ligação competitiva nos receptores dos hormônios esteroides, ensaio E-screen, ensaio YES (*yeast estrogen* screen) e ensaio BLYES (*bioluminescent yeast estrogen assay*).

Muitos ensaios que determinam a atividade estrogênica de substâncias químicas são baseados no modo de ação das substâncias estrogênicas de acoplar-se ao receptor hormonal e resultar em um subsequente efeito na atividade biológica. Os ensaios de ligação competitiva nos receptores dos hormônios esteroides são métodos que investigam a capacidade de uma substância de competir com estrogênios pela ligação no receptor hormonal, para isso utilizam estrogênios radiomarcados, no caso do receptor hormonal é o [^{3}H]17β-estradiol (BIRKETT e LESTER, 2003; GRAY *et al*., 1997).

Nos ensaios de ligação competitiva, o receptor hormonal é extraído de uma cultura de células e incubado com o estrogênio radiomarcado e a substância testada. Os [^{3}H]17β-estradiol acoplados aos receptores hormonais são extraídos e quantificados em um cintilador líquido. Pequenas quantidades de estrogênio radiomarcado ligado aos receptores hormonais, indicam maior capacidade das substâncias testadas de competir pela ligação no domínio de ligação hormonal nos receptores hormonais (BIRKETT e LESTER, 2003).

Dessa forma, substâncias encontradas em amostras ambientais podem ser avaliadas quanto a sua estrogenicidade. Porém, só podem ser usadas para substâncias estrogênicas que possuem a capacidade de se ligar ao receptor hormonal e elucidar uma resposta. (BIRKETT e LESTER, 2003; ZACHAREWSKI, 1997). Esses ensaios são relativamente rápidos, mas não menos sensíveis do que outros ensaios *in vitro*, além de não serem facilmente disponíveis para a automatização e não poderem ser usados como ferramenta de análise, uma vez que é necessário o uso de substâncias radiomarcadas (BILA, 2005).

O ensaio de E-screen avalia a proliferação de células cancerígenas mamárias humanas MCF-7 em resposta à exposição a substâncias estrogênicas. Neste bioensaio, as células MCF-

7 são incubadas por seis dias na presença e ausência de substância ou amostra ambiental a ser testada. A proliferação das células é determinada através da contagem do número de células ou núcleos, ou por método colorimétrico (KÖRNER *et al.*, 1999; SOTO *et al.*, 1995). O ensaio é baseado em três premissas: (1) fatores presentes no soro adicionado ao meio inibem a proliferação das células, (2) os estrogênios induzem a proliferação das células pela anulação deste efeito inibitório, e (3) substâncias não estrogênicas não neutralizam o sinal inibitório presente no soro.

Ensaios de gene repórter são baseados na capacidade de um componente estimular uma atividade transcricional implicada pela ativação do receptor hormonal pela substância estrogênica. No ensaio YES, a amostra é adicionada às células modificadas de leveduras e incubada por três dias. A concentração do composto na amostra pode ser aumentada através da extração em fase sólida. As células de leveduras são transformadas pela introdução de vetores contendo sequências de DNA para receptores humanos ou de animais, junto com o gene repórter contendo elementos de respostas (BIRKETT e LESTER, 2003; GRAY *et al.*, 1997). As substâncias estrogênicas entram nas células e ligam-se aos receptores hormonais, os quais se tornam ativados pela mudança na conformação e se ligam aos elementos de respostas de estrogênios. Essa ligação inicia a expressão do gene repórter e assim ocorre a síntese da enzima β-galactosidase. Routledge e Sumpter (1996) desenvolveram um ensaio com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, no qual o substrato cromogênico clorofenol vermelho-β-D-galactopiranosida, um produto amarelo que muda para vermelho, que está presente no meio, é metabolizado pela enzima sintetizada. A quantidade de substância estrogênica no meio de análise pode ser quantificada pela medida da absorbância.

As vantagens dos ensaios YES são suas especificidades, sensibilidade, capacidade de realizar análise de grande quantidade de amostras com processo de fácil manuseio e econômico. Porém, algumas amostras ambientais podem conter interferentes tóxicos às células de leveduras e podem apresentar cor, que pode interferir na medida da absorbância. Entretanto, as amostras podem ser fracionadas e os interferentes removidos (*clean-up*) antes desses ensaios (BILA, 2005).

O ensaio LYES (*yeast estrogen screen-assay assisted by enzymatic digestion with lyticase*) é uma versão modificada do ensaio YES que inclui uma etapa de digestão com a enzima liticase. Apesar de apresentar um limite de quantificação significativamente inferior ao do ensaio YES, é vantajoso pois são requeridas sete horas de ensaio, enquanto que o ensaio YES necessita de cinco dias, além de ser uma alternativa barata (SCHULTIS e METZGER, 2004).

O ensaio BLYES, assim como o ensaio YES, é um ensaio de gene repórter que pode utilizar a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, possuindo a vantagem de ter duração de 12 horas. Às células de leveduras são adicionados receptores de estrogênio humano e um traço bioluminescente. Resumidamente, quando um composto estrogênico atravessa a membrana da célula de levedura, liga-se à proteína do receptor de estrogênio humano, formando um complexo. Este complexo, em seguida, liga-se a elementos de resposta de estrogênio ativando a transcrição de luxA e luxB, que geram a enzima luciferase. A enzima luciferase, por sua vez, atua sobre o substrato de aldeído produzido a partir de genes luxCDE, resultando em emissão de luz. (BERGAMASCO *et al*., 2011).

Em 2009, foi desenvolvido um ensaio de quatro horas que apresenta alta sensibilidade e utiliza células de levedura para medir diretamente a atividade estrogênica de efluentes sanitários sem a necessidade de etapa de extração, concentração ou esterilização. É um ensaio de gene repórter, que utiliza substrato quimioluminescente, que na presença de β-galactosidade, produz um sinal que é medido no *Luminoskan Ascent microplate luminoter* (BALSIGER *et al*., 2010).

4.4 Ensaios *in vivo* para determinação de atividade estrogênica

Procedimentos analíticos empregando técnicas biológicas para determinação dos interferentes endócrinos e fármacos em amostras ambientais, como os imuno-ensaios do tipo ELISA (enzima-imuno ensaio ou do inglês *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*) e RIE (radio-imuno ensaio) (SCHNEIDER *et al*., 2005; SNYDER *et al*., 1999), e ainda biosensores ópticos (TSCHMELAK *et al*., 2005) foram também encontrados na literatura. Embora tais técnicas dispensem a etapa de concentração do analito reduzindo os custos envolvidos, apresentam algumas limitações. Além da impossibilidade de se analisar simultaneamente vários compostos de classes diferentes, como em geral é feito nos métodos cromatográficos, porém não foi possível a automação destas técnicas para o emprego em análises de rotina (GHISELLI, 2006).

No ensaio de ELISA, são analisados valores da proteína vitelogenina (VTG) em peixes machos. O sangue extraído do peixe é centrifugado para coleta do plasma. O teste é realizado utilizando-se o kit ELISA. A placa é revestida com anticorpo de captura e a esta é adicionada volume de água. Após incubação, procedem-se as seguintes etapas: adição de anticorpo de detecção, adição de anticorpo secundário e adição de solução contendo substrato

crômico. Após cada etapa descrita anteriormente, a placa deve ser incubada. Para interromper a reação adiciona-se H_2SO_4 e lê-se a absorbância em 492 nm com a leitora de microplaca ELISA TP-READER. Este bioensaio é realizado em curto prazo, com custo relativamente baixo e mostra uma resposta direta e pode ser facilmente medido (CORDEIRO, 2009).

A proteína VTG é produzida pelo fígado dos peixes na maturidade sexual para desenvolvimento dos folículos, e está diretamente relacionada com a quantidade de estrogênio do sangue que é responsável pela diferenciação sexual e maturação. Devido a isso, a exposição de machos aos estrógenos em certos níveis faz com que o organismo passe a produzir elevadas quantidades de VTG, que, em circunstâncias normais, é uma proteína específica encontrada em vertebrados ovíparos do sexo feminino, resultando, assim, em característica hermafrodita em peixes machos (COLBORN *et al*., 1993; JOBLING e SUMPTER, 1993; JOBLING *et al*., 1998; ROUTLEDGE *et al*., 1998; TYLER *et al*., 1998).

A proteína VTG está presente em condições normais em peixes machos, mas não é expressiva pela pequena quantidade de estrogênio no sangue (SCHMID *et al*, 2002). A presença de altas quantidades de VTG no plasma de peixes machos indica a presença de substâncias que causam efeito endócrino (JOHNSON *et al*., 2000) na água, portanto, esta proteína pode ser um bioindicador. Peixes expostos a perturbadores endócrinos com potencial estrogênico possuem valores de VTG que podem variar de ng mL^{-1} a mg mL^{-1} (BENFEY *et al*, 1989). Os níveis de VTG no plasma dos animais também podem ser medidos através do ensaio RIA.

Harris *et al*. (1996, 1997) encontraram alta concentração de VTG nos peixes que foram capturados próximo ao local de lançamento de efluentes de ETEs em rios, sendo o mínimo de 25 mg mL^{-1} e o máximo de 52 mg mL^{-1}, nos quais foi observada redução do crescimento dos testículo. Thorpe *et al*. (2009) expuseram peixes a efluentes com estrona e estradiol nas concentrações de 2,1±0,3 a 92,7±64,2 ng L^{-1} e de 0,5±0,2 a 4,4±0,5 ng L^{-1}, respectivamente. Neste estudo, os autores encontraram a concentração de VTG para os peixes machos em torno de 365 a 225.000 ng mL^{-1}. A quantidade de VTG produzida pelos peixes depende da presença de substâncias com atividade estrogênica no ambiente e da espécie.

Dentre os ensaios *in vivo* existentes, tem-se o ensaio uterotrófico (alteração do peso uterino) de três dias, o ensaio de cornificação da mucosa vaginal (ensaio para detectar mudanças histológicas nas células epiteliais da mucosa vaginal), e o ensaio de Hershberger de cinco a sete dias, todos feitos com ratos; os primeiro permitem avaliar a atividade anti-estrogênica e o último, a atividade anti-androgênica de vários compostos químicos, e o ensaio de reprodução de peixes, usado para testar agentes estrogênicos e androgênicos, examinando-

se as anormalidades relacionadas ao sistema endócrino de peixes adultos, maduros e ativos que foram expostos a possíveis interferentes endócrinos, durante 21 dias (BAKER, 2001; EERTMANS *et al*., 2003).

As vantagens desses ensaios é que há a incorporação de todos os aspectos do sistema endócrino, permitindo um estudo da absorção, metabolismo, distribuição e excreção da substância, como também de caminhos alternativos para avaliar os efeitos dos perturbadores endócrinos. Entretanto, já foram relatados resultados inconsistentes além de serem de custo elevado, demandarem tempo elevado para processamento e resposta e necessitarem ser usados em conjunto com outros ensaios *in vitro*, somado à restrição ética de utilização de animais nos ensaios (BERESFORD *et al*., 2000). Nos casos dos ensaios com roedores, não são adequados para analisar substâncias em larga escala lançadas no meio ambiente, devido ao custo, complexidade e restrições éticas para uso de animais (SOTO *et al*., 1995).

5 POLUIÇÃO DAS ÁGUAS E LEGISLAÇÃO SOBRE FÁRMACOS E PERTURBADORES ENDÓCRINOS

Entende-se por poluição das águas a adição de substâncias ou de formas de energia que, direta ou indiretamente, alterem a natureza do corpo d'água de tal forma que prejudique os legítimos usos que dele são feitos (VON SPERLING, 1995). A poluição das águas tem como origem diversas fontes, que podem ser pontuais ou difusas. Na poluição pontual, os poluentes atingem o corpo d'água de forma concentrada no espaço, destacando-se, assim, as cargas de origem doméstica e industrial. Já as cargas difusas de origem urbana e agrícola, como a poluição veiculada pela drenagem pluvial, adentram o corpo d'água distribuídas ao longo de parte de sua extensão.

Para a avaliação do impacto da poluição e da eficácia das medidas de controle, é necessária a quantificação das cargas poluidoras afluentes ao corpo d'água. Para tanto, são necessários levantamentos de campo na área em estudo, incluindo amostragem dos poluentes, análises de laboratório e medição de vazões. A legislação brasileira dispõe, em conformidade com as resoluções CONAMA 357/05 e CONAMA 430/11, de condições, parâmetros, padrões e diretrizes para a gestão de lançamento de efluentes em corpos d'água receptores para que os usos destes não sejam prejudicados.

Entretanto, as diferentes formas de aporte tornam, na prática, impossível a análise sistemática de todos os poluentes que possam estar presentes nas águas superficiais. Por isso a resolução CONAMA 357/05 classifica as águas doces, salinas e salobras de todo o Território Nacional para o seu enquadramento. Dessa forma, essa resolução estabelece as finalidades às quais as águas são destinadas, indicando, quando para consumo humano, o tipo de tratamento pelo qual deve passar.

Na relação de variáveis de qualidade contempladas na resolução CONAMA 357/05, é encontrada uma grande variedade de substâncias e compostos químicos, orgânicos e inorgânicos, algas e microrganismos, além de propriedades físicas da água. No grupo de variáveis químicas, são contempladas 54 substâncias e compostos, principalmente agroquímicos e solventes orgânicos, alguns dos quais com potencial de interferência no sistema endócrino, embora não sejam contempladas substâncias e compostos químicos que,

na atualidade, encontram-se na categoria de interferentes endócrinos, como por exemplo, hormônios naturais e sintéticos, plastificantes e tensoativos (MIERZWA *et al*, 2009).

A Agência Ambiental de São Paulo (CETESB), órgão de fiscalização ambiental do Estado de São Paulo, faz uso de 50 variáveis de qualidade de água, cuja amostragem é feita na rede de monitoramento de qualidade das águas interiores. Essa rede possui 307 pontos de monitoramento manuais e 13 estações automáticas que geram dados em tempo real.

Os principais objetivos da rede de monitoramento da CETESB são: (1) avaliar a evolução da qualidade das águas interiores dos rios e reservatórios do Estado; (2) propiciar o levantamento das áreas prioritárias para o controle da poluição das águas; (3) subsidiar o diagnóstico e controle da qualidade das águas doces utilizadas para o abastecimento público, verificando se as características da água são compatíveis com o tratamento existente, bem como para outros usos; (4) dar subsídio técnico para a elaboração dos Planos de Bacia e Relatórios de Situação dos Recursos Hídricos, bem como para a implantação da cobrança pelo uso da água, realizados pelos Comitês de Bacias Hidrográficas em níveis estadual e federal, na área compreendida pelo Estado de São Paulo; e (5) identificar trechos de rios onde a qualidade d'água possa estar mais degradada, possibilitando ações preventivas e corretivas da CETESB e de outros órgãos, como a construção de ETE pelos municípios ou a adequação de lançamentos industriais (CETESB, 2006).

O Ministério da Saúde, pela Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011, estabelece o padrão de potabilidade para substâncias químicas que representam risco à saúde. Essas substâncias são classificadas como inorgânicas, orgânicas, agroquímicos, cianotoxinas e desinfetantes e produtos secundários da desinfecção. Nesta, a maioria dos perturbadores endócrinos da atualidade não constam e, portanto, não são analisados nas ETAs. Os resultados obtidos por Yoon *et al.* (2010) indicam que a determinação dos parâmetros de qualidade da água precisa ser considerada para antecipar a ocorrência dos perturbadores endócrinos e dos fármacos.

As fontes poluidoras como os esgotos sanitários, os efluentes industriais e as águas superficiais são bastante complexas no que diz respeito à composição química. O esgoto sanitário, por exemplo, apresenta elevada concentração de produtos de limpeza como detergentes e desinfetantes, fármacos, hormônios etc. O estado de degradação das águas superficiais destinadas ao abastecimento público compromete a qualidade da água potável servida à população.

Recentemente, diversos hormônios e fármacos foram detectados em amostras de esgoto sanitário tratado, águas superficiais e subterrâneas e até mesmo em água potável, em faixas de concentrações de μg L^{-1} e ng L^{-1}. Nas tabelas 4 a 6, estão apresentadas as concentrações de perturbadores endócrinos e fármacos encontradas em águas superficiais e subterrâneas, nos efluentes de ETE e em água potável, respectivamente. Portanto, a avaliação desses contaminantes requer cada vez mais atenção por apresentarem toxicidade para alguns animais vertebrados como peixes, aves, répteis, anfíbios e mamíferos, muito embora ainda não estejam contemplados na legislação ambiental brasileira vigente. A atividade estrogênica encontrada em águas naturais está apresentada na Tabela 7.

Tabela 4 – Quantidade de perturbadores endócrinos e fármacos encontrada em águas naturais

Substância	Matriz	Concentração	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
17α-etinilestradiol	Água represa Rio Preto	ND	SPE e HPLC/Flu	25 ng L^{-1}	100 ng L^{-1}	CORDEIRO, 2009
	Rio Atibaia - ETA Sousas	444 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,83 ng L^{-1}	2,5 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Rio Atibaia - ETA Sumaré	786 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,83 ng L^{-1}	2,5 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Bacia do Rio Atibaia	ND - 4.390 ng L^{-1}	SPE e HPLC/Flu	16 ng L^{-1}	55 ng L^{-1}	RAIMUNDO, 2007
	Lago Tegel (Berlim)	<LQ	SPE e HPLC/MS/MS		0,2 ng L^{-1}	VERSTRAETEN *et al.*, 2003
	Rio Tiber (Roma)	0,04 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,03 ng L^{-1}	BARONTI *et al.*, 2000
	Rios da China	ND - 2,7 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,10 - 0,65 ng L^{-1}	0,20 - 1,3 ng L^{-1}	JIANG *et al.*, 2012
	Rio Atibaia	ND - 4390 ng L^{-1}	SPE e HPLC/Flu	17 ng L^{-1}	56 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rio Atibaia	ND	SPE e HPLC/MS/MS	13,9 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al.*, 2011
	Rio Cotia	ND	SPE e HPLC/MS/MS	13,9 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al.*, 2011
	Rio Sorocaba	ND	SPE e HPLC/MS/MS	13,9 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al.*, 2011
	Rio Han (Coreia do Sul)	ND	SPE e HPLC/MS/MS	1,0 ng L^{-1}		YOON *et al.*, 2010
	Rios Yeongsan e Seomjin (Coreia do Sul)	ND	ELL e GC/MS	5,0 ng L^{-1}		DUONG *et al.*, 2010
	Rios do sudeste da Queensland	<LQ - 0,52 ng L^{-1}	SPE e GC/MS		0,5 ng L^{-1}	YING *et al.*, 2009
	Água subterrânea de Rhône-Alpes (França)	ND - 3,0 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,20 ng L^{-1}	VULLIET *et al.*, 2008
17β-estradiol	Água represa Rio Preto	ND	SPE e HPLC/Flu	100 ng L^{-1}	150 ng L^{-1}	CORDEIRO, 2009
	Rio Atibaia - ETA Sousas	5,46 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,83 ng L^{-1}	2,5 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Rio Atibaia - ETA Sumaré	6,39 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,83 ng L^{-1}	2,5 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Bacia do Rio Atibaia	ND - 6.806 ng L^{-1}	SPE e HPLC/Flu	45 ng L^{-1}	151 ng L^{-1}	RAIMUNDO, 2007
	Lago Tegel (Berlim)	<LQ	SPE e HPLC/MS/MS		0,2 ng L^{-1}	VERSTRAETEN *et al.*, 2003
	Rio Tiber (Roma)	0,11 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,02 ng L^{-1}	BARONTI *et al.*, 2000
	Rio Amarelo (China)	<LQ	SPE e GC/MS		1 ng L^{-1}	WANG *et al.*, 2012
	Rios da China	ND - 1,8 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,10 - 0,65 ng L^{-1}	0,20 - 1,3 ng L^{-1}	JIANG *et al.*, 2012
	Rio Atibaia	464 - 6806 ng L^{-1}	SPE e HPLC/Flu	45 ng L^{-1}	152 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rio Atibaia	ND	SPE e HPLC/MS/MS	5,9 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al.*, 2011

Substância	Matriz	Concentração	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
	Rio Cotia	ND	SPE e HPLC/MS/MS	5,9 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al*., 2011
	Rio Sorocaba	ND	SPE e HPLC/MS/MS	5,9 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al*., 2011
	Rio Han (Coreia do Sul)	ND	SPE e HPLC/MS/MS	0,50 ng L^{-1}		YOON *et al*., 2010
	Rios Yeongsan e Seomjin (Coreia do Sul)	ND	ELL e GC/MS	0,5 ng L^{-1}		DUONG *et al*., 2010
	Rios do sul da China	ND - 7,5 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,3 ng L^{-1}	1,0 ng L^{-1}	ZHAO *et al*., 2009
	Rios do sudeste da Queensland	0,39 - 3,77 ng L^{-1}	SPE e GC/MS		0,5 ng L^{-1}	YING *et al*., 2009
	Água subterrânea de Rhône-Alpes (França)	ND - 1,3 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,01 ng L^{-1}	VULLIET *et al*., 2008
AAS	Bacia do Rio Atibaia	476 - 20.960 ng L^{-1}	ELL e HPLC/DAD	49 ng L^{-1}	164 ng L^{-1}	RAIMUNDO, 2007
	Rios da região de Madri	27 - 83 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		1 ng L^{-1}	VALCÁRCEL *et al*., 2011
	Rio Atibaia	476 - 20960 ng L^{-1}	SPE e HPLC/DAD	49 ng L^{-1}	164 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rios Taff e Ely	<LQ - 140 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS		0,3 ng L^{-1}	KASPRZYK-HORDERN *et al*., 2009
Cafeína	Bacia do Rio Atibaia	ND - 127 µg L^{-1}	SPE e HPLC/DAD	0,01 µg L^{-1}	37 ng L^{-1}	RAIMUNDO, 2007
	Rio Mississipi	15,6 - 47,2 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	1,1 ng L^{-1}		WANG *et al*., 2011
	Rio Missouri	17,6 - 49,6 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	1,1 ng L^{-1}		WANG *et al*., 2011
	Rio Atibaia	1170 - 25775 ng L^{-1}	SPE e HPLC/DAD	11 ng L^{-1}	38 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rio Han (Coreia do Sul)	38 - 250 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS			YOON *et al*., 2010
Diclofenaco	Bacia do Rio Atibaia	ND - 96 ng L^{-1}	SPE e HPLC/DAD	13 ng L^{-1}	46 ng L^{-1}	RAIMUNDO, 2007
	Rios da região de Madri	313 - 3363 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		1 ng L^{-1}	VALCÁRCEL *et al*., 2011
	Rio Atibaia	ND - 106 ng L^{-1}	SPE e HPLC/DAD	14 ng L^{-1}	46 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rio Han (Coreia do Sul)	0,87 - 30 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS			YOON *et al*., 2010
	Rios do sul da China	ND - 147 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	1,1 ng L^{-1}	3,6 ng L^{-1}	ZHAO *et al*., 2009
	Rios Taff e Ely	<LQ - 261 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS		0,5 ng L^{-1}	KASPRZYK-HORDERN *et al*., 2009
Estriol	Rio Atibaia - ETA Sousas	3,39 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,16 ng L^{-1}	0,5 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Rio Atibaia - ETA Sumaré	4,12 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,16 ng L^{-1}	0,5 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Rio Tiber (Roma)	0,33 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,02 ng L^{-1}	BARONTI *et al*., 2000
	Rios da China	ND - 4,4 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,10 - 0,65 ng L^{-1}	0,20 - 1,3 ng L^{-1}	JIANG *et al*., 2012

Substância	Matriz	Concentração	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
	Rio Atibaia	ND - 1,5 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,8 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al*., 2011
	Rio Cotia	3,8 - 27,6 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,8 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al*., 2011
	Rio Sorocaba	ND	SPE e HPLC/MS/MS	0,8 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al*., 2011
	Rio Paraíba do Sul	1,00 - 7,27 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	1,13 ng L^{-1}		KUSTER *et al*., 2009
Estrona	Rio Atibaia - ETA Sousas	11,6 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,04 ng L^{-1}	0,125 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Rio Atibaia - ETA Sumaré	0,41 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,04 ng L^{-1}	0,125 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Lago Tegel (Berlim)	0,86 ± 0,17 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,1 ng L^{-1}	VERSTRAETEN *et al.*, 2003
	Rio Tiber (Roma)	1,5 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,008 ng L^{-1}	BARONTI *et al.*, 2000
	Rio Amarelo (China)	1,3 ng L^{-1}	SPE e GC/MS		0,5 ng L^{-1}	WANG *et al*., 2012
	Rios da China	0,45 - 3,0 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,10 - 0,65 ng L^{-1}	0,20 - 1,3 ng L^{-1}	JIANG *et al*., 2012
	Rio Atibaia	ND	SPE e HPLC/DAD	16 ng L^{-1}	55 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rio Atibaia	ND	SPE e HPLC/MS/MS	2,6 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al*., 2011
	Rio Cotia	ND	SPE e HPLC/MS/MS	2,6 ng L^{-1}		BERGAMASCO *et al*., 2011
	Rio Sorocaba	ND - 2,6 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	2,6 ng L^{-1}		BERGAMASCO et al., 2011
	Rio Han (Coreia do Sul)	0,20 - 4,2 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS			YOON *et al*., 2010
	Rios Yeongsan e Seomjin (Coreia do Sul)	14,7 ± 3,6 ng L^{-1}	ELL e GC/MS	0,5 ng L^{-1}		DUONG *et al*., 2010
	Rios do sul da China	ND - 43,3 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,2 ng L^{-1}	0,5 ng L^{-1}	ZHAO *et al*., 2009
	Corpos receptores do sudeste da Queensland	0,55 - 20,91 ng L^{-1}	SPE e GC/MS		0,5 ng L^{-1}	YING *et al*., 2009
	Água subterrânea de Rhône-Alpes (França)	<LQ - 3,5 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,02 ng L^{-1}	VULLIET *et al*., 2008
Ibuprofeno	Bacia do Rio Atibaia	ND	SPE e HPLC/DAD	51 ng L^{-1}	170 ng L^{-1}	RAIMUNDO, 2007
	Rio Mississipi	ND - 8,8 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	1,6 ng L^{-1}		WANG *et al*., 2011
	Rio Missouri	ND - 27,6 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	1,6 ng L^{-1}		WANG *et al*., 2011
	Rios da região de Madri	2234 - 16886 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		7 ng L^{-1}	VALCÁRCEL *et al*., 2011
	Rio Atibaia	ND	SPE e HPLC/DAD	51 ng L^{-1}	170 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rio Han (Coreia do Sul)	1,2 - 51 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS			YOON *et al*., 2010
	Rios do sul da China	ND - 490 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,7 ng L^{-1}	2,2 ng L^{-1}	ZHAO *et al*., 2009

Substância	Matriz	Concentração	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
	Rios Taff e Ely	<LQ - 74 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS		0,3 ng L^{-1}	KASPRZYK-HORDERN *et al*., 2009
Paracetamol	Bacia do Rio Atibaia	ND - 13.440 ng L^{-1}	SPE e HPLC/DAD	33 ng L^{-1}	111 ng/ L^{-1}	RAIMUNDO, 2007
	Rios da região de Madri	188 - 2813 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		4 ng L^{-1}	VALCÁRCEL *et al*., 2011
	Rios Taff e Ely	<LQ - 1534 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS		1,5 ng L^{-1}	KASPRZYK-HORDERN *et al*., 2009
Progesterona	Rio Atibaia	ND - 195 ng L^{-1}	SPE e HPLC/DAD	12 ng L^{-1}	66 ng L^{-1}	MONTAGNER e JARDIM, 2011
	Rio Han (Coreia do Sul)	ND	SPE e HPLC/MS/MS	0,50 ng L^{-1}		YOON *et al*., 2010
	Rio Paraíba do Sul	0,51 - 47,2 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,39 ng L^{-1}		KUSTER *et al*., 2009
	Água subterrânea de Rhône-Alpes (França)	2,8 - 4,1 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,01 ng L^{-1}	VULLIET *et al*., 2008

LD: limite de detecção do método
LQ: limite de quantificação do método
ND: não detectado
SPE: extração em fase sólida
ELL: extração líquido-líquido
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
UPLC: cromatografia líquida de ultra eficiência
GC: cromatografia gasosa
MS: espectrometria de massas
DAD: detector por arranjo de diodos
Flu: detector de fluorescência

Tabela 5 – Quantidade de perturbadores endócrinos e fármacos encontrada em efluentes de ETE

Substância	Matriz	Concentração	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
17α-etinilestradiol	Efluentes ETEs Itália	0,49 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,3 ng L^{-1}	BARONTI *et al.*, 2000
	Efluentes ETE Beijing	<LQ	SPE e GC/MS		4,0 ng L^{-1}	NIE *et al.*, 2012
	Efluentes ETEs Coreia do Sul	ND	ELL e GC/MS	5,0 ng L^{-1}		DUONG *et al.*, 2010
17β-estradiol	Efluentes ETEs Itália	1,4 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,2 ng L^{-1}	BARONTI *et al.*, 2000
	Efluentes ETE Beijing	<LQ	SPE e GC/MS		0,8 ng L^{-1}	NIE *et al.*, 2012
	Efluentes ETEs Coreia do Sul	3,9 ± 1,7 ng L^{-1}	ELL e GC/MS	0,5 ng L^{-1}		DUONG *et al.*, 2010
AAS	Efluentes ETE Austrália	200 - 650 ng L^{-1}	SPE e GC/MS		1 ng L^{-1}	AL-RIFAI *et al.*, 2011
	Efluentes ETE Cilfynydd	<LQ - 497 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS		1 ng L^{-1}	KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009
Cafeína	Efluente ETE Alemanha	0,22±0,03 μg L^{-1}	SPE e GC/MS/MS			TERNES *et al.*, 2003
Diclofenaco	Efluentes ETE Austrália	260 ng L^{-1}	SPE e GC/MS		23 ng L^{-1}	AL-RIFAI *et al.*, 2011
	Efluentes ETE Cilfynydd	33 - 142 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS			KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009
	Efluente ETE Alemanha	1,3±0,1 μg L^{-1}	SPE e GC/MS/MS		0,05 μg L^{-1}	TERNES *et al.*, 2003
Estriol	Efluentes ETEs Itália	4,5 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,2 ng L^{-1}	BARONTI *et al.*, 2000
	Efluentes ETE Beijing	<LQ	SPE e GC/MS		2,3 ng L^{-1}	NIE *et al.*, 2012
Estrona	Efluentes ETEs Itália	14,7 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS		0,08 ng L^{-1}	BARONTI *et al.*, 2000
	Efluentes ETE Beijing	12,7 ng L^{-1}	SPE e GC/MS			NIE *et al.*, 2012
	Efluentes ETEs Coreia do Sul	8,8 ± 3,8 ng L^{-1}	ELL e GC/MS	0,5 ng L^{-1}		DUONG *et al.*, 2010
	Efluente ETE Alemanha	0,015±0,002 μg L^{-1}	SPE e GC/MS/MS		0,003 μg L^{-1}	TERNES *et al.*, 2003
Ibuprofeno	Efluentes ETE Austrália	120 - 680 ng L^{-1}	SPE e GC/MS		6 ng L^{-1}	AL-RIFAI *et al.*, 2011
	Efluentes ETE Cilfynydd	131 - 424 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS			KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009
	Efluente ETE Alemanha	0,13±0,03 μg L^{-1}	SPE e GC/MS/MS			TERNES *et al.*, 2003
Paracetamol	Efluentes ETE Cilfynydd	1826 - 24525 ng L^{-1}	SPE e UPLC/MS		80 ng L^{-1}	KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009

LD: limite de detecção do método
LQ: limite de quantificação do método
AAS: ácido acetilsalicílico
ND: não detectado
SPE: extração em fase sólida
ELL: extração líquido-líquido
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
UPLC: cromatografia líquida de ultra eficiência
GC: cromatografia gasosa
MS: espectrometria de massas

Tabela 6 – Quantidade de perturbadores endócrinos e fármacos encontrada em água potável

Substância	Matriz	Concentração	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
17α-etinilestradiol	Água ETA Campinas	275 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Água ETA Sumaré	472 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Água ETA Alemanha	0,15 - 0,50 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,05 ng L^{-1}		KUCH e BALLSCHMITER, 2001
17β-estradiol	Água ETA Campinas	0,92 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Água ETA Sumaré	1,32 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Água ETA Alemanha	0,20 - 2,1 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,10 ng L^{-1}		KUCH e BALLSCHMITER, 2001
Cafeína	Água ETA EUA	0,046 - 0,11 μg L^{-1}	SPE e HPLC-ESI/MS	0,014 μg L^{-1}		STACKELBERG *et al*., 2004
Estriol	Água ETA Campinas	0,70 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,05 ng L^{-1}	0,15 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Água ETA Sumaré	0,62 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,05 ng L^{-1}	0,15 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
Estrona	Água ETA Campinas	0,03 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,01 ng L^{-1}	0,03 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Água ETA Sumaré	0,06 ng L^{-1}	SPE e HPLC/MS/MS	0,01 ng L^{-1}	0,03 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Água ETA Alemanha	0,20 - 0,60 ng L^{-1}	SPE e GC/MS	0,05 ng L^{-1}		KUCH e BALLSCHMITER, 2001

LD: limite de detecção do método
LQ: limite de quantificação do método
SPE: extração em fase sólida
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
GC: cromatografia gasosa
MS: espectrometria de massas

Tabela 7 – Atividade estrogênica encontrada em águas naturais e possíveis substâncias responsáveis pela atividade estrogênica

Substância	Matriz	Concentração	Atividade estrogênica	Ensaio	Referência bibliográfica
Estrona 17β-estradiol	Rio Amarelo (China)	1,3 ng L^{-1} <LQ	0,21 ng EEQ L^{-1}	Teste YES	WANG *et al.*, 2012
Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol Estriol	Rios da China	0,45 - 3,0 ng L^{-1} ND - 1,8 ng L^{-1} ND - 2,7 ng L^{-1} ND - 4,4 ng L^{-1}	0,08 a 2,4 ng EEQ L^{-1}	Teste com levedura	JIANG *et al.*, 2012
Estriol Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol	Rio Atibaia	ND - 1,5 ng L^{-1} ND ND ND	0,13 - 0,33 ng EEQ L^{-1}	BLYES	BERGAMASCO *et al.*, 2011
Estriol Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol	Rio Cotia	3,8 - 27,6 ng L^{-1} ND ND ND	0,35 - 8,7 ng EEQ L^{-1}	BLYES	BERGAMASCO *et al.*, 2011
Estrona Estriol 17β-estradiol 17α-etinilestradiol	Rio Sorocaba	ND - 2,6 ng L^{-1} ND ND ND	0,53 - 2,1 ng EEQ L^{-1}	BLYES	BERGAMASCO *et al.*, 2011
Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol	Rios Yeongsan e Seomjin (Coreia do Sul)	14,7 ± 3,6 ng L^{-1} ND ND	5 ng EEQ L^{-1}	E-screen	DUONG *et al.*, 2010
Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol	corpos receptores do sudeste da Queensland	0,55 - 20,91 ng L^{-1} 0,39 - 3,77 ng L^{-1} <LQ - 0,52 ng L^{-1}	2,62 - 51,14 ng EEQ L^{-1}	ELISA	YING *et al.*, 2009

ND: não detectado
EEQ: *estradiol equivalent*
YES: *yeast estrogen screen*
BLYES: *bioluminescent yeast estrogen assay*
ELISA: *enzime-linked immunosorbent assay*

Em águas superficiais foram encontradas concentrações na ordem de 1 a 7.000 ng L^{-1} para o 17β-estradiol e de 1 a 50 ng L^{-1} para a estrona (Tabela 4). Contudo, concentrações elevadas na ordem de 600 ng L^{-1} de estrona foram detectadas por Bicchi *et al*. (2009) após o lançamento de uma ETE. Em geral, estrona é o estrogênio mais frequentemente detectado. A degradação de 17β-estradiol em estrona, e nas formas conjugadas durante o tratamento de esgotos pode contribuir para a maior presença de estrona nas águas superficiais como sugerido por Chen *et al*. (2009).

A cafeína tem sido utilizada como traçador de atividade humana em diversos trabalhos, pois foi associada com elevadas concentrações de nitratos no meio aquático e com a

presença de coliformes totais (CHEN *et al*., 2002; PIOCOS e DE LA CRUZ, 2000). Dessa forma, pode-se concluir que as elevadas concentrações de perturbadores endócrinos e de fármacos nas águas superficiais estudadas têm origem no lançamento de efluentes sanitários *in natura* ou tratados, como nos rios da bacia do rio Atibaia, bacia caracterizada pela alta taxa de urbanização na Região Metropolitana de Campinas (RMC) (RAIMUNDO, 2007).

Devido ao efeito potencial dos estrogênios em espécies de animais e humanos, fica claro que a ocorrência dessas substâncias no esgoto sanitário e águas naturais são muito importantes. Uma vez no meio aquático, os estrogênios e fármacos estão sujeitos a diferentes processos, tais como diluição, fotólise, biodegradação e sorção em sedimentos, em partículas orgânicas e no lodo biológico, os quais podem contribuir para sua remoção da fase aquosa. A fotodegradação não pode ser considerada a principal maneira de remoção dos contaminantes do ambiente, pois, com exceção do AAS, os demais compostos orgânicos dificilmente são fotodegradados (RAIMUNDO, 2007). A sorção em sedimentos é responsável por menos de 1% da remoção de estrogênios presentes na coluna de água (HOLTHAUS *et al*., 2002) apesar dos valores de K_{OW} desses compostos sugerirem que sua natureza seja hidrofóbica. Uma vez atingida a saturação dos sedimentos, estes se tornam praticamente nulos na remoção de novos lançamentos de hormônios (PEREIRA, 2011).

As quantidades de fármacos e estrógenos em águas dependem de diversos fatores, tais como, tipo de tratamento de efluentes sanitários e água para consumo, sexo, gravidez e quantidade dessas substâncias ingeridas pela população. Não foi detectado traço de ibuprofeno em rios da bacia do rio Atibaia, pois este é um fármaco pouco consumido no Brasil. Além dos fatores relatados anteriormente, ressalta-se que as concentrações em águas naturais destes compostos dependem também da precipitação (chuva) no período de amostragem, devido ao efeito da diluição. As quantidades elevadas de estrógenos encontradas em água no Brasil em comparação com as encontradas no exterior (Tabela 4) estão diretamente relacionadas às altas temperaturas que causam maior ocorrência de estrógenos livres. A influência da temperatura na quantidade de estrógenos encontrados foi relatado por Fernandez *et al*. (2008) que demonstrou que existe uma quantidade maior de estrógenos livres em temperaturas elevadas em um trabalho sobre a influência da sazonalidade na redução da atividade estrogênica de amostras de esgoto em uma ETE municipal do norte do Canadá. Ao mesmo tempo, conforme relatado por Ternes *et al*. (1999), houve diferenças entre as remoções de hormônios de ETEs do Brasil e da Alemanha, as quais operam com os mesmos sistemas de lodo ativado, e se atribui esta diferença a temperatura do ambiente. Na Alemanha, durante o período de amostragem, a média de temperatura era -2°C, enquanto que no Brasil

era de 20° C. Logo, esta disparidade na remoção é devido ao fato de que a eficiência de uma ETE para a eliminação de contaminantes é influenciada por vários parâmetros, tal como atividades microbianas, que pareceu ser mais expressiva no clima tropical, o que pode ter contribuído para a eficácia da ETE do Brasil na eliminação dos hormônios.

Para proteger a qualidade das águas, os órgãos como União Europeia (EU), Agência de Proteção Ambiental do Norte da América (USEPA), Organização Mundial de Saúde (WHO) e Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) publicam diretrizes e leis. Em 1995, a problemática dos estrogênios passou a ser objeto de política pública dos Estados Unidos. Emendas da USEPA na legislação sobre a qualidade da água potável e sobre alimentos, medicamentos e produtos de cuidado pessoal exigiram que se conhecesse o potencial de atividade endócrina de um produto químico antes de o mesmo ser manufaturado ou usado em processos que pudessem contaminar a água ou os alimentos. Entretanto, o EDSP (*Endocrine Disruptor Screening Program*) ainda não determinou se algum composto químico é um potencial perturbador endócrino, apenas tem como base contaminantes candidatos a serem perturbadores endócrinos, publicados pela USEPA na lista de contaminantes químicos e microbiológicos não regulados após recomendação do EDSTAC (*Endocrine Discruptor Screening and Testisng Advisory Committee*) (USEPA, 2011). Portanto, a legislação americana também não estabelece os limites de concentração de perturbadores endócrinos em água potável ou águas naturais.

Algumas diretivas europeias recentes, como, por exemplo, a diretiva 96/61/EEC (*Integrated Pollution Prevention and Control*) incluem referências aos perturbadores endócrinos. A União Europeia elaborou um relatório contendo uma vasta lista de compostos suspeitos de interferir no sistema endócrino, tanto de seres humanos como de diferentes espécies animais (COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS, 1999). Entretanto, evidências são insuficientes para a implementação de legislação que estabeleça padrões e concentrações limites (BIRKETT e LESTER, 2003).

6 TRATAMENTO DE ÁGUA E ESGOTOS E PANORAMA BRASILEIRO

O sistema de abastecimento de água de uma comunidade desde a captação, adução, tratamento, recalque, distribuição e reservação deve ser bem projetado, construído, operado, mantido e conservado, para que a água não se torne veículo de transmissão de diversas doenças, que podem ser classificadas em doenças de veiculação hídrica e doenças de origem hídrica. As primeiras são aquelas em que a água atua como veículo propriamente dito do agente infeccioso; as segundas são aquelas decorrentes de certas substâncias tóxicas contidas na água em teor inadequado.

Para a implantação de obras sanitárias eficientes e sustentáveis, Di Bernardo e Sabogal Paz (2008) citam os seguintes aspectos a serem considerados: aspectos sociais, culturais, institucionais, técnicos, econômicos, financeiros, ambientais e a disponibilidade de recursos locais.

As principais tecnologias de tratamento de água são: ciclo completo, filtração direta ascendente, filtração direta descendente, dupla filtração, floto-filtração e filtração em múltiplas etapas. A tecnologia de filtração em múltiplas, composta por pré-filtros e filtros lentos, desenvolvida na década de 1980, a partir de pesquisas realizadas no Brasil e na Colômbia, ainda é pouco utilizada no Brasil (SABOGAL PAZ, 2007).

De acordo com Sabogal Paz (2007), a maioria dos municípios brasileiros usa a tecnologia denominada convencional ou ciclo completo, sendo empregada, em maior proporção, nas regiões Sul e Sudeste. Tal tecnologia envolve os processos de coagulação no mecanismo de varredura, floculação, sedimentação e filtração para clarificação da água, seguida de desinfecção e fluoração.

O cloro é o desinfetante mais utilizado em ETAs no Brasil devido principalmente às suas vantagens quanto ao custo e residual na rede de distribuição de água de abastecimento. É normalmente aplicado na forma de cloro gasoso, hipoclorito de sódio ou de cálcio. Por outro lado, a desinfecção com cloro pode ocasionar a formação de subprodutos tóxicos na presença de matéria orgânica. A desinfecção com ozônio é uma prática mais difundida em países da Europa, mas não muito empregado no Brasil. Por ser um oxidante muito forte, o ozônio é um eficiente desinfetante, possibilitando o controle do sabor, odor, cor e algas em um menor tempo de contato que o cloro. Sua aplicação forma subprodutos orgânicos halogenados apenas na presença de bromo. Entretanto, a ozonização é uma tecnologia mais complexa e que

apresenta custos mais elevados em relação aos outros processos de desinfecção normalmente utilizados, além de o ozônio ser altamente corrosivo, tóxico e não possuir um residual estável, sendo necessária a adição de um desinfetante secundário para manter residual no sistema de distribuição de água (JORDÃO e PESSOA, 2005). Outros processos são utilizados no tratamento da água para consumo, como o carvão ativado, membranas filtrantes e processos oxidativos.

O carvão ativado é um adsorvente que pode ser usado na forma de pó (CAP) ou em forma de grânulos (CAG). O carvão utilizado nas ETAs brasileiras, em geral, é de base vegetal. O CAP remove efetivamente muitos poluentes orgânicos, como, por exemplo, compostos que têm odor e sabor e alguns pesticidas, herbicidas e hormônios. No Brasil, o uso de unidades de CAG pós-filtração rápida não é feito, por implicar em construção ou reforma na ETA, além do custo operacional relativo à remoção e reposição do carvão após saturação.

As membranas filtrantes permitem, dependendo do tamanho dos poros, separar íons de diâmetro pequeno, como o cloreto de sódio (0,1-1 nm, membranas de osmose reversa), macromoléculas e partículas coloidais (1-100 nm, membranas de ultrafiltração) e partículas microscópicas (100-1000 nm, microfiltração). O mercado de tratamento de água e esgoto é atualmente dominado por membranas produzidas a partir de polímeros orgânicos. No Brasil, seu uso ainda se restringe às indústrias devido, principalmente, a seu custo. Outra desvantagem de seu uso é a geração de resíduos, os quais necessitam de pós-tratamento.

Os processos oxidativos avançados (POA) são métodos que utilizam catalisadores, como, por exemplo, o dióxido de titânio (TiO_2), o sulfeto de cádmio (CdS), o óxido de zinco (ZnO), o trióxido de tungstênio (WO_3), o sulfeto de zinco (ZnS) e o óxido de ferro (III) (Fe_2O_3), para acelerar a reação de oxidação ou, em muitos casos, também a luz. No Brasil, o uso de POA tem ficado restrito ao tratamento de efluentes especiais, notadamente aqueles contendo poluentes de baixa degradabilidade, em estações de tratamento de efluentes industriais.

De acordo com o Ministério das Cidades, em 2010, quando consideradas as áreas urbanas e rurais, 81,1% da população brasileira tinha acesso à água potável. Como citado anteriormente, a maioria dos municípios utiliza a tecnologia convencional de tratamento de água. Entretanto, deve-se lembrar que, quando o manancial é subterrâneo, geralmente, a água é apenas clorada, fluoretada e distribuída. De acordo com a Agência Nacional de Águas - ANA (2010), 47% dos municípios brasileiros são abastecidos exclusivamente por águas

subterrâneas e 14% possui abastecimento misto (abastecimento por manancial superficial e subterrâneo).

Em sistemas de tratamento de esgoto é realizada a remoção de poluentes de modo a atingir os requisitos de legislações específicas citadas anteriormente, que preveem padrões de qualidade para o efluente e para o corpo receptor. Além disso, o tratamento e a disposição segura do esgoto sanitário podem reduzir infecções intestinais e infecções por helmintos, incluindo cólera, febre tifoide e paratifoide, disenterias e diarreias, verminoses e esquistossomose. Desse modo, podem-se empregar diversos processos para o tratamento do esgoto, levando, ainda, em consideração, a característica do esgoto bruto gerado, a eficiência e o custo de cada processo unitário, além da disponibilidade de área.

von Sperling (1995) cita que os aspectos importantes na seleção de sistemas de tratamento de esgotos são: eficiência, confiabilidade, disposição do lodo, requisitos de área, impactos ambientais, custos de operação, custos de implantação, sustentabilidade e simplicidade. Cada sistema deve ser analisado individualmente, adotando-se a melhor alternativa técnica e econômica.

De modo geral, os tratamentos convencionais empregados nas ETEs compreendem diversas fases ou graus de tratamento e costumam ser classificados em tratamento preliminar, primário, secundário e terciário.

O tratamento preliminar destina-se à preparação do esgoto para a disposição ou tratamento subsequente, onde se remove apenas os sólidos grosseiros, gorduras e sólidos sedimentáveis (areia). As unidades preliminares de tratamento mais comuns são as grades ou peneiras, responsáveis pela retenção de materiais em suspensão no esgoto (madeira, trapos e panos, latas, papelão etc.); e as caixas de areia ou desarenadores, que retém partículas discretas basicamente constituídas por areia; os tanques de remoção de óleos e graxas, tendo também a possibilidade do uso de flotadores. As principais finalidades do tratamento preliminar são: proteção dos dispositivos de transporte dos esgotos, proteção das unidades de tratamento subsequentes e proteção dos corpos receptores.

O tratamento primário, por sua vez, consiste na remoção de sólidos sedimentáveis e flutuantes através de operações físicas. O esgoto, após passar pelas unidades de tratamento preliminar, contém ainda os sólidos em suspensão não grosseiros, os quais podem ser parcialmente removidos em unidades de sedimentação. Uma parte significativa desses sólidos em suspensão é compreendida pela matéria orgânica em suspensão. Assim, a sua remoção por processos simples como a sedimentação implica na redução da carga de DBO dirigida ao

tratamento secundário. A remoção da matéria orgânica em suspensão reduz o custo de tratamentos aeróbios secundários, que demandam energia para aeração.

Os decantadores podem ser circulares ou retangulares. A massa de sólidos sedimentada é denominada lodo primário bruto. Pode ser retirada por meio de uma tubulação única em tanques de pequenas dimensões ou através de raspadores mecânicos e bombas em tanques maiores e em seguida, deve ser encaminhada a uma unidade de digestão de lodo, para que seja estabilizado. Materiais flutuantes, como graxas e óleos, tendo uma menor densidade que o líquido circundante, sobem para a superfície dos decantadores, onde são coletados e removidos do tanque para posterior tratamento.

O tratamento secundário é aquele que apresenta um tratamento biológico e consiste na remoção de matéria orgânica coloidal e, consequentemente, na diminuição da demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Enquanto nos tratamentos preliminar e primário predominam mecanismos de ordem física, no tratamento secundário a remoção de matéria orgânica é efetuada por reações bioquímicas, realizadas por microrganismos. Os principais processos biológicos empregados em tratamento de esgoto são o aeróbio e o anaeróbio. Os microrganismos convertem a matéria orgânica em gás carbônico, água e material celular. Essa decomposição biológica do material orgânico requer a manutenção de condições ambientais favoráveis, como temperatura, pH, tempo de contato, relação alimento/microrganismo (A/M) etc..

Quando há utilização de processos biológicos, os microrganismos são confinados para efetuar a degradação da matéria orgânica em condições concebidas especificamente para esse fim. Essas unidades são denominadas de reatores biológicos ou biorreatores, que são projetados de maneira a tentar otimizar os processos e minimizar custos, para que se consiga a maior eficiência possível, respeitando-se as restrições impostas para proteção do corpo receptor e as limitações de recursos disponíveis. Portanto, a degradação ocorre de forma mais controlada e mais rápida que a observada em ambiente natural, nos corpos receptores (CAMPOS, 1994). Os tratamentos mais empregados são: lagoa facultativa, sistema australianos de lagoas, lagoa aerada, lodos ativados, reator anaeróbio de manta de lodo (UASB), filtro biológico aeróbio e filtro biológico anaeróbio.

Para o lançamento final do esgoto no corpo receptor, às vezes, é necessário proceder à desinfecção das águas residuárias tratadas para a remoção e ou inativação dos organismos patogênicos ou, em casos especiais, à remoção de determinados nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo, que podem potenciar, isoladamente ou em conjunto, a eutrofização das águas

receptoras. A desinfecção pode ser feita pela aplicação de cloro, ozônio ou radiação UV. Apesar do menor custo e da facilidade de operação, se escolhida a cloração, deve-se remover o cloro residual antes do lançamento do efluente em corpo receptor. Estes são os objetivos do tratamento terciário, no qual também podem ser removidos compostos não biodegradáveis e metais pesados em tratamentos avançados ou combinados.

O tratamento dos subprodutos sólidos gerados nas diversas unidades de uma ETE é uma etapa essencial do tratamento dos esgotos. De maneira geral, os subprodutos sólidos gerados no tratamento biológico dos esgotos são: material gradeado, areia, escuma, lodo primário e lodo secundário. Destes subprodutos, o principal em termos de volume e importância é representado pelo lodo. Em determinados sistemas de tratamento, o lodo já sai estabilizado, como nos sistemas de tratamento aneróbio, sendo necessárias apenas as etapas de desidratação e disposição final. Já para o lodo primário e os lodos do sistema de lodos ativados convencional e do filtro biológico de alta carga, devem ser previstos o adensamento, a digestão e a desidratação anteriormente à disposição final.

No Brasil, a maioria do esgoto sanitário não é tratado, o que torna os mananciais mais poluídos. O crescimento da população humana provoca o aumento da demanda de recursos hídricos, escassos em quantidade e qualidade; portanto o reúso de esgotos é necessário. As tecnologias utilizadas para reúso de efluentes sanitários dependem da finalidade dessa água de reúso. Para todos os fins, deve-se considerar a inativação de patógenos e, apenas para alguns fins, deve-se prever a remoção de nutrientes e micropoluentes.

Apesar do reconhecimento da importância do tratamento e disposição adequada dos efluentes sanitários, de acordo com o Ministério das Cidades (2010), apenas 46,2% da população brasileira é atendida pela coleta de esgotos. Do esgoto gerado, apenas 37,9% recebe algum tipo de tratamento. A maior parte das ETEs brasileiras emprega o tratamento preliminar, primário e secundário. Algumas ainda realizam a remoção de nutrientes e patógenos, mas dificilmente removem micropoluentes. No Brasil, as alternativas mais utilizadas para desinfecção de esgotos sanitários são as lagoas de maturação e a cloração pelo fato de estas apresentarem baixo custo e serem tecnologias já amplamente conhecidas (DIAS *et al*., 2008). A prática de reúso de esgotos sanitários é ainda mais rara, devido à falta de tratamento de esgoto associado ao risco de uso desses efluentes não tratados para o ambiente e a saúde pública; à falta de legislação que regulamente o reúso; e ao elevado custo da água de reúso, quando comparado ao custo da água tratada.

7 PROCESSOS, OPERAÇÕES UNITÁRIAS E TRATAMENTOS PARA DEGRADAÇÃO OU REMOÇÃO DE FÁRMACOS E PERTURBADORES ENDÓCRINOS E INTERRUPÇÃO DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA

Vários organismos excretam diferentes quantidades de esteroides sexuais, dependendo da idade, do estado de saúde, da dieta ou gravidez. Como citado anteriormente, alguns fármacos ingeridos, quando não são metabolizados completamente pelo organismo, são eliminados junto às fezes e urina. Por isso, esses compostos têm sido detectados em amostras provenientes de sistemas aquáticos, como os esgotos sanitários, o que demonstra que a eficiência do tratamento de esgoto, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, é apenas parcial (GHISELLI, 2006; ZORITA *et al*, 2009).

Os efluentes de ETE são importantes fontes de lançamento de substâncias estrogênicas no ambiente aquático. Desbrow *et al*. (1998) e Jobling *et al*. (1998) demonstraram que os estrogênios naturais e sintético são responsáveis pela maior parte da atividade estrogênica detectada em efluentes de ETE no Reino Unido. Entretanto, subprodutos do tratamento responsável pela remoção de micropoluentes, além de outras substâncias, como os fármacos, também podem apresentar atividade estrogênica.

Perturbadores endócrinos e fármacos podem ser encontrados também em água potável, uma vez que está presente no manancial e a eficiência de remoção em sistemas de tratamento de água é parcial. A seguir, estão apresentados os processos, operações unitárias e tratamentos para degradação ou remoção de fármacos e perturbadores endócrinos e interrupção da atividade estrogênica em ETEs e ETAs encontrados na literatura.

7.1 Tratamento primário e secundário de efluentes sanitários

Carballa *et al*. (2004) investigaram a remoção de algumas substâncias nas ETEs na Espanha, dentre elas o 17β-estradiol e o estrona. No tratamento primário, o 17β-estradiol foi parcialmente removido (20%), indicando que a adsorção nas partículas sólidas é o mecanismo envolvido na sua remoção. Por outro lado, no tratamento biológico (processo de lodos ativados), o 17β-estradiol foi removido 47% alcançando uma remoção global na ETE em torno de 65%. Foi detectado que as concentrações de estrona aumentaram durante o tratamento, indicando que sob condições oxidativas, o 17β-estradiol foi convertido em estrona, o qual é mais lentamente degradado.

Estrógenos e fármacos parecem ser facilmente biodegradados em sistemas de lodos ativados (Tabela 8). Condições operacionais, como o tempo de detenção hidráulica, o tempo de retenção celular e a temperatura, mostraram ter relação com a eficiência de remoção desses compostos (MIÈGE *et al.*, 2008). O aumento do tempo de detenção hidráulica no sistema de lodos ativados aumentou a eficiência de remoção de estriol e diminuiu a de estrona, subproduto da conversão de outros estrógenos. O etinilestradiol, estrógeno artificial, apresenta eficiência de remoção em torno de 80%, menor do que a eficiência de remoção apresentada pelo estradiol, estrógeno natural.

Sistemas de tratamento nos quais é prevista remoção de nutrientes, como em sistemas de lodos ativados com região anóxica e o processo anaeróbio/anóxico/óxico (A/A/O), apresentaram elevada eficiência de remoção dos micropoluentes estudados. Observou-se alto grau de remoção de 70 fármacos, entre eles o paracetamol, o ibuprofeno, o diclofenaco, o estriol, o progesterona, o estrona, o estradiol e o etinilestradiol, em sistemas de lodos ativados com remoção de nitrogênio, na Suécia, devido ao mecanismo de biodegradação. Provavelmente, essa remoção se deve à composição diversificada de bactérias e a relação de sinergismo entre elas em um sistema que prevê a nitrificação e a desnitrificação (FALÅS *et al.*, 2012; JONES *et al.*, 2005; VANPARYS *et al.*, 2010).

Verificou-se também remoção de atividade estrogênica nos sistemas de lodos ativados (Tabela 9). Quando biodegradado parcialmente, a atividade estrogênica pode não cessar. Segundo TERNES *et al.* (1999), a biodegradação do estradiol no sistema de tratamento resulta no metabolito estriol sob condições aeróbias durante o tratamento secundário. Aumentos similares nos níveis de estriol durante processos aeróbios de tratamento de esgoto também foram encontrados por Hashimoto e Murakami (2009).

Körner *et al.* (2000) investigaram a remoção da atividade estrogênica em uma estação de tratamento de efluente sanitário na Alemanha e determinaram que 90% da atividade estrogênica foi removida, e somente 2,8% da atividade estrogênica foi encontrada no lodo biológico, concluindo que a maior parte das substâncias responsáveis pela estrogenicidade do esgoto sanitário foi de fato biodegradada e não ficaram adsorvidas nas partículas sólidas ou lodo biológico. A adsorção dessas substâncias no lodo biológico é um importante caminho para sua remoção, pois os compostos estudados apresentam alto valor de K_{OW}. Alguns estudos têm mostrado concentrações de até 37 ng g^{-1} de fármacos no lodo de esgoto, mostrando que a adsorção é um passo importante na remoção de perturbadores endócrinos juntamente com a biodegradação parcial (TERNES *et al.*, 1999). Dessa forma, a presença de

fármacos e perturbadores endócrinos em lodos biológicos deve ser considerada durante tratamento e disposição.

A remoção desses compostos por filtros biológicos também foi avaliada. Os filtros biológicos apresentaram alta eficiência de remoção, de 67% para o estrona, 92% para o estradiol, 64% para o etinilestradiol, 99,8% para o paracetamol, 94% para o ibuprofeno e 99,4% para o AAS (KASPRZYK-HORDERN *et al*., 2009; STUMPF *et al*., 1999; TERNES *et al*., 1999). O diclofenaco apresentou baixa remoção em sistemas de lodos ativados (29%) e em filtros biológicos (31%) (AL-RIFAI *et al*., 2011; KASPRZYK-HORDERN *et al*., 2009).

Lee *et al.* (2011) estudaram a biodegradação do estradiol na presença de ácido húmico e concluíram que a biodegradação de estradiol decresce com o aumento da concentração de ácido húmico. A estrogenicidade foi estimada como mais baixa na ausência de ácido húmico, situação na qual ocorreu a maior remoção de estradiol (89%).

A remoção de perturbadores endócrinos também foi avaliada em condições anaeróbias por Esperanza *et al*. (2004). A progesterona e o estradiol foram completamente removidos. O estriol, a estrona e o etinilestradiol apresentaram remoção de 65%, 58% e 75%, respectivamente. Assim como nos tratamento aeróbios, o estrona apresentou menor remoção.

Tabela 8 – Remoção de estrógenos e fármacos em sistemas de lodos ativados e por processo anaeróbio/anóxico/óxico

Descrição do tratamento	Substância	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	TDH	Referência bibliográfica
Lodos ativados	17α-etinilestradiol	Esgotos ETEs Itália	3,4 ng L^{-1}	0,49 ng L^{-1}	86%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,9 ng L^{-1} (afluente) e 0,3 ng L^{-1} (efluente)	12 h	BARONTI *et al.*, 2000
	17α-etinilestradiol	Esgotos ETEs Itália	2,6 ng L^{-1}	0,40 ng L^{-1}	85%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,9 ng L^{-1} (afluente) e 0,3 ng L^{-1} (efluente)	14 h	BARONTI *et al.*, 2000
	17α-etinilestradiol	Esgotos ETEs Coreia do Sul	ND	ND		ELL e GC/MS	5,0 ng L^{-1}	-	-	DUONG *et al.*, 2010
	17β-estradiol	Esgotos ETEs Itália	11,3 ng L^{-1}	1,4 ng L^{-1}	88%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,6 ng L^{-1} (afluente) e 0,2 ng L^{-1} (efluente)	12 h	BARONTI *et al.*, 2000
	17β-estradiol	Esgotos ETEs Itália	11,8 ng L^{-1}	1,4 ng L^{-1}	88%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,6 ng L^{-1} (afluente) e 0,2 ng L^{-1} (efluente)	14 h	BARONTI *et al.*, 2000
	17β-estradiol	Esgotos ETEs Coreia do Sul	18,6 ± 3,7 ng L^{-1}	3,9 ± 1,7 ng L^{-1}	79%	ELL e GC/MS	0,5 ng L^{-1}	-	-	DUONG *et al.*, 2010
	AAS	Esgotos ETE Cilfynydd	1479 - 18479 ng L^{-1}	<LQ - 497 ng L^{-1}	97%	SPE e UPLC/MS	-	1 ng L^{-1}	-	KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009
	Estriol	Esgotos ETEs Itália	70 ng L^{-1}	4,5 ng L^{-1}	94%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,6 ng L^{-1} (afluente) e 0,2 ng L^{-1} (efluente)	12 h	BARONTI *et al.*, 2000
	Estriol	Esgotos ETEs Itália	91 ng L^{-1}	1,5 ng L^{-1}	98%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,6 ng L^{-1} (afluente) e 0,2 ng L^{-1} (efluente)	14 h	BARONTI *et al.*, 2000
	Estrona	Esgotos ETEs Itália	57 ng L^{-1}	14,7 ng L^{-1}	74,21%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,2 ng L^{-1}afluente) e 0,08 ng L^{-1} (efluente)	12 h	BARONTI *et al.*, 2000
	Estrona	Esgotos ETEs Itália	46 ng L^{-1}	22 ng L^{-1}	52,17%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,2 ng L^{-1} (afluente) e 0,08 ng L^{-1} (efluente)	14 h	BARONTI *et al.*, 2000
	Estrona	Esgotos ETEs Coreia do Sul	44 ± 5,1 ng L^{-1}	8,8 ± 3,8 ng L^{-1}	80%	ELL e GC/MS	0,5 ng L^{-1}	-	-	DUONG *et al.*, 2010
	Ibuprofeno	Esgotos ETE Cilfynydd	968 - 2986 ng L^{-1}	131 - 424 ng L^{-1}	84%	SPE e UPLC/MS	-	-	-	KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009
	Paracetamol	Esgotos ETE Cilfynydd	68107 - 482687 ng L^{-1}	1826 - 24525 ng L^{-1}	94%	SPE e UPLC/MS	-	80 ng L^{-1}	-	KASPRZYK-HORDERN *et al.*, 2009
Lodos	AAS	Esgotos ETE	11 - 38 µg L^{-1}	200 - 650 ng L^{-1}	98%	SPE e GC/MS	-	1 ng L^{-1}	24 h	AL-RIFAI *et*

Descrição do tratamento	Substância	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	TDH	Referência bibliográfica
ativados com remoção de nutrientes		Austrália								*al*., 2011
	Diclofenaco	Esgotos ETE Austrália	120 - 610 ng L^{-1}	260 ng L^{-1}	29%	SPE e GC/MS	-	23 ng L^{-1}	24 h	AL-RIFAI *et al*., 2011
	Ibuprofeno	Esgotos ETE Austrália	2500 - 10500 ng L^{-1}	120 - 680 ng L^{-1}	94%	SPE e GC/MS	-	6 ng L^{-1}	24 h	AL-RIFAI *et al*., 2011
Processo anaeróbio/ anóxico/ óxico (A/A/O)	Estrona	Esgotos ETE Beijing	51,7 ng L^{-1}	12,7 ng L^{-1}	75,40%	SPE e GC/MS	-	-	14 h	NIE *et al.*, 2012
	17β-estradiol	Esgotos ETE Beijing	7,7 ng L^{-1}	<LQ	>90,0%	SPE e GC/MS	-	0,8 ng L^{-1}	14 h	NIE *et al.*, 2012
	17α-etinilestradiol	Esgotos ETE Beijing	77,7 ng L^{-1}	<LQ	>95,0%	SPE e GC/MS	-	4,0 ng L^{-1}	14 h	NIE *et al.*, 2012
	Estriol	Esgotos ETE Beijing	459,1 ng L^{-1}	<LQ	>99,5%	SPE e GC/MS	-	2,3 ng L^{-1}	14 h	NIE *et al.*, 2012

AAS: ácido acetilsalicílico
TDH: tempo de detenção hidráulica
ND: não detectado
SPE: extração em fase sólida
ELL: extração líquido-líquido
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
UPLC: cromatografia líquida de ultra eficiência
GC: cromatografia gasosa
MS: espectrometria de massas
- não analisado ou não informado
LD: limite de detecção do método
LQ: limite de quantificação do método

Tabela 9 – Remoção de atividade estrogênica em sistemas de lodos ativados e possíveis substâncias responsáveis pela atividade estrogênica

Substância	**Matriz**	**Concentração residual**	**Eficiência de remoção**	**Atividade estrogênica residual**	**Remoção atividade estrogênica**	**Ensaio atividade estrogênica**	**Referência bibliográfica**
Estrona	Esgotos ETEs Coreia do Sul	8,8 ± 3,8 ng L^{-1}	80%	4,1 ng EEQ L^{-1}	83%	E-screen	DUONG *et al.*, 2010
17β-estradiol		3,9 ± 1,7 ng L^{-1}	79%				
17α-etinilestradiol		ND	-				
-	Esgotos ETEs Texas	-	-	7,40 ng EEQ L^{-1}	60%	Ensaio de 4 horas com levedura	BALSIGER *et al.*, 2010
-	Esgotos Paris	-	-	2,5 ng EEQ L^{-1}	95%	Ensaio com luciferase reporter gene	JUGAN *et al.*, 2009

EEQ: *estradiol equivalent*
ND: não detectado
- não analisado ou não informado

7.2 Tratamento convencional de água

O tratamento convencional de água mostrou-se eficiente na remoção de perturbadores endócrinos e fármacos (Tabela 10). Entretanto, a remoção é atribuída à adsorção em carvão ativado e antracito e à oxidação por cloro durante etapa de desinfecção, pois a etapa de clarificação (coagulação, floculação e sedimentação) mostrou-se ineficiente na remoção desses micropoluentes, sendo que a aplicação de sulfato de ferro como coagulante apresentou eficiência de remoção de estrona de 81%, sendo a maior eficiência apresentada (CHEN *et al*., 2007; TERNES *et al*., 2002 e VERSTRAETEN *et al*., 2003).

O uso de somente processos de precipitação química com sais de ferro e alumínio não reduziu a atividade estrogênica. A remoção por coagulação com sulfato de alumínio foi de 5% para o estrona e de 2% para o 17β-estradiol. A coagulação com sulfato de alumínio (10 mg Al/mg COT) ou cloreto férrico (10 mg Fe/mg COT) removeu menos que 20% dos compostos, os quais foram associados com matéria particulada (WESTERHOFF *et al*., 2005). Chen *et al*. (2007), após coagulação e floculação com sulfato de alumínio (5 mg L^{-1}), obtiveram remoção de 30 a 50%. No mesmo estudo, na etapa de filtração rápida, a remoção foi de 95 a 99%, contudo após estudar com mais detalhes a causa da alta eficiência encontrada, concluíram que esta foi devido à adsorção dos estrogênios pelo antracito, pois nas mesmas condições testaram a remoção com filtro de areia apenas e obtiveram de 31 a 42% de remoção.

Ternes *et al*.(2002) investigaram a remoção de diclofenaco e de mais três fármacos em diferentes processos de tratamento, como floculação, adsorção em carvão ativado e ozonização em estação piloto e estação de tratamento de água real. O processo de floculação com $FeCl_3$ não apresentou significância na remoção dos fármacos investigados. Por exemplo, a concentração relativa (C/C_0) após floculação foi de 96 ± 11% para o diclofenaco, Por outro lado, os quatro fármacos investigados podem ser eficientemente removidos sob condições reais pela filtração em carvão ativado.

Tabela 10 – Remoção de estrógenos e fármacos por processos utilizados no tratamento convencional de água

Descrição do tratamento	Substância	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
Coagulação (5 mg L^{-1}alumínio)	17α-etinilestradiol	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	82,7 ng L^{-1}	17,30%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,55 ng L^{-1}	1,83 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	17β-estradiol	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	47,9 ng L^{-1}	52,10%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,80 ng L^{-1}	2,67 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	Estriol	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	73,3 ng L^{-1}	26,70%	SPE e HPLC-ESI/MS	1,29 ng L^{-1}	4,30 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	Estrona	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	62,7 ng L^{-1}	37,30%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,47 ng L^{-1}	1,57 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
Filtração em carvão ativado granular (TDH=10 min)	Diclofenaco	Água destilada e águas naturais	0,06 μg L^{-1}	<LQ	>97%	SPE e GC/MS	-	2 ng L^{-1}	TERNES *et al.*, 2002
Filtração rápida	17α-etinilestradiol	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	5,1 ng L^{-1}	94,90%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,55 ng L^{-1}	1,83 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	17β-estradiol	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	3,7 ng L^{-1}	96,30%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,80 ng L^{-1}	2,67 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	Estriol	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	7,6 ng L^{-1}	92,40%	SPE e HPLC-ESI/MS	1,29 ng L^{-1}	4,30 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	Estrona	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	5,9 ng L^{-1}	94,10%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,47 ng L^{-1}	1,57 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
Coagulação com cloreto de ferro (pH = 7,5)	Diclofenaco	Água destilada e águas naturais	1 μg L^{-1}	0,96 μg L^{-1}	4%	SPE e GC/MS	-	2 ng L^{-1}	TERNES *et al.*, 2002
Coagulação com sulfato de ferro	Estrona	Água ETA Tegel (Alemanha)	0,86 ± 0,17 ng L^{-1}	0,16 ± 0,05 ng L^{-1}	81%	SPE e HPLC/MS/MS	-	0,1 ng L^{-1}	VERSTRAETEN *et al.*, 2003
Tratamento convencional (pré-tratamento com CAP e hipoclorito de sódio e desinfecção c/ hipoclorito de sódio)	Cafeína	Água ETA EUA	0,095 - 0,23 μg L^{-1}	0,046 - 0,11 μg L^{-1}	52%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,014 μg L^{-1}	-	STACKELBERG *et al.*, 2004
Tratamento	Ibuprofeno	Água lago Paldang	15 ng L^{-1}	ND	>93%	SPE e HPLC/MS/MS	1,0 ng L^{-1}	-	KIM *et al.*, 2007

Descrição do tratamento	Substância	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
convencional seguido de ultrafiltração e CAG	Cafeína	Água lago Paldang	45 ng L^{-1}	ND	>78%	SPE e HPLC/MS/MS	10 ng L^{-1}	-	KIM *et al*., 2007
Tratamento convencional (pré-tratamento por cloração e CAP)	17α-etinilestradiol	Água ETA Campinas	444 ng L^{-1}	275 ng L^{-1}	38%	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	17α-etinilestradiol	Água ETA Sumaré	786 ng L^{-1}	472 ng L^{-1}	40%	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	17β-estradiol	Água ETA Campinas	5,46 ng L^{-1}	0,92 ng L^{-1}	79%	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	17β-estradiol	Água ETA Sumaré	6,39 ng L^{-1}	1,32 ng L^{-1}	79%	SPE e HPLC/MS/MS	0,21 ng L^{-1}	0,65 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Estriol	Água ETA Campinas	3,39 ng L^{-1}	0,70 ng L^{-1}	79%	SPE e HPLC/MS/MS	0,05 ng L^{-1}	0,15 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Estriol	Água ETA Sumaré	4,12 ng L^{-1}	0,62 ng L^{-1}	65%	SPE e HPLC/MS/MS	0,05 ng L^{-1}	0,15 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Estrona	Água ETA Campinas	11,6 ng L^{-1}	0,03 ng L^{-1}	99%	SPE e HPLC/MS/MS	0,01 ng L^{-1}	0,03 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005
	Estrona	Água ETA Sumaré	0,41 ng L^{-1}	0,06 ng L^{-1}	79%	SPE e HPLC/MS/MS	0,01 ng L^{-1}	0,03 ng L^{-1}	GEROLIN, 2005

TDH: tempo de detenção hidráulica CAP: carvão ativado em pó CAG: carvão ativado granular ND: não detectado
SPE: extração em fase sólida HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência MS: espectrometria de massas ESI: ionização por spray de elétrons
- não analisado ou não informado LD: limite de detecção do método LQ: limite de quantificação do método

7.3 Cloração

A cloração mostrou-se eficiente na oxidação de etinilestradiol e estradiol (Tabela 11). Os resultados obtidos por Chen *et al*. (2007) não apresentaram alta eficiência de remoção de estrógenos, contudo, ressalta-se que o tempo de contato com o produto químico foi de 10 minutos, em oposição aos que apresentaram alta eficiência de remoção, cujos tempos de contato foram superiores a 30 minutos. Cafeína e ibuprofeno mostraram-se não reativos ao dióxido de cloro (HUBER *et al*., 2005).

Além do tempo de contato, a dosagem do produto químico, a concentração inicial do micropoluente e sua estrutura molecular interferem na eficiência de remoção. Pereira (2011) verificou que a concentração inicial de hormônio afetou a eficiência de remoção dos mesmos. Quanto menor a concentração inicial de hormônios, menor foi a remoção. No entanto, este efeito tende a diminuir com o aumento da dosagem de cloro aplicada.

Em estudos de remoção de fármacos e produtos de uso pessoal em ETA piloto, Westerhoff *et al*.(2005) concluíram que a cloração, pela adição de 1 a 6 mg Cl_2 L^{-1}, após 24 horas, resultou em 1 mg Cl_2 de residual por litro. Os compostos contendo anel aromático com um grupo funcional hidroxílico foram os mais reativos, obtendo-se uma remoção de mais de 90%; e compostos sem anel aromático e com grupos carboxílicos foram menos reativos, obtendo-se uma remoção de menos de 20%.

O poder de oxidação do cloro frente aos perturbadores endócrinos (bisfenol A, 17β-estradiol e 17α-etinilestradiol) foi avaliada por Alum *et al*. (2004). A cloração resultou em um aumento da atividade estrogênica do 17α-etinilestradiol em até 4 horas de tratamento. No caso do 17β-estradiol, baixos níveis de atividade estrogênica foram encontrados já durante a primeira hora de tratamento, restando, contudo, um residual de atividade estrogência. Schilirò *et al*. (2009) verificaram remoção de apenas 60% da atividade estrogênica após cloração com 3 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio de efluentes de ETEs da Itália (Tabela 12). Portanto, o conhecimento dos subprodutos formados na oxidação dos estrógenos e fármacos, bem como a avaliação dos seus efeitos são extremamente importantes.

Tabela 11 – Remoção de estrógenos e fármacos por cloração

Substância	Descrição do tratamento	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	Referência bibliográfica
17α-etinilestradiol	Hipoclorito de sódio (1 mg L^{-1}) e TDH=10 min	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	76,3 ng L^{-1}	23,70%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,55 ng L^{-1}	1,83 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	Hipoclorito de sódio (0,8 mg L^{-1}) e TDH=30 min	Água ETA	7380 ng L^{-1}	154 ng L^{-1}	97,90%	SPE e HPLC/MS/MS	-	-	GERVAIS *et al.*, 2011
	Hipoclorito de sódio (1,0 mg L^{-1}) e TDH=1h	Água destilada	100 nM	< LQ	>99%	HPLC/Flu	-	1 nM	ALUM *et al.*, 2004
17β-estradiol	Hipoclorito de sódio (1 mg L^{-1}) e TDH=10 min	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	80,9 ng L^{-1}	19,10%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,80 ng L^{-1}	2,67 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	Hipoclorito de sódio (1,0 mg L^{-1}) e TDH=1h	Água destilada	100 nM	< LQ	>99%	HPLC/Flu	-	1 nM	ALUM *et al.*, 2004
	5 mg L^{-1} de cloro e TDH=30 min	Água poço USP	115 µg L^{-1}	2,5 µg L^{-1}	98%	SPE HPLC/Flu	40 ng L^{-1}	50 ng L^{-1}	PEREIRA, 2011
Cafeína	Tratamento convencional, cloração (cloro livre) e carvão ativado	Água Rio Mississipi	15,6 - 47,2 ng L^{-1}	2,8 - 13,0 ng L^{-1}	>79,0%	SPE e HPLC/MS/MS	1,1 ng L^{-1}	-	WANG *et al.*, 2011
	Tratamento convencional, cloração (cloroaminas) e carvão ativado	Água Rio Missouri	17,6 - 49,6 ng L^{-1}	4,6 - 36,0 ng L^{-1}	41,25%	SPE e HPLC/MS/MS	1,1 ng L^{-1}	-	WANG *et al.*, 2011
Estriol	Hipoclorito de sódio (1 mg L^{-1}) e TDH=10 min	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	72 ng L^{-1}	28%	SPE e HPLC-ESI/MS	1,29 ng L^{-1}	4,30 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
Estrona	Hipoclorito de sódio (1 mg L^{-1}) e TDH=10 min	Água ETA Chang-Hsing	100 ng L^{-1}	66,6 ng L^{-1}	33,40%	SPE e HPLC-ESI/MS	0,47 ng L^{-1}	1,57 ng L^{-1}	CHEN *et al.*, 2007
	6,4 mg L^{-1} de cloro e TDH=30 min	Água poço USP	100 µg L^{-1}	2,8 µg L^{-1}	97%	SPE HPLC/Flu	1 µg L^{-1}	1,5 µg L^{-1}	PEREIRA, 2011
Ibuprofeno	Tratamento convencional, cloração (cloro livre) e carvão ativado	Água Rio Mississipi	ND - 16,6 ng L^{-1}	ND - 8,8 ng L^{-1}	47%	SPE e HPLC/MS/MS	1,6 ng L^{-1}	-	WANG *et al.*, 2011
	Tratamento convencional, cloração (cloroaminas) e carvão ativado	Água Rio Missouri	ND - 27,6 ng L^{-1}	ND - 23,4 ng L^{-1}	15%	SPE e HPLC/MS/MS	1,6 ng L^{-1}	-	WANG *et al.*, 2011

TDH: tempo de detenção hidráulica
SPE: extração em fase sólida
MS: espectrometria de massas
ESI: ionização por spray de elétrons
LD: limite de detecção do método
ND: não detectado
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
Flu: detector de fluorescência
- não analisado ou não informado
LQ: limite de quantificação do método

Tabela 12 – Remoção de atividade estrogênica por cloração

Descrição do tratamento	Matriz	Atividade estrogênica residual	Remoção atividade estrogênica	Ensaio atividade estrogênica	Referência bibliográfica
Cloração 3 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio	Efluentes ETEs nordeste da Itália	0,2 - 33,6 ng EEQ L^{-1}	60%	E-screen	SCHILIRÒ *et al.*, 2009

EEQ: *estradiol equivalent*

7.4 Ozonização

A ozonização se mostrou eficiente na remoção do diclofenaco e estrógenos (Tabela 13). A ozonização é uma tecnologia bastante promissora para a oxidação de fármacos e estrogênios no tratamento de água e esgoto sanitário. No entanto, na ozonização, doses de ozônio economicamente viáveis nem sempre alcançam a mineralização completa dos micropoluentes, portanto o conhecimento dos subprodutos formados na oxidação desses compostos, bem como a avaliação dos seus efeitos são extremamente importantes. O foco principal da eliminação dos perturbadores endócrinos do meio ambiente deve levar em conta a remoção de sua atividade biológica (BILA, 2005). Na Tabela 14, é apresentada a remoção da atividade estrogênica quando da oxidação do estradiol. Na Europa, a ozonização é largamente usada em ETAs para a oxidação de micropoluentes orgânicos, para a desinfecção, no controle da flora, odor e cor, uma vez que apenas os radicais hidroxila (HO^{-}) e o flúor apresentam poder de oxidação maior que o ozônio.

Para avaliar a eficiência de remoção de fármacos e perturbadores endócrinos em águas naturais e efluentes de ETEs, pode-se determinar as constantes das taxas de reação para a oxidação desses compostos com o ozônio e radicais HO^{-}. A cinética de oxidação de fármacos mostra que compostos com grupamento amino e fenólico e duplas ligações são altamente reativos com o ozônio, como é o caso do diclofenaco e o 17α-etinilestradiol. Dosagens de 0,2 a 0,5 mg O_3 L^{-1} foram suficientes para remover mais de 97% de quase todos os fármacos estudados (HUBER *et al.*, 2003).

A ozonização do paracetamol em solução aquosa foi estudada por Andreozzi *et al*. (2003). Os resultados mostraram que o ozônio foi capaz de remover totalmente o paracetamol (concentração inicial de 5,0 x 10^{-3} mol dm^{-3}), alcançando um grau de mineralização de 30% com altos tempos de reação. Em pH 2,0 e 7,0, cerca de 70% dos subprodutos foram identificados como sendo, ácidos oxálico, glioxálico e fórmico, após 105 minutos de ozonização.

No estudo de Alum *et al*. (2004), o ozônio (aplicado na dosagem de 1,5 mg L^{-1}) oxidou rapidamente o bisfenol A, 17β-estradiol e 17α-etinilestradiol, todos com concentração inicial de 100 nM, em condições usadas no tratamento de água potável, sendo que o 17β-estradiol e o 17α-etinilestradiol foram mais rapidamente oxidados do que o bisfenol A. Segundo os autores, a atividade estrogênica dos três perturbadores endócrinos diminuiu, porém uma estrogenicidade residual permaneceu devido aos subprodutos de oxidação.

Os resultados do estudo de Kim *et al*. (2004) mostraram que a ozonização removeu 99% do 17β-estradiol (concentração inicial de 5,2 μM), com dosagem de ozônio de 5 mg L^{-1} e 15 minutos de tempo de contato. A mesma remoção de 17β-estradiol foi alcançada com dosagem de ozônio de 15,0 mg L^{-1} e 4 minutos de tempo de contato.

A partir da coleta de amostras de um mesmo ensaio, em diferentes intervalos de tempo, os autores ainda observaram que a concentração de ozônio dissolvido aumentou quando muito do 17β-estradiol já havia sido degradado, concluindo que o composto é altamente reativo com o ozônio.

De acordo com Bila (2005), a ozonização para remoção de 17β-estradiol mostrou-se eficiente. Em concentrações de 17β-estradiol menores que 0,1 μg L^{-1}, a oxidação tornou-se mais lenta. As remoções na faixa de ng L^{-1} só ocorreram com dosagens maiores de ozônio. Como o 17β-estradiol está presente em amostras ambientais nessa faixa, conclui-se que as dosagens de ozônio aplicadas atualmente nas ETAs não são suficientes para remover 17β-estradiol em sua totalidade. Em diferentes valores de pH de reação, diferentes subprodutos com diferentes potenciais de atividade estrogênica são formados, o que se deve provavelmente ao fato de que diferentes caminhos de reação ocorrem em função do pH de ozonização. A eficiência de remoção não está relacionada com a atividade estrogênica; esta depende dos subprodutos formados. Os experimentos realizados no efluente de ETE indicaram que o 17β-estradiol é mais lentamente oxidado em uma matriz complexa, onde estão presentes outras substâncias orgânicas oxidáveis pelo ozônio.

Tabela 13 – Remoção de estrógenos e fármacos por ozonização

Substância	Dosagem de ozônio	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	TDH	Referência bibliográfica
17α-etinilestradiol	1,5 mg L^{-1}	Água destilada	100 nM	< LQ	>99%	HPLC/Flu	-	1 nM	1 min	ALUM *et al*., 2004
17β-estradiol	1,5 mg L^{-1}	Água destilada	100 nM	< LQ	>99%	HPLC/Flu	-	1 nM	1 min	ALUM *et al*., 2004
	2 mg L^{-1}	Água ETAs Quebec	5 ng L^{-1}	ND	>40%	SPE e HPLC/MS/MS	3 ng L^{-1}	-	10 min	BROSÉUS *et al*., 2009
	0,95 mg L^{-1}	Água poço USP	0,1 μg L^{-1}	0,007 μg L^{-1}	93%	SPE HPLC/Flu	40 ng L^{-1}	50 ng L^{-1}	1 min	PEREIRA, 2011
	1,0 mg L^{-1}	Esgotos ETE Ilha do Governador	50 μg L^{-1}	≈ 10 μg L^{-1}	80%	SPE e CG/MS	5,0 ± 0,1 ng L^{-1}	-	-	BILA, 2005
	1,0 mg L^{-1}	Água destilada	10 e 50 μ L^{-1}	30 - 90 ng L^{-1}	> 90%	SPE e CG/MS	5,0 ± 0,1 ng L^{-1}	-	-	BILA, 2005
Cafeína	5 mg L^{-1}	Efluente ETE Alemanha	0,22±0,03 μg L^{-1}	0,11 μg L^{-1}	50%	SPE e GC/MS/MS	-	-	18 min	TERNES *et al*., 2003
	2 mg L^{-1}	Água ETAs Quebec	267 ng L^{-1}	54 ng L^{-1}	80%	SPE e HPLC/MS/MS	-	-	10 min	BROSÉUS *et al*., 2009
Diclofenaco	0,5 mg L^{-1}	Água destilada e águas naturais	1 μg L^{-1}	0,03 μg L^{-1}	97%	SPE e GC/MS	-	2 ng L^{-1}	20 min	TERNES *et al*., 2002
	5 mg L^{-1}	Efluente ETE Alemanha	1,3±0,1 μg L^{-1}	<LQ	>96%	SPE e GC/MS/MS	-	0,05 μg L^{-1}	18 min	TERNES *et al*., 2003
	1 mg L^{-1}	Água destilada	2 μg L^{-1}	0,064 μg L^{-1}	97%	SPE e GC/MS	-	-	10 min	ZWIENER e FRIMMEL, 2000
Estrona	5 mg L^{-1}	Efluente ETE Alemanha	0,015±0,002 μg L^{-1}	<LQ	>80%	SPE e GC/MS/MS	-	0,003 μg L^{-1}	18 min	TERNES *et al*., 2003
	0,812 mg L^{-1}	Água poço USP	0,1 μg L^{-1}	0,0029 μg L^{-1}	97,10%	SPE HPLC/Flu	1 μg L^{-1}	1,5 μg L^{-1}	1 min	PEREIRA, 2011
Ibuprofeno	2 mg L^{-1}	Água rio Sena (Paris)	0,5 μM	0,2 μM	40%	HPLC/Flu	-	-	10 min	HUBER *et al*., 2003
	5 mg L^{-1}	Efluente ETE Alemanha	0,13±0,03 μg L^{-1}	0,067 μg L^{-1}	48%	SPE e GC/MS/MS	-	-	18 min	TERNES *et al*., 2003
	1 mg L^{-1}	Água destilada	2 μg L^{-1}	1,76 μg L^{-1}	12%	SPE e GC/MS	-	-	10 min	ZWIENER e FRIMMEL, 2000
Paracetamol	2%	Água destilada	0,005 mol dm^{-3}	0	100%	GC/MS	-	-	20 min	ANDREOZZI *et al*., 2003

TDH: tempo de detenção hidráulica
SPE: extração em fase sólida
MS: espectrometria de massas
- não analisado ou não informado
LQ: limite de quantificação do método
ND: não detectado
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
Flu: detector de fluorescência
LD: limite de detecção do método

Tabela 14 – Remoção de atividade estrogênica por ozonização e possível substância responsável pela atividade estrogênica

Substância	Descrição do tratamento	Matriz	Concentração residual	Eficiência de remoção	Atividade estrogênica residual	Remoção atividade estrogênica	Ensaio atividade estrogênica	Referência bibliográfica
17β-estradiol	Ozonização 1,0 mg L^{-1}	Água destilada	30 - 90 ng L^{-1}	> 90%	0 - 9,70 EEQ	> 99%	Teste YES	BILA, 2005

EEQ: *estradiol equivalent*

7.5 Radiação ultravioleta (UV)

Segundo Coleman *et al*. (2004), a fotocatálise e a fotólise são eficientes na degradação de estrogênios (17β-estradiol, estrona e 17α-etinilestradiol) em água. Porém, a degradação fotocatalítica dos estrogênios em meio aquoso é muito mais eficiente do que somente pela luz UV. A taxa de degradação do 17β-estradiol pela fotocatálise foi cerca de duas vezes a taxa de degradação com somente fotólise.

Em estudos de remoção de fármacos e produtos de uso pessoal em ETA piloto, Westerhoff *et al*.(2005) concluíram que a radiação UV é capaz de oxidar os compostos aromáticos, mas requer, aproximadamente, 100 vezes dosagens mais altas de UV do que aquelas requeridas para fazer a desinfecção (5 a 50 mJ cm^{-2}). Por isso, o uso de radiação UV é inviável na remoção de perturbadores endócrinos em água de superfície e em ETA.

7.6 Processos Oxidativos Avançados (POA)

Como demonstrado na Tabela 15, os processos oxidativos avançados (POA) são tecnologias bastante promissoras para a oxidação de fármacos e estrogênios no tratamento de água e esgoto sanitário (HUBER *et al*., 2003). Assim como a ozonização, os POA também podem oxidar efetivamente os grupamentos fenólicos, responsáveis pela atividade estrogênica do 17β-estradiol (BILA, 2005). A ozonização pode ser combinada com outros processos, tais como, radiação UV e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Com isso, o ozônio pode se decompor por mecanismos que envolvem a geração de radicais HO^-, os quais são espécies mais reativas.

Diversos estudos sobre o emprego dos POA na remoção de fármacos e perturbadores endócrinos foram feitos. Com a fotocatálise com TiO_2 imobilizado, Coleman *et al*. (2000) alcançaram uma degradação de 50% do 17β-estradiol em 40 minutos. A remoção de 98% só foi alcançada em 3,5 horas de tratamento. Ohko *et al*. (2002) alcançaram mais de 99% de degradação do 17β-estradiol com a fotocatálise com o TiO_2 em suspensão em 30 minutos de tratamento e concluiu-se que os intermediários produzidos durante a oxidação fotocatalítica do 17β-estradiol não exibem atividade estrogênica (Tabela 16).

Andreozzi *et al*. (2003) estudaram a oxidação do paracetamol com H_2O_2/UV. Observaram que em uma concentração de 5,0 x10^{-3} mol dm^{-3} de H_2O_2 em reator equipado com lâmpada de baixa pressão monocromática (254 nm), 21% do paracetamol foi mineralizado em 4 minutos de tratamento. Com uma concentração maior de H_2O_2 (2,0 x 10^{-2}

mol dm^{-3}) há um incremento na mineralização de 40%. O processo de H_2O_2/UV foi capaz de remover completamente o paracetamol. Entre os intermediários identificados têm-se a hidroquinona, o 2 hidroxi-4-(N-acetil)-aminofenol e ácidos dicarboxílicos.

Nakashima *et* al. (2002) desenvolveram um processo de fotocatálise, no qual o catalisador TiO_2 é imobilizado em 16 malhas de lâminas de politetrafluoroetileno (PTFE) (58 x 150 mm²) ligadas a uma haste central de um motor que rotaciona a uma velocidade de 60 rpm. A razão entre a área da superfície aparente das malhas de lâminas de PTFE e o volume de água é de 0,35 cm² mL^{-1} e a intensidade da iluminação das duas lâmpadas fluorescentes de luz negra é de 0,24 mW cm^{-2}. Para aumentar a eficiência de degradação dos estrogênios pela fotocatálise, Nakashima *et al*. (2003) desenvolveram uma modificação no processo usado por Nakashima *et al.* (2002), que melhorou a transferência de massa no sistema, pois 25 malhas de lâminas de PTFE foram ordenados horizontalmente em intervalos de 10 mm (0,5 cm² mL^{-1}) e a solução foi iluminada com oito lâmpadas fluorescentes de luz negra de 15 W cada (1,2 mW cm^{-2}). Segundo os autores, 17β-estradiol e estrona em solução aquosa foram rapidamente degradados. Em efluentes de ETE, o estrona foi aproximadamente 90% degradado. Com esta modificação no processo fotocatalítico, os autores esperam tratar efluentes de ETE eficientemente com um relativo baixo custo de energia e curto espaço de tempo.

Com a fotocatálise, diferentes taxas de reações e remoções de estrogênios foram obtidas em vários estudos, isso é devido ao uso de diferentes lâmpadas, tipo de reatores e formas de uso dos catalisadores TiO_2 (suspensão e imobilizados). A presença dos íons amônio (NH_4^+) e hidrogenofosfato (HPO_4^{2-}) inibem a remoção dos perturbadores endócrinos e da atividade estrogênica dos efluentes secundários por fotocatálise com TiO_2, pois competem pelos sítos de adsorção na superfície do TiO_2. Os ácidos húmicos e fúlvicos não só inibem a remoção da atividade estrogênica por fotocatálise como também aumentam temporariamente a atividade estrogênica durante o processo (ZHANG et al., 2012).

Com base em todos os estudos da literatura com a fotocatálise de estrogênios resta ainda determinar se esse processo pode ser eficiente na degradação de estrogênio em concentrações ambientais relevantes e em amostras ambientais reais (águas naturais e efluentes de ETE) (BILA, 2005).

Tabela 15 – Remoção de estrógenos e fármacos por processos oxidativos avançados (POA)

Substância	Descrição do tratamento	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LQ	TDH	Referência bibliográfica
17β-estradiol	Fotocatálise/TiO_2 (150W e 1,5 mg cm^{-3})	Água destilada	3 μM dm^{-3}	0,05 μM dm^{-3}	98%	HPLC/Flu	-	3,5 h	COLEMAN *et al., 2000*
	Fotocatálise/TiO_2 (15W e 0,5 cm^2 mL^{-1})	Água	250 μg L^{-1}	15 μg L^{-1}	94%	HPLC/Flu	1 μg L^{-1}	16 min	NAKASHIMA et al., 2003
	Fotocatálise/TiO_2 (15W e 0,35 cm^3 mL^{-1})	Água destilada	90 μg L^{-1}	1,8 μg L^{-1}	98%	HPLC/UV	-	1 h	NAKASHIMA *et al.*, 2002
	Fotocatálise/TiO_2 (200 W e 1 g L^{-1})	Água destilada	1 μM	0	100%	SPE e HPLC/Flu	-	3 h	OHKO *et al.*, 2002
	Fotocatálise/TiO_2 (253 nm e 1g L^{-1})	Efluente ETE Horsham	50 ng L^{-1}	0,34 ng L^{-1}	99%	SPE e GS/MS	-	2 h	ZHANG e ZHOU *et al.*, 2008
Estrona	Fotocatálise/TiO_2 (15W e 0,5 cm^2 mL^{-1})	Água	250 μg L^{-1}	3 μg L^{-1}	99%	HPLC/Flu	1 μg L^{-1}	8 min	NAKASHIMA et al., 2003
	Fotocatálise/TiO_2 (253 nm e 1g L^{-1})	Efluente ETE Horsham	50 ng L^{-1}	0,28 ng L^{-1}	99%	SPE e GS/MS	-	2 h	ZHANG e ZHOU *et al.*, 2008
17β-estradiol	Fotocatálise/H_2O_2 (15W, 0,3 mW cm^{-2} e 9,7 mM)	Água destilada	272 μg L^{-1}	3,7 μg L^{-1}	98,70%	SPE e HPLC/MS/MS	-	22 h	ZHAO *et al.*, 2008
Paracetamol	Fotocatálise/H_2O_2 (254 nm e 0,02 mol dm^{-3})	Água destilada	0,00001 mol dm^{-3}	0	100%	GC/MS	-	1,2 min	ANDREOZZI *et al.*, 2003
Diclofenaco	O_3/H_2O_2 (1 mg L^{-1} e 0,4 mg L^{-1})	Água destilada	2 μg L^{-1}	0,02 μg L^{-1}	99%	SPE e GC/MS	-	10 min	ZWIENER e FRIMMEL, 2000
	O_3/H_2O_2 (1 mg L^{-1} e 0,4 mg L^{-1})	Água Rio Ruhr (Alemanha)	2 μg L^{-1}	0,04 μg L^{-1}	98%	SPE e GC/MS	-	10 min	ZWIENER e FRIMMEL, 2000
Ibuprofeno	O_3/H_2O_2 (1 mg L^{-1} e 0,4 mg L^{-1})	Água destilada	2 μg L^{-1}	1 μg L^{-1}	50%	SPE e GC/MS	-	10 min	ZWIENER e FRIMMEL, 2000
	O_3/H_2O_2 (1 mg L^{-1} e 0,4 mg L^{-1})	Água Rio Ruhr (Alemanha)	2 μg L^{-1}	1,4 μg L^{-1}	30%	SPE e GC/MS	-	10 min	ZWIENER e FRIMMEL, 2000
	O_3/H_2O_2 (2 mg L^{-1} e 0,7 mg L^{-1})	Água rio Sena (Paris)	0,5 μM	0,39 μM	78%	HPLC/Flu	-	-	HUBER *et al.*, 2003

TDH: tempo de detenção hidráulica
GC: cromatografia gasosa
MS: espectrometria de massas
UV: detector de UV
LQ: limite de quantificação do método
SPE: extração em fase sólida
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
Flu: detector de fluorescência
- não analisado ou não informado

Tabela 16 – Remoção de atividade estrogênica por processos oxidativos avançados (POA)

Substância	Descrição do tratamento	Matriz	Concentração residual	Eficiência de remoção	Atividade estrogênica residual	Remoção atividade estrogênica	Ensaio atividade estrogênica	TDH	Referência bibliográfica
17β-estradiol	fotocatálise/H_2O_2 (15W e 0,3 mW.cm^{-2} e 9,7 mM)	Água destilada	3,7 µg L^{-1}	98,70%	260 unidades	86,70%	Ensaio com levedura	22 h	ZHAO *et al.*, 2008
17β-estradiol	fotocatálise/TiO_2 (200 W e 1 g L^{-1})	Água destilada	0	100%	nenhuma	100%	Ensaio com levedura	3 h	OHKO *et al.*, 2002

TDH: tempo de detenção hidráulica

7.7 Adsorção em carvão ativado

O carvão ativado é comumente usado no tratamento de água potável para a remoção de micropoluentes. Como abordado anteriormente, estrógenos e fármacos são eficientemente removidos sob condições reais pela filtração em carvão ativado. Estudos sobre adsorção em CAG e CAP apresentaram resultados diversos (Tabela 17).

Segundo Yoon *et al*. (2003), o processo de adsorção com CAP pode ser uma tecnologia útil para a remoção de três perturbadores endócrinos (bisfenol A, 17β-estradiol e 17α-etinilestradiol) de águas naturais com remoções maiores que 99% em baixíssimas concentrações iniciais (500 ng L^{-1}). Em estudos de remoção de fármacos e produtos de uso pessoal em ETA piloto, Westerhoff *et al*.(2005) concluíram que a adição de 5 mg L^{-1} de carvão ativado em pó com 4 horas de tempo de contato removeu 16% de ibuprofeno, 39% de diclofenaco, 60% de estriol, 70% de cafeína, 76% de estrona, 77% de etinilestradiol, 86% de progesterona e 84% de estradiol.

Novas tecnologias para adsorção de perturbadores endócrinos em baixas concentrações na fase aquosa são apresentadas. Kumar e Mohan (2012) verificaram que estriol e etinilestradiol em baixas concentrações apresentaram alta eficiência de remoção ao utilizar *multi-walled carbon nanotubes* como adsorvente. *Single-walled carbon nanotubes* apresentaram alta capacidade de adsorção de estradiol, entretanto, apresentam alto custo (HEO *et al*., 2012)

Foi observado por Ternes *et al*. (2002) que a capacidade de adsorção para os fármacos diminui no processo de adsorção em CAG se outros compostos, tais como, material orgânico natural (MON) competem pelos sítios de adsorção. Além disso, outra desvantagem deste tratamento é a geração de resíduos, sendo necessário, assim, o pós-tratamento do material absorvente.

Tabela 17 - Remoção de estrógenos por adsorção em carvão ativado

Substância	Descrição do tratamento	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	Referência bibliográfica
Estrona	Adsorção CAG (TDH=24h)	Água	1130 μg L^{-1}	350,30 μg L^{-1}	69%	SPE e GC/FID	WEN *et al.*, 2009
17β-estradiol	Adsorção em CAG (2g L^{-1} e TDH=10min)	Efluente ETE Horsham	1,35 μg L^{-1}	0,1 μg L^{-1}	93%	LSC	ZHANG e ZHOU et al., 2005
Estrona			1,65 μg L^{-1}	0,1 μg L^{-1}	94%		
17α-etinilestradiol	Adsorção em CAP (5 mg L^{-1})	Águas naturais	100 ng L^{-1}	25 ng L^{-1}	75%	SPE e HPLC/MS/MS	SNYDER *et al.*, 2007
17β-estradiol			100 ng L^{-1}	19 ng L^{-1}	81%		
Cafeína			100 ng L^{-1}	35 ng L^{-1}	65%		
Diclofenaco			100 ng L^{-1}	62 ng L^{-1}	38%		
Estriol			100 ng L^{-1}	42 ng L^{-1}	58%		
Estrona			100 ng L^{-1}	28 ng L^{-1}	72%		
Ibuprofeno			100 ng L^{-1}	85 ng L^{-1}	15%		
Progesterona			100 ng L^{-1}	20 ng L^{-1}	80%		

CAG: carvão ativado granular
CAP: carvão ativado em pó
TDH: tempo de detenção hidráulica
SPE: extração em fase sólida
GC: cromatografia gasosa
FID: *flame ionization detector*
LSC: *liquid scintillation conter*
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
MS: espectrometria de massas

7.8 Ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa e biorreator com membrana

Tradicionalmente, métodos físicos como adsorção em carvão ativado, osmose reversa, nanofiltração e ultrafiltração podem ser usados para a remoção de micropoluentes (KIM *et al.*, 2007; WESTERHOFF *et al.*, 2005). Entretanto, a ultrafiltração e a nanofiltração não se apresentaram tão eficientes na remoção de estrógenos e fármacos (Tabela 18). Nanofiltração removeu de 60 a 85% e mostrou-se mais eficiente do que a ultrafiltração para a remoção de compostos estrogênicos (<40%) (MCCALLUM *et al.*, 2008; YOON *et al.*, 2007). A osmose reversa, tecnologia utilizada para reúso e dessanilização de água onde a escassez de água é característica, portanto uma tecnologia de alto custo e que requer alto consumo de energia, apresentou altas eficiências de remoção desses compostos.

HEO *et al.* (2012) demonstraram que membranas de ultrafiltração apresentaram retenção similar de estradiol mesmo com diferentes tamanhos de poros, portanto, a remoção de estrógenos por ultrafiltração tem relação com a hidrofobicidade. Além disso, os pesos moleculares do 17β-estradiol e do etinilestradiol são muito inferiores ao peso molecular de corte de membranas de ultrafiltração, indicando que um processo indireto de remoção pode ocorrer, por exemplo, a adsorção no material em suspensão e na matéria orgânica natural presentes na água. (MIERZWA *et al*, 2009).

Como alternativa, os biorreatores com membranas são utilizadas para remoção de fármacos e estrógenos, apresentando altas eficiências de remoção desses compostos e da atividade estrogênica, através da combinação de tratamento físico e biológico (Tabela 19). Miège *et* al. (2008) observaram que os biorreatores com membranas promoveram remoção 15% maior que o sistema de lodos ativados com remoção de nitrogênio. Dessa forma, pode-se concluir que os principais mecanismos envolvidos na remoção de fármacos e estrógenos em ETEs são: biodegradação, sorção no lodo ou na fase particulada e filtração. O material coloidal pode ser removido em bioreatores com membrana. A captura de material coloidal é um passo necessário para reduzir o nível de atividade estrogênica do efluente. A magnitude do estradiol e do etinilestradiol não tem relação com a hidrofobicidade, e sim, com as interações π-electron entre as moléculas de estradiol e etinilestradiol com o carbono orgânico coloidal (HOLBROOK *et al.*, 2003).

Além disso, assim como a adsorção em carvão ativado, a osmose reversa, a nanofiltração e a ultrafiltração são métodos que geram resíduos e o pós-tratamento do resíduo com o micropoluente concentrado é necessário, sendo uma desvantagem no uso destes tratamentos.

Tabela 18 – Remoção de estrógenos e fármacos em biorreatores com membrana, por ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa

Descrição do tratamento	Substância	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	TDH	Referência bibliográfica
Bioreator com membrana	17α-etinilestradiol	Esgotos sanitários	ND - 38,60 ng L^{-1}	ND	>71%	SPE e GS/MS	2,5 ng L^{-1}	5,0 ng L^{-1}	7,8 h	LEE *et al.*, 2008
	Cafeína	Esgotos sanitários	9680 ng L^{-1}	104 ng L^{-1}	99%	SPE e HPLC/MS/MS	10 ng L^{-1}	-	-	KIM *et al.*, 2007
	Cafeína	Efluente primário ETE	68 ng L^{-1}	ND	>85%	SPE e HPLC/MS/MS	10 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Diclofenaco	Efluente primário ETE	16 ng L^{-1}	ND	>38%	SPE e HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Estrona	Esgotos sanitários	ND - 55,57 ng L^{-1}	ND - 27,12 ng L^{-1}	64%	SPE e GS/MS	2,5 ng L^{-1}	5,0 ng L^{-1}	7,8 h	LEE *et al.*, 2008
	Ibuprofeno	Esgotos sanitários	5320 ng L^{-1}	90 ng L^{-1}	98%	SPE e HPLC/MS/MS	1,0 ng L^{-1}	-	-	KIM *et al.*, 2007
Ultrafiltração	17α-etinilestradiol	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	35%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	17α-etinilestradiol	Efluente secundário ETE	78 ng L^{-1}	ND	>99%	SPE e HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	17β-estradiol	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	2%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	17β-estradiol	Efluente secundário ETE	87 ng L^{-1}	ND	>99%	SPE e HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Cafeína	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	1%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Cafeína	Efluente secundário ETE	85 ng L^{-1}	79 ng L^{-1}	7%	SPE e HPLC/MS/MS	10 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Diclofenaco	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	10%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Diclofenaco	Efluente secundário ETE	38 ng L^{-1}	37 ng L^{-1}	3%	SPE e HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Estriol	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	0%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Estriol	Efluente secundário ETE	108 ng L^{-1}	64 ng L^{-1}	41%	SPE e HPLC/MS/MS	10 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Estrona	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	42%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007

Descrição do tratamento	Substância	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	TDH	Referência bibliográfica
	Estrona	Efluente secundário ETE	98 ng L^{-1}	9 ng L^{-1}	91%	SPE e HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Ibuprofeno	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	0%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Ibuprofeno	Efluente secundário ETE	39 ng L^{-1}	36 ng L^{-1}	8%	SPE e HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	Progesterona	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	55%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Progesterona	Efluente secundário ETE	64 ng L^{-1}	ND	>98%	SPE e HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007
	17α-etinilestradiol	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	60%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	17β-estradiol	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	40%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Cafeína	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	35%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Cafeína	Esgotos sanitários	104 ng L^{-1}	ND	>90%	SPE e HPLC/MS/MS	10 ng L^{-1}	-	-	KIM *et al.*, 2007
	Diclofenaco	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	40%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
Nanofiltração	Estriol	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	35%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Estrona	Esgotos sanitários	ND - 27,12 ng L^{-1}	ND	>66%	SPE e GS/MS	2,5 ng L^{-1}	5,0 ng L^{-1}	-	LEE *et al.*, 2008
	Estrona	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	40%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
	Ibuprofeno	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	50%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, -2007
	Ibuprofeno	Esgotos sanitários	90 ng L^{-1}	ND	>99%	SPE e HPLC/MS/MS	1,0 ng L^{-1}	-	-	KIM *et al.*, 2007
	Progesterona	Águas naturais	2 - 150 ng L^{-1}	-	70%	HPLC/MS/MS	1 ng L^{-1}	-	-	YOON *et al.*, 2007
Osmose reversa	17α-etinilestradiol	Água subterrânea salina	125 ng L^{-1}	ND	>80%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al.*, 2007

Descrição do tratamento	Substância	Matriz	Concentração inicial	Concentração residual	Eficiência de remoção	Procedimento analítico	LD	LQ	TDH	Referência bibliográfica
	17β-estradiol	Água subterrânea salina	125 ng L^{-1}	ND	>80%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al*., 2007
	AAS	Esgotos ETE Austrália	200 - 650 ng L^{-1}	16 - 70 ng L^{-1}	92%	SPE e GC/MS	-	1 ng L^{-1}	-	AL-RIFAI *et al*., 2011
	Cafeína	Esgotos sanitários	104 ng L^{-1}	ND	>90%	SPE e HPLC/MS/MS	10 ng L^{-1}	-	-	KIM *et al*., 2007
	Cafeína	Água subterrânea salina	311 ng L^{-1}	52 ng L^{-1}	83%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al*., 2007
	Diclofenaco	Esgotos ETE Austrália	260 ng L^{-1}	<LQ	91%	SPE e GC/MS	-	23 ng L^{-1}	-	AL-RIFAI *et al*., 2011
	Diclofenaco	Água subterrânea salina	26 ng L^{-1}	ND	>4%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al*., 2007
	Estriol	Água subterrânea salina	128 ng L^{-1}	ND	>80%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al*., 2007
	Estrona	Água subterrânea salina	167 ng L^{-1}	ND	>85%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al*., 2007
	Ibuprofeno	Esgotos ETE Austrália	120 - 680 ng L^{-1}	<LQ - 55 ng L^{-1}	91%	SPE e GC/MS	-	6 ng L^{-1}	-	AL-RIFAI *et al*., 2011
	Ibuprofeno	Esgotos sanitários	90 ng L^{-1}	ND	>99%	SPE e HPLC/MS/MS	1,0 ng L^{-1}	-	-	KIM *et al*., 2007
	Ibuprofeno	Água subterrânea salina	259 ng L^{-1}	ND	>90%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al*., 2007
	Progesterona	Água subterrânea salina	285 ng L^{-1}	ND	>91%	SPE e HPLC/MS/MS	25 ng L^{-1}	-	-	SNYDER *et al*., 2007

AAS: ácido acetilsalicílico
GC: cromatografia gasosa
LD: limite de detecção do método
TDH: tempo de detenção hidráulica
ND: não detectado
HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência
LQ: limite de quantificação do método
SPE: extração em fase sólida
MS: espectrometria de massas
- não analisado ou não informado

Tabela 19 – Remoção de atividade estrogênica em biorreatores com membrana e possíveis substâncias responsáveis pela atividade estrogênica

Substância	**Matriz**	**Concentração residual**	**Eficiência de remoção**	**Atividade estrogênica residual**	**Remoção atividade estrogênica**	**Ensaio atividade estrogênica**	**TDH**	**Referência bibliográfica**
estrona 17α-etinilestradiol	Esgotos sanitários	ND - 27,12 ng L^{-1} ND	64% >71%	0,65 ng EEQ L^{-1}	85%	E-screen	7,8 h	LEE *et al.*, 2008

ND: não detectado EEQ: *estradiol equivalent* TDH: tempo de detenção hidráulica

8 CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES

A exposição a concentrações traço de fármacos e perturbadores endócrinos apresenta risco à saúde humana. Muitos interferentes endócrinos e fármacos, como os estrógenos de origem sintética, são persistentes, acumulando-se nos vários compartimentos ambientais, sendo encontrados na biota, nas águas, nos sedimentos e no material particulado.

Quando um perturbador endócrino ou fármaco não é detectado em determinada amostra, não se pode concluir que este composto não está presente, devido aos limites de detecção dos métodos analíticos empregados. A simples constatação da presença de um determinado interferente endócrino no meio ambiente não significa, necessariamente, que existe um risco a ele associado, uma vez que esta informação não tem significado algum sem que antes seja avaliada a sua atividade estrogênica através de ensaios biológicos *in vitro* ou *in vivo*. Mais estudos devem ser feitos para otimizar os métodos de quantificação, diminuindo-se, assim, as concentrações detectadas e quantificadas. Além disso, ensaios rápidos e de baixo custo devem ser propostos para avaliar riscos associados aos fármacos e perturbadores endócrinos em ETAs e ETEs como o ensaio *in vitro* de gene repórter desenvolvido em 2009 por Balsiger *et al*. (2010), de quatro horas que utiliza células de levedura e substrato quimioluminescente para medir diretamente a atividade estrogênica de efluentes sanitários sem a necessidade de etapa de extração, concentração ou esterilização, além de apresentar alta sensibilidade.

Em geral, ensaios *in vitro* são bastante sensíveis e altamente específicos. Entretanto, existe uma limitação quanto a extrapolar o resultado para seres vivos, bem como a possibilidade de "falsos negativos" devido à complexibilidade dos eventos que envolvem o teste. Deste modo, os bioensaios *in vivo* complementam as informações dos bioensaios *in vitro*, por serem mais abrangentes quanto à resposta obtida e mais confiáveis ou precisos que os primeiros. Portanto, as estratégias de monitoramento e avaliação toxicológica dos interferentes endócrinos devem ser baseados na combinação de estudos de curto prazo que incluem a identificação da atividade estrogênica *in vitro*, e estudos de longo prazo que incluem a identificação da atividade estrogênica e dos efeitos da mesma, *in vivo*, além de métodos para quantificação e identificação dos compostos responsáveis pela atividade estrogênica.

Ainda não foi identificada a concentração limiar segura de fármacos e perturbadores endócrinos no meio ambiente. Em muitos casos, a relação entre a exposição ambiental a uma substância específica e os efeitos adversos na saúde humana e de animais ainda não foi bem estabelecida. Sabe-se que os perturbadores endócrinos têm induzido uma resposta estrogênica em peixes, em concentrações na água (0,1 a 1,0 ng L^{-1}) muitas vezes mais baixas do que as comumente detectadas no meio ambiente (DESBROW *et al.*, 1998 e ROUTLEDGE *et al.*, 1998), enquanto em humanos suas consequências ainda estão sendo investigadas. Mais pesquisas são necessárias para a completa caracterização dos efeitos adversos resultante dessa exposição e para o entendimento dos mecanismos básicos de ação desses efeitos, considerando não apenas a toxicidade de apenas um composto e sim da mistura. Efeitos sinergéticos e antagônicos devem ser pesquisados quando se tratam de múltiplos compostos, especialmente em baixas concentrações. Entretanto, como mencionado anteriormente, os fármacos e interferentes endócrinos estão associados a impactos no meio ambiente e a riscos à saúde humana. Assim, ressalta-se a importância de uma legislação que regule a produção e prescrição desses compostos, além da definição de padrões de emissão e de potabilidade.

Processos biológicos de tratamento de esgoto e o tratamento de água de abastecimento por ciclo completo com aplicação de cloro e carvão ativado, processos comumente utilizados em ETEs e ETAs brasileiras, respectivamente, apresentaram alguma eficiência de remoção de perturbadores endócrinos e de fármacos. Entretanto, em seus efluentes ainda estão presentes concentrações detectáveis desses compostos, que podem causar efeitos no meio ambiente e na saúde humana mesmo em concentração traço. Podem-se controlar diversos parâmetros de operação para que a eficiência de remoção desses compostos seja maior. O comportamento e remoção dos fármacos e perturbadores endócrinos nas ETEs e ETAs dependem de suas propriedades físico-químicas, bem como, da configuração e operação nas ETEs e ETAs. Ozonização, POA e osmose reversa apresentaram alta eficiência de remoção de fármacos e perturbadores endócrinos, maior que 80% para a ozonização (com exceção do ibuprofeno que apresentou remoção entre 12 e 48% e da cafeína que apresentou remoção entre 50 e 80%), 94% para os POA (com exceção do ibuprofeno que apresentou remoção entre 30 e 78%) e 80% para a osmose reversa (com exceção do diclofenaco que apresentou remoção entre 4 e 91%).

A osmose reversa é uma tecnologia de alto custo, pela qual há geração de resíduos. Por conseguinte, a oxidação surge como técnica que não gera resíduo e pode ser utilizada para a descontaminação das águas que contenham perturbadores endócrinos e fármacos, contudo

também podem apresentar a desvantagem na geração de subprodutos tóxicos. Por isso é importante otimizar a dosagem de oxidante, o tempo de contato e o pH da água para reduzir os subprodutos, cuja toxicidade deve ser estudada.

A ozonização apresentou também alta eficiência de remoção de atividade estrogênica. Apesar de a cloração ser o método de desinfecção mais aplicado em ETEs e ETAs, a aplicação da ozonização atualmente é apresentada como alternativa viável para desinfecção com a vantagem de não gerar compostos organoclorados na presença de matéria orgânica, potencialmente cancerígenos. Além disso, a cloração foi menos eficiente na remoção de compostos quando em concentração ambiental em relação à ozonização, apresentado eficiência de remoção entre 15 e 79%, enquanto que a ozonização apresentou eficiência de remoção entre 40 e 90%.

Portanto, considerando-se os estudos existentes e o panorama brasileiro de tratamento de água e esgoto, recomenda-se, atualmente, a utilização de ozonização na remoção de fármacos e perturbadores endócrinos, pois é um processo viável técnica e economicamente de ser aplicado em ETEs e ETAs brasileiras. Apesar de se ter identificado a formação de subprodutos, a remoção da atividade estrogênica foi acima de 90% (BILA, 2005). Além disso, ozonização também é um processo de desinfecção. Em água para abastecimento humano deve ser aplicado o cloro posteriormente à desinfecção com ozônio, devido à característica sistema de distribuição de água potável brasileiro de apresentar reservatórios, o que exige um residual de desinfetante. Dentre as vantagens de se aplicar ozonização em contrapartida à cloração no tratamento de esgoto, estão a ausência de residual de produto químico no efluente a ser lançado em águas superficiais e a não formação de organoclorados.

Em relação aos POA, Nakashima *et al*. (2003) desenvolveram uma modificação no processo de fotocatálise (UV/TiO_2) usado por Nakashima *et al.* (2002), que melhorou a transferência de massa no sistema, através da disposição horizontal, anteriormente vertical e rotação das malhas de lâminas de PTFE, aumentando-se, assim, a razão entre a área aparente da superfície das malhas e o volume de solução de 0,35 cm^2 mL^{-1} para 0,5 cm^2 mL^{-1} e do aumento da quantidade de lâmpadas fluorescentes de luz negra empregada, aumentando-se a intensidade de iluminação de 0,24 mW cm^{-2} para 1,2 mW cm^{-2}. Desse modo, o processo fotocatalítico poderá ser aplicado em efluentes de ETEs eficientemente com um relativo baixo custo de energia e curto espaço de tempo.

Com base nos estudos de remoção de fármacos e perturbadores endócrinos, resta ainda determinar se esses processos podem ser eficientes na degradação de fármacos e estrogênio em concentrações ambientais relevantes e em amostras ambientais reais, pois tais estudos

foram, em sua maioria, realizados com o enriquecimento da amostra, em água destilada e através da aplicação de concentração de oxidantes maior do que a aplicada em ETEs e ETAs.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Determination of steroid sex hormones and related synthetic compounds considered as endocrine disrupters in water by fully automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-diode array detection. *Journal of Chromatography A*, v. 911, p. 818-824, 2001.

AL-RIFAI, J. H.; KHABBAZ, H.; SCHÄFER, A. I. Removal of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in a water recycling process using reverse osmosis systems. *Separation and Purification Technology*, 77, p. 60-67, 2011.

ALUM, A.; YOON, Y.; WESTERHOFF, P.; ABBASZADEGAN, M. Oxidation of bisphenol A, 17β-estradiol, and 17α-ethynyl estradiol and byproduct estrogenicity. *Environ Toxicol* 19, p. 257-264, 2004.

ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. ATLAS Brasil – Abastecimento Urbano de Águas. Panorama Nacional – Volume 1. Brasília, 2010.

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; MAROTTA, R.; VOGNA, D. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H_2O_2/UV syxtem. *Water Research*, 37, p. 993-1004, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. Maio, 2003.

BARONTI, C; CURINI, R.; D'ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; GENTILI, A.; SAMPERI, R. Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water. *Environmental Science and Technology*, v.34, n. 24, p. 5059-5066, 2000.

BAKER, V. A. Endocrine disrupters – testing strategies to assess human hazard. *Toxicology in Vitro*, v. 15, p. 413-419, 2001.

BALSIGER, H. A.; TORRE, R.; LEE, W-Y, COX, M. B. A four-hour yeast bioassay for the direct measure of estrogenic activity in wastewater without sample extraction, concentration, or sterilization. *Science of the Total Environment*, v. 408, p. 1422-1429, 2010.

BENFEY, T. J.; DONALDSON, E. M.; OWEN, T. G. An homologous radioimmunoassay for coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) vitellogenin, with general applicability to other Pacific salmonids. *General and comparative Endocrinology*, v. 75, p. 78-82, 1989.

BERESFORD, N.; ROUTLEDGE, E. J.; HARRIS, C. A.; *et al*. Issues Arising when interpreting results from an in vitro assay for estrogenic activity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 162, p. 22-23, 2000.

BERGAMASCO, A. M. D. D.; ELDRIDGE, M.; SANSEVERINO, J.; *et al*. Bioluminescent yeast estrogen assay (BLYES) as a sensitive tool to monitor surface and drinking water for estrogenicity. *Journal of Environmental Monitoring*, v. 13, p. 3288-3293, 2011.

BICCHI, C.; SCHILILIRÒ, T.; PIGNATA, C.; FEA, E.; CORDERO, C.; CANALE, F.; GILLI, G. Analysis of environmental endocrine disrupting chemicals using the E-screen method and stir bar sorptive extraction in wastewater treatment plant effluents. *Science of the Total Envionment*, v. 407, p. 1842-1851, 2009.

BILA, D. M. *Degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino 17β-estradiol pelo processo de ozonização.* Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2005.

BILES, J. E.; MCNEAL, T. P.; BEGLEY, T. H.; *et al*. Determination of bisphenol-A in reusable polycarbonate food-contact plastics and migration to food-simulating liquids. *Journal of Agriculture Food and Chemistry*, v. 45, p. 3541-3544, 1997.

BIRKETT, J. W.; LESTER, J. N. *Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes*, 1ªed., IWA Publishing, Lewis Publishers CRC Press LLC: USA. 2003.

BROSÉUS, R.; VINCENT, S.; ABOULFADL, K.; DANESHVAR, A.; SAUVÉ, S.; BARBEAU, B.; PRÉVOST, M. Ozone oxidation of pharmaceuticals, endocrine disruptors and pesticides during drinking water treatment. *Water Research*, 43, p. 4707-4717, 2009.

BUSER, H. R.; MÜLLER, M. D.; THEOBALD, N. Occurrence of the pharmaceutical drug clofibric acid and the herbicide Mecoprop in various Swiss lakes and in the North Sea. *Environmental Science and Technology*, v. 32(1), p. 188-192, 1998b.

BUSER, H. R.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. *Environmental Science and Technology*, v. 32(22), p. 3449-3456, 1998a.

_____. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental Science and Technology*, v. 33(15), p. 2529-2535, 1999.

CAMPOS, J. R. *Alternativas para tratamento de esgotos – pré-tratamento de águas para abastecimento.* Publicação n. 09, Consórcio Intermunicipal das Bacias dos Rios Piracicaba e Capivari, Americana, SP, 1994.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; *et al*. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, v. 32(1), p. 3208-3222, 2004.

CHEN, C-Y.; WEN, T-Y.; WANG, G-S.; CHENG, H-W.; LIN, Y-H.; LIEN, G-W. Determining estrogenic steroids in Taipei waters and removal in drinking water treatment using high-flow solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Science of the Total Environment*, 378, p. 352-365, 2007.

CHEN, H-C.; KUO, H-W,. DING, W-H. Determination of estrogenic compounds in wastewater using liquid chromatography-tandem mass spectrometry with electrospray and

atmospheric pressure photoionization following desalting extraction. *Chemosphere*, v. 74, p. 508-514, 2009.

CHEN, P.; PAVELIC, P.; DILLON, P.; NAIDU, R. Determination of caffeine as a tracer of sewage effluent in natural waters by SPE-LC-DAD. *Water Research*, v. 36, p. 4830-4838, 2002.

CETESB. *Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2005.* Série Relatórios, São Paulo, 2006.

COLBORN, T.; VOM SAAL, F. S.; SOTO, A. M. Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives*, v. 101, p. 378-383, 1993.

COLEMAN, H. M.; EGGINS, B. R.; BYRNE, J. A.; PALMER, F. L.; KING, E. Photocatalytic degradation of 17-β-oestradiol on immobilized TiO_2. *Applied Catalysis B: Environmental*, 24, L1-L5, 2000.

COLEMAN, H. M.; ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J. P.; *et al.* Rapid loss of estrogenicity of steroid estrogens by UVA photolysis and photocatalysis over an immobilized titanium dioxide catalyst. *Water Research*, v. 38, p. 3233-3240, 2004.

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. Comunicação da Comissão ao Conselho e ao Parlamento Europeu: *Estratégia comunitária em matéria de desreguladores endócrinos*, Relatório Final COM 706. 1999.

CORDEIRO, D. *Uso de bioindicador de efeito endócrino e validação do método para determinação de hormônios na água da Represa Municipal de São José do Rio Preto, SP*. Dissertação de mestrado. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos, 2009.

CHRISTENSEN, F. M. Pharmaceuticals in the environment – a human risk?. *Regulatory. Toxicology and Pharmacology*, v. 28, p. 212-221, 1998.

DASTON, G. P.; GOOCH, J. W.; BRESLIN, W. J.; *et al*. Environmental estrogens and reproductive health: a discussion of the human and environmental data. *Reproductive Toxicology Review*, v. 11 (4), p. 465-481, 1997.

DAUGHTON, C. G. Emerging pollutants, and communicating the science of environmental chemistry and mass spectrometry: pharmaceuticals in the environment. *J. Am. Soc. Mass Spectrometry*, v. 12, p. 1067-1076, 2001.

DESBROW, C.; ROUTLEDGE, E. J., BRICHTY, G. C.; *et al*. Identification od estrogenic chemicals in STW Effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental Science Technology*, v. 32 (11), p. 1549-1558, 1998.

DIAS, L. M.; STIPP, V.; SOUZA, J. B. *Processos empregados na desinfecção de esgotos sanitários.* VI Semana de Estudos de Engenharia Ambiental, Irati, PR, 2008.

DI BERNARDO, L.; SABOGAL PAZ, L. P. *Seleção de tecnologias de tratamento de água*. LDiBe Editora. São Carlos, 2008.

DUONG, C. N.; RA, J. S.; CHO, J.; KIM, S. D.; CHOI, H. K.; PARK, J-H.; KIM, K. W.; INAM, E.; KIM, S. D. Estrogenic chemicals and estrogenicity in river water of South Korea and seven Asian countries. *Chemosphere*, 78, p. 286-293, 2010.

EARLS, A. O.; AXFORD, I. P.; BRAYBROOK, J. H. Gas chromatography-mass spectrometry determination of the migration of phthalate plasticisers from polyvinyl chloride toys and childcare articles. *Journal of Chromatography A*, v. 983, p. 237-246, 2003.

EDSTAC – ENDOCRINE DISRUPTOR SCREENING AND TESTING ADVISORY COMMITTEE. Final report, Washington, D. C., 1998.

EERTMANS, T.; DHOOGE, W.; STUYVAERT, S.; COMHAIRE, F. Endocrine disruptors: effects on male fertility and screening tools for their assessment. *Toxicology in Vitro*, v. 17, p. 515-524, 2003.

ESPERANZA, M.; SUIDAN, M. T.; NISHINURA, F.; WANG, Z.; ORIAL, G. A.; ZAFFIRO, A.; MACCAULEY, P.; SAYLES, G. Determination of sex hormones and nonylphenol ethoxylates in the aqueous matrices of two pilot-scale municipal wastewater treatment plants. *Environmental Science & Technology*, v. 38, p. 3028-3035, 2004.

FALÅS, P.; ANDERSEN, H. R.; LEDIN, A.; la COUR JANSEN, J. Occurrence and reduction of pharmaceuticals in the water phase at Swedish wastewater treatment plants. *Water Science & Technology*, v. 66, n.4, p. 783-791, 2012.

FERNANDEZ, M. A.; LIMAVERDE, A. M.; CASTRO, I. B.; *et al*. Ocorrência de Imposex em *Thais haemastoma*: possíveis evidências e contaminação ambiental por compostos organotínicos no Rio de Janeiro e em Fortaleza, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, v. 18 (2), p. 463-476, 2002.

FÜERHACKER, M.; SCHARF, S.; WEBER, H. Bisphenol A: emissions from point sources. *Chemosphere*, v. 41, p. 751-756, 2000.

GARDINALI, P. R.; ZHAO, X. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (LC-APCI-MS). *Environmental International*, v. 28, p. 521-528, 2002.

GENTILI, A.; PERRET, D, MARCHESE, S.; MASTROPASQUA, R.; CURINI R.; DI CORCIA, A., Analysis of free estrogens and their conjugates in sewage and river waters by solid-phase extraction then liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Chromatographia*, v. 56, p. 25-32, 2002.

GEROLIN, E. R. R. *Ocorrência e remoção de disruptores endócrinos em águas utilizadas para abastecimento público de Campinas e Sumaré – São Paulo.* Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.

GERVAIS, G.; BICHON, E.; ANTIGNAC, J-P.; MONTEAU, F.; LEROY, G.; BARRITAUD, L.; CHACHIGNON, M.; INGRAND, V.; ROCHE, P.; BIZEC, B. L.

Differential global profiling as a new analytical strategy for revealing micropollutant treatment by-products: Application to ethinylestradiol and chlorination water treatment. *Chemosphere*, 83, p. 1553-1559, 2011.

GHISELLI, G. *Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP).* Tese de doutorado – área de Química Analítica. Universidade Estadual de Campinas. 2006.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Quimica Nova, in press*, 2007.

GRAY, L. E. J.; KELCE, W. R.; WIESE, T.; *et al*. Endocrine screening methods workshop report: detection of estrogenic an androgenic hormonal and antihormonal activity for chemicals that act via receptor or steroidogenic enzyme mechanisms. *Reprodutive Toxicology*, v. 11 (5), p. 719-750, 1997.

HARRIS, J. E.; SHEAHAN, D. A.; JOBLING, S.; MATTHIESSEN, P.; NEALL, P.; ROUTLEDGE, E. J.; RYCROFT, R.; SUMPTER, J. P.; TYLOR, T. A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. *Environmental Technology and Chemistry*, v. 15, n. 11, p. 1993-2002, 1996.

HARRIS, J. E.; SHEAHAN, D. A.; JOBLING, S.; MATTHIESSEN, P.; NEALL, P.; SUMPTER, J. P.; TYLOR, T.; ZANAM, N. Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenises in caged male trout. *Environmental Technology and Chemistry*, v. 16, n. 3, p. 534-542, 1997.

HARTMANN, S.; LACORN, M.; STEINHART, H. Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chemistry*, v. 62 (1), p. 7-20, 1998.

HASHIMOTO, T.; MURAKAMI, T. Removal and degradation characteristics of natural and synthetic estrogens by activated sludge in batch experiments. *Water Research*, v. 43, p. 573–582, 2009.

HEBERER, T. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *J. Hydrol.* v. 266, p. 175-189, 2002.

HEO, J.; FLORA, J. R. V.; HER, N.; PARK, Y-G; CHO, J.; SON, A.; YOON, Y. Removal of bisphenol A and 17β-estradiol in single walled carbon nanotubes-ultrafiltration (SWNTs-UF) membrane systems. *Separation and Purification Technology*, 90, p. 39-52, 2012.

HERNANDEZ-RAQUET, G.; SOEF, A.; DELGENES, N.; BALAGUER, P. Removal of the endocrine disrupter nonylphenol and its estrogenic activity in sludge treatment processes. *Water research*, v. 41, p. 2643-2651, 2007.

HOLBROOK, R. D.; LOVE, N. G.; NOVAK, J. T. Biological wastewater treatment and estrogenic endocrine disrupting compounds: importance of colloid organic carbon. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, ASCE, v. 7, n. 4, p. 289-296, 2003.

HOLTHAUS, K. I. E.; JOHNSON, A. C.; JÜRGENS, M. D.; WILLIAMS, R. J.; SMITH, J. J. L.; CARTER, J. E. The potencial for estradiol and ethinylestradiol to sorb to suspended and bed sediments in some English rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 12, p. 2526-2535, 2002.

HUBER, M.; CANONICA, S.; PARK, G-Y.; *et al.* Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environmental Science of Technology*, v. 37(5), p. 1016-1024, 2003.

HUBER, M. M.; KORHONEN, S.; TERNES, T. A.; VON GUNTEN, U. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Research*, 39, p. 3607-3617, 2005.

IBGE. *Pesquisa Nacional de Saneamento Básico.* 2008

JIANG, W.; YAN, Y.; MA, M.; WANG, D.; LUO, Q.; WANG, Z.; SATYANARAYANAN, S. K. Assessment of source water contamination by estrogenic disrupting compounds in China. *Journal of Environmental Sciences*, 24(2), p. 320-328, 2012.

JOBLING, A. C.; NOLAN, M.; TYLER, C. R.; *et al*. Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science Technology*, v. 32, p. 2498-2506, 1998.

JOHNSON, A. C.; BELFROID, A.; DI CORCIA, A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *The Science Total Environment*, v. 256, p. 163-173, 2000.

JOBLING, S.; SUMPTER, J. P. Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenis to fish: an in-vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, v. 27, p. 361-372, 1993.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Human pharmaceuticals in wastewater treatment processes. *Environmental Science and Technology*, 35, p. 401-427, 2005.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. *Tratamento de esgotos domésticos*. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária – ABES, Rio de Janeiro, 681 p, 2005.

JUGAN, M. L.; OZIOL, L.; BIMBOT, M.; HUTEAU, V.; TAMISIER-KAROLAK, S.; BLONDEAU, J. P.; LÉVI, Y. *In vitro* assessment of thyroid and estrogenic endocrine disruptors in wastewater treatment plants, rivers and drinking water supplies in the greater Paris area (France). *Science of the Total Environment*, 407, p. 3579-3587, 2009.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research*, 43, p. 363-380, 2009.

KAWASAKI, S. K.; MONTONE, R. C. An efficient ethanol-based analytical protocol to quantify faecal steroids in marine sediments. *J. Bras. Chem. Soc.*, v. 13(2), p. 223-232, 2002.

KIM, S. D.; CHO, J.; KIM, I. S.; VANDERFORD, B. J.; SNYDER, S. A. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Research*, 41, p. 1013-1021, 2007.

KIM, S-E.; YAMADA, H.; TSUNO, H. Evaluation of estrogenicity for 17β-estradiol decomposition during ozonation. *Ozone: Science and Engineering*, v. 26, p. 563-571, 2004.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U. S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*, v. 36, p. 1202-1211, 2002.

KÖRNER, W.; HANF, V.; SCHULLER, W.; KEMPTER, C.; *et al*. Development os a sensitive E-screen assay for quantitative analysis of estrogenic activity in municipal sewage plant effluents. *Science of the Total Environment*, v. 225, 33-48, 1999.

KÖRNER, W.; BOLZ, U.; SÜBMUTH, W.; HILLER, G.; *et al*. Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany. *Chemosphere*, v. 225, p. 33-48, 2000.

KUCH, H. M.; BALLSCHMITER, K. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the pictogram per liter range. *Environmental Science and Technology*, v. 35, p. 3201-3206, 2001.

KUMAR, A. K.; MOHAN, S. V. Removal of natural and synthetic endocrine disrupting estrogens by multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) as adsorbent: kinetic and mechanistic evaluation. *Separation and Purification Technology*, 87, p. 22-30, 2012.

KUSTER, M.; AZEVEDO, D. A.; LÓPEZ DE ALDA, M. J.; AQUINO NETO, F. R.; BARCELÓ, D. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental water from Rio de Janeiro (Brazil). *Environmental International*, 35, p. 997-1003, 2009.

LANÇAS, F. M.. *Extração em fase sólida*. São Carlos: Rima. 2004, 96 p.

LEE, H. B., PEART, T. E., CHAN, J. AND GRIS, G., Occurrence of endocrine-disrupting chemicals in sewage and sludge samples in Toronto, Canada. *Water Quality Research Journal of Canada*, v. 39, p. 57-63, 2004.

LEE, J.; LEE, B. C.; RA, J. S.; CHO, J.; KIM, I. S.; CHANG, N. I.; KIM, H. K.; KIM, S. D. Comparison of the removal efficiency of endocrine disrupting compounds in pilot scale sewage treatment processes. *Chemosphere*, 71, p. 1582-1592, 2008.

LEE, J. H.; ZHOU, J. L.; KIM, S. D. Effects of biodegradation and sorption by humic acid on the estrogenicity of 17β-estradiol. *Chemosphere*, 85, p. 1383-1389, 2011.

LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L.; WENZEL, A. Endocrine disruptors in the environment – IUPAC Technical Report. *Pure Appl. Chem*, v. 75 (5), p. 631-681, 2003.

MCCALLUM, E. A.; HYUNG, H.; DO, T. A.; HUANG, C. H.; KIM, J. H. Adsorption, desorption, and steady-state removal of 17β-estradiol by nanofiltration membranes. *J. Membrane Sci.*, v. 319, p. 38-43, 2008.

MIÈGE, C.; CHOUBERT, M.; RIBEIRO, L.; EUSÈBE, M.; COQUERY, M. Removal efficiency of pharmaceuticals and personal care products with varying wastewater treatment processes and operating conditions – conception of a database and first results. *Water Science & Technology*, 57.1, p. 49-56, 2008.

MIERZWA, J. C.; AQUINO, S. F.; VERAS, L. R. V. Remoção de desreguladores endócrinos. *In: Remoção de microrganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano.* Coordenador: Válter Lúcio de Pádua (PROSAB). Rio de Janeiro: ABES, 2009.

MINISTÉRIO DAS CIDADES. *SNIS – Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento.* 2010.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução CONAMA nº 357, de 17/03/2005.

_____. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução CONAMA nº 430, de 13/05/2011.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

MULROY, A. When the cure is the problem. *Water Environment Technology*, v. 13, p. 264-268, 2001.

NAKASHIMA, T.; OHKO, Y.; TRYK, D. A.; FUJISHIMA, A. Decomposition of endocrine-disrupting chemicals in water by use of TiO_2 photocatalysts immobilized on polytetrafluoroethylene mesh sheets. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 151, p. 207-212, 2002.

NAKASHIMA, T.; OHKO, Y.; KUBOTA, Y.; FUJISHIMA, A.; Photocatalytuc decomposition of estrogens in aquatic environment by reciprocating immersion of TiO_2-modified polytetrafluoroethylene mesh sheets. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 160, p. 115-120, 2003.

NASSIF, M. C.; CIMAROSTI, H. I.; ZAMIN, L. L.; SALBEGO, C. G. Estrógeno versus isquemia cerebral: hormônio feminino como agente neuroprodutor. *Infarma*, v. 17, p. 57-65, 2005.

NIE, Y.; QIANG, Z.; ZHANG, H.; BEN, W. Fate and seasonal variation of endocrine-disrupting chemicals in a sewage treatment plant with A/A/O process. *Separation and Purification Technology*, 84, p. 9-15, 2012.

NIVEN, S. J.; SNAPE, J.; HETHERIDGE, M.; EVANS, M.; MCEVOY, J.; ROWLAND, S. J. Investigations of cholesterol transformation during sewage treatment: relevance to estrogen formation pathways?. *Science of the Total Environment*, v. 279, p. 75-86, 2001.

OECD – ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Detailed review paper – appraisal of test methods for sex hormone disrupting chemicals. ENV/JM/MONO(2002)8, Paris, 2002.

OHKO, Y.; IUCHI, K-I.; NIWA, C.; TATSUMA, T.; NAKASHIMA, T.; IGUCHI, T.; KUBOTA, Y.; FUJISHIMA, A. 17β-estradiol degradation by TiO2 photocatalysis as a means of reducing estrogenic activity. *Environmental Science & Technology*, 36, p. 4175-4181, 2002.

PEREIRA, R. O. *Formação de subprodutos do estrona e 17β-estradiol na oxidação utilizando cloro e ozônio em água*. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos, 2011.

PEREIRA, R. O.; POSTIGO, C.; ALDA, M. L.; DANIEL, L. A.; BARCELÓ, D. Removal of estrogens through water disinfection processes and formation of by-products. *Chemosphere*, 82, p. 789-799, 2011.

PIOCOS, E. A.; DE LA CRUZ, A. A. SPE-HPLC-DAD of chemical indicators of human fecal contamination in water. *JLC&RTech*, v. 23., p. 1281-1291, 2000.

PURDOM, C.; HARDIMAN, P; BYE, V.; ENO, N.; TYLER, C.; SUMPTER, J.; ROUTLEDGE, E. J. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecology*, v. 8, p. 275-285, 1994.

RAIMUNDO, C. C. M. *Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia.* Dissertação de mestrado. Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas. 2007.

RAVINA M.; CAMPANELLA, L. KIWI, J. Accelerated mineralization of the drug diclofenac via Fenton reactions in a concentric photo-reactor. *Water Research*, v. 36, p. 3553-3560, 2002.

REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C.; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. *Química Nova*. v. 29, n. 4, 2006.

REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R..; VIEIRA, E. M. Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*. v. 2, n. 3, p. 283-288, 2007.

REYS, L. L. Tóxicos ambientais desreguladores do sistema endócrino. *RFML*, Série III, v. 6 (4), p. 213-225, 2001.

RIBANI, M.; BOTOLLI, G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletriforéticos. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICHARDSON, M.L.; BOWRON, J.M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 37, p. 1-12, 1985.

ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J.P. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 15 (3), p. 241-248, 1996.

ROUTLEDGE, E. J.; SHEAHAN, D.; DESBROW, C.; BRIGHTY, G. C.; WALDOCK, M.; SUMPTER, J. P. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science and Technology*, v. 32, p. 1559-1565, 1998.

SABOGAL PAZ, L. P. *Modelo conceitual de seleção de tecnologias de tratamento de água para abastecimento de comunidades de pequeno porte.* Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos, 2007.

REDDERSEN, K.; HERBERER, T.; DÜNNBIER, U. Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground – and drinking water. *Chemosphere*, v. 49, p. 539-544, 2002.

SADIK, O. A.; WITT. D. M. Monitoring endovrine-disrupting chemicals. *Environmental Science & Technology*, p. 368-374, 1999.

SANTAMARTA, J. A Ameaça dos Disruptores Endócrinos. *Revista de Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*. Porto Alegre, v.2, n.3, jul/set. 2001.

SCHILIRÒ, T.; PIGNATA, C.; ROVERE, R.; FEA, E.; GILLI, G. The endocrine disrupting activity of surface waters and of wastewater treatment plant effluents in relation to chlorination. *Chemosphere*, 75, p. 335-340, 2009.

SCHMID, T.; GONZALEZ-VALERO, J.; RUFLI, H.; DIETRICH, D. R. Determination of vitellogenin kinetics in male fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Toxicology Letters*, v. 131, p. 65-74, 2002.

SCHNEIDER, C.; SCHÖLER, H. F.; SCHNEIDER, R. J. Direct sub-ppt detection of the endocrine disruptor ethinylestradiol in water with a chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay. *Anal. Chim. Acta*, v. 551, p. 92-97, 2005.

SCHULTIS, T.; METZGER, J. W. Determination of estrogenic activity by LYES-assay (yeast estrogen screen-assay assisted by enzymatic digestion with lyticase). *Chemosphere*, v. 57, p. 1649-1655, 2004.

SOTO, A. M.; SONNENSCHEIN, C.; CHUNG, K. L.; *et al.* The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives*, v. 103 (Suppl 7), p. 113-122, 1995.

SNYDER, S. A.; KEITH, T. L.; VERBRUGGE, D. A.; SNYDER, E. M.; GROSS, T. S.; KANNAN, K.; GIESY, J. P. Analytical methods for detection of selected estrogenic compounds in aqueous mixtures. *Environmental Science & Technology*, v. 33 (16), p. 2814-2820, 1999

SNYDER, S. A.; ADHAM, S.; REDDING, A. M.; CANNON, F. S.; DECAROLIS, J.; OPPENHEIMER, J.; WERT, E. C.; YOON, Y. Role of membranes and activated carbon in

the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. *Desalination*, 202, p. 156 – 181, 2007.

STACKELBERG, P. E.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUUG, S. D.; HENDERSON, A. K.; REISSMAN, D. B. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Science of the Total Environment*, 329, p. 99-113, 2004.

STUMPF, M.; TERNES, T.A.; WILKEN, R.D.; *et al.* Polar drug residues in sewage and natural waters in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Science of the Total Environment*, v. 225, p. 135-141, 1999.

SUMPTER, J. P. The ecotoxicology of hormonally active micropollutants. *Water Science & Technology*, v. 57.1, p. 125-130, 2008.

SVENSON, B.; ALLARD, A-S.; EK, M. Removal of estrogenicity in Swedish municipal sewage treatment plants. *Water Research*, v. 37, p. 4433-4443, 2003.

TERNES, T.A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Reaserch*, v. 32(11), p. 3245-3260, 1998.

TERNES, T.A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.D.; SERVOS, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigation in Germany, Canada and Brazil. *Science of the Total Environment*, v. 225, p. 81-90, 1999.

TERNES, T. A.; MEISENHEIMER, M.; MCDOWELL, D.; SACHER, F.; BRAUCH, H-J.; HAIST-GULDE, B.; PREUSS, G.; WILME, U.; ZULEI-SEIBERT, N. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science and Technology*, 36, p. 3855-3863, 2002.

TERNES, T. A.; STÜBER, J.; HERRMANN, N.; MCDOWELL, D.; RIED, A.; KAMPMANN, M.; TEISER, B. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragances from wastewater?. *Water Research*, 37, p. 1976-1982, 2003.

THORPE, K. L.; MAACK, G.; BENSTEAD, R.; TYLER, C. R. Estrogenic wastewater treatment works effluents reduce egg production in fish. *Environmental Science and Technology*, v. 43, p. 2976-2982, 2009.

TYLER, C. R.; JOBLING, S.; SUMPTER, J. P. endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. Critical Reviews. *Toxicology*, v. 28, p. 319-361, 1998.

TSCHMELAK, J.; PROLL, G.; GAUGLITZ, G. Optical biosensor for pharmaceuticals, antibiotics, hormones, endocrine disrupting chemicals and pesticides in water: assay optimization processes for estrone as example. *Talenta*, v. 65, p. 313-323, 2005.

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis*. Washington, DC, 1997

_____. *Removal of endocrine disruptor chemicals using drinking water treatment.* Washington, DC, 2001.

_____. *EPA's Endocrine Disruptor Screening Program should establish manegements controls to ensure more timely results.* Washington, DC, 2011.

VALCÁRCEL, Y.; GONZÁLEZ ALONSO, S.; RODRÍGUEZ-GIL, J. L.; ROMO MAROTO, R.; GIL, A.; CATALÁ, M. Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking-water of the Madrid Region in Spain. *Chemosphere*, 82, p. 1062-1071, 2011.

VANPARYS, C.; DEPIEREUX, S.; NADZIALEK, S.; ROBBENS, J.; BLUST, R.; KESTEMONT, P.; COEN, W. D. Performance of the flow cytometric E-screen assay in screening estrogenicity of pure compounds and environmental samples. *Science of the Total Environment*, 408, p. 4451-4460, 2010.

VERSTRAETEN, I. M.; HEBERER, T.; VOGEL, J. R.; SPETH, T.; ZUEHLKE, S.; DUENNBIER, U. Occurrence of endocrine-disrupting and other wastewater compounds during water treatment with case studies from Lincon, Nebraska and Berlin, Germany. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radiooactive Waste Management*, ASCE, v.7, n. 4, p. 253-263, 2003.

Von SPERLING, M. *Princípio do tratamento biológico de águas residuárias: introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.* Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 240p, 1995.

VULLIET, E.; WIEST, L.; BAUDOT, R.; GRENIER-LOUSTALOT, M-F. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and groud-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1210, p. 84-91, 2008.

WANG, C.; SHI, H.; ADAMS, C. D.; GAMAGEDARA, S.; STAYTON, I.; TIMMONS, T.; MA, Y. Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Water Research*, 45, p. 1818-1828, 2011.

WANG, L.; YING, G-G.; CHEN, F.; ZHANG, L-J.; ZHAO, J-L.; LAI, H-J.; CHEN, Z-F.; TAO, R. Monitoring of selected estrogenic compounds and estrogenic activity in surface water and sediment of the Yellow River in China using combined chemical and biological tools. *Environmental Pollution*, 165, p. 241-249, 2012.

WEIGEL, S.; BERGER, U.; JENSEN, E.; KALLENBORN, R.; THORESEN, H.; HUHNERFUSS, H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Trmso/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. *Chemosphere*, v. 56, p. 583-592, 2004.

WEN, H.; BERGENDAHL, J. A.; THOMPSON, R. W. Removal of estrone from water by adsorption on zeolites with regeneration by direct UV photolysis. *Environmental Engineering Science*, v. 26, n. 2, p. 319-326, 2009.

WESTERHOFF, P.; YOON, Y.; SNYDER, S.; WERT, E. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environmental Science and Technology*, v.39 (17), p. 6649-6663, 2005.

YING, G-G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y. J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environmental International*, v. 28 (6), p. 545-551, 2002.

YING, G-G.; KOOKANA, R. S.; KUMAR, A.; MORTIMER, M. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queensland. *Science of the Total Environment*, 407, p. 5147-5155, 2009.

YOON, Y.; WESTERHOFF, P.; SNYDER, S. A.; *et al*. HPLC-Fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17β-estradiol, and 17α-ethynyl estradiol on powdered activated carbon. *Water Research*, v. 37, p. 3530-3537, 2003.

YOON, Y.; WESTERHOFF, P.; SNYDER, S. A.; WERT, E. C.; YOON, J. Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes. *Desalination*, 202, p. 16-23, 2007.

YOON, Y.; RYU, J.; OH, J.; CHOI, B-G.; SNYDER, S. A. Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seul, South Korea). *Science of the Total Environment*, 408, p. 636-643, 2010.

ZACHAREWSKI, T. In vitro bioassays for assessing estrogenic substances. *Environmental Science Technology*, v. 31 (3), p. 613-623, 1997.

ZHANG, W.; LI, Y., SU, Y.; MAO, K.; WANG, Q. Effect of water composition on TiO_2 photocatalytic removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) and estrogenic activity from secondary effluent. *Journal of Hazardous Materials*, 215-216, p. 252-258, 2012.

ZHANG, Y.; ZHOU, J. L. Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater. *Chemosphere*, 73, p. 848-853, 2008.

ZHAO, J-L.; YING, G-G.; WANG, L.; YANG, J-F.; YANG, X-B.; YANG, L-H.; LI, X. Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acid pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry. *Science of the Total Environment*, 407, p. 962-974, 2009.

ZHAO, Y.; HU, J.; JIN, W. Transformation of oxidation products and reduction of estrogenic activity of 17β-estradiol by a heterogeneous photo-fenton reaction. *Environmental Science Technology*, 42, p. 5277-5284, 2008.

ZWIENER, C.; FRIMMEL, F. H. Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. *Water Research*, v. 34, n. 6, p. 1881-1885, 2000.

ZORITA, S.; MARTENSSON, 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, p. 2760-2770, 2009.