

# ESTUDO SOBRE A OCORRÊNCIA DE ESTRÓGENOS EM ÁGUAS NATURAIS E TRATADAS DA REGIÃO DE JABOTICABAL

*Cíntia Sobue Lorenzon<sup>1</sup>; Laudicéia Giacometti Lopes<sup>2</sup> & Luiz Augusto do Amaral<sup>3</sup>*

**RESUMO:** Dentre os fármacos presentes em ambientes aquáticos, os estrogênios merecem destaque, pois são capazes de causar efeitos adversos na saúde, seja humana ou de outros organismos. O presente estudo teve como objetivo adaptar e validar um método analítico visando a determinação de 17- $\beta$ -estradiol e estrona, em águas naturais e tratadas e aplicar o método validado para o estudo do Córrego Rico e da água de abastecimento do município de Jaboticabal, SP. As coletas foram feitas entre agosto/2006 e novembro/2006 ao longo do rio em pontos localizados entre a nascente até a água da saída da Estação de Tratamento de Água. Também foram realizadas análises de turbidez, pH, cor aparente, coliformes fecais e análise de carbono orgânico dissolvido (COD). O 17- $\beta$ -estradiol foi encontrado em todos os pontos de coleta, variou de 6,8 a 30,6 ng L<sup>-1</sup>. Enquanto que o estrona foi detectado em uma amostra da nascente, abaixo do limite de quantificação (0,6  $\mu$ g L<sup>-1</sup>). Fica evidente que a presença de estrogênios no Córrego Rico pode apresentar efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres. Por isso a necessidade de mais estudos para estabelecer a verdadeira extensão, principais fontes e conseqüências ecológicas da contaminação por estrogênios.

**ABSTRACT:** Among the pharmaceutical drugs detected in aquatic environment, the estrogens stands out, because they are capable to cause adverse effects in the health off, either humans or other organisms. This study has the objective to adapt and validate an analytical method aiming the determination of 17- $\beta$ -estradiol and estrone, in natural and drink waters, applying this method for the study of the Córrego Rico stream and the water supply of city of Jaboticabal - SP. The samples were gathered during August/2006 and November/2006, along the stream in points located between its spring and Water Treatment Station. The samples were put through analyses of turbidity, pH, apparent color, fecal coliforms and dissolved organic carbon analysis. The 17- $\beta$ -estradiol was found in all the collections points, varing between 6,8 and 30,6 ng L<sup>-1</sup>. Whereas the estrone was detected in one of the spring's sample, below the quantification limit (0,6  $\mu$ g L<sup>-1</sup>). It is evident that the presence of estrogens in Córrego Rico stream can present adverse effect in aquatic and terrestrial organisms. Therefore more studies are necessary to establish the true extension, main sources and ecological consequences of the contamination of estrogens.

**Palavras-chave:** estrona, 17- $\beta$ -estradiol, bacia hidrográfica.

---

<sup>1</sup> Pós-Graduanda em Aqüicultura, Centro de Aqüicultura da UNESP - CAUNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal - SP. E-mail: cintiasl@hotmail.com.

<sup>2</sup> Química responsável do Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Jaboticabal – SAAEJ, Rua Monte Alto 345, Santa Mônica, 14871-570, Jaboticabal - SP. E-mail: laboratorio@saej.sp.gov.br.

<sup>3</sup> Professor Adjunto, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP. E-mail: lamaral@fcav.unesp.br.

## 1 – INTRODUÇÃO

Dentre os hormônios sexuais, os estrogênios vêm recebendo maior atenção por serem compostos extremamente ativos e capazes de desencadear efeitos nocivos à biota e ao homem.

Os estrogênios naturais 17  $\beta$  estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) e o sintético 17  $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), desenvolvido para uso médico, são os que despertam maior preocupação, pois são introduzidos no ambiente em grande quantidade.

Embora parte dos estrogênios seja metabolizada e excretada na forma inativa, conjugados à ácido glucurônico ou sulfatos, enzimas produzidas por bactérias comumente encontradas em áreas de despejo de efluentes promovem a desconjugação produzindo estrogênios ativos e passíveis de desencadear efeitos deletérios (Ternes, 1999).

Os estrogênios têm o potencial de afetar adversamente o sistema reprodutivo de organismos aquáticos como, por exemplo, a feminização de peixes machos presentes em rios contaminados com descarte de efluentes de ETEs (Estações de Tratamento de Esgoto) (Fawell *et al.* 2001; Gimeno *et al.*, 1998).

Nos humanos essas substâncias estão relacionadas com doenças como câncer de mama (Daston *et al.*, 1997), testicular, ovários policísticos e redução da fertilidade masculina (Sharper e Skakkebaek, 1993; Peterson *et al.*, 2000).

Os estrogênios, excretados pelos humanos e animais, são continuamente introduzidos no ambiente através do esgoto doméstico e disposição do resíduo animal (Ying *et al.*, 2002). O esgoto é lançado no corpo receptor *in natura* ou após passagem por tratamento. Para o resíduo animal, este atinge o corpo hídrico por escoamento ou lixiviação, e no caso da água subterrânea, por infiltração. Estas fontes são utilizadas para o abastecimento público de água após passagem por tratamento, onde as substâncias não removidas pelo processo são ingeridas pela população, fechando um círculo vicioso.

Os hormônios estrogênicos podem ser analisados simultaneamente, devido a semelhanças nas propriedades físico-químicas (Ternes, 2001). Os métodos publicados na literatura para determinação de estrogênios em água são principalmente baseados em extração em fase sólida, derivação (sililação) e detecção por GC/MS ou GC/MS/MS, com limites de quantificação em faixas menores que ng.L<sup>-1</sup> (Ternes, 2001). Outra alternativa consiste na cromatografia líquida com detecção por fluorescência ou radioimunoensaio (Snyder *et al.*, 1999) ou espectrometria de massa (Baronti *et al.*, 2000).

No Brasil há poucos relatos na literatura sobre contaminação de rios por hormônios estrogênicos; sabendo-se da ausência de tratamento de esgoto na maioria dos municípios e considerando os efeitos que tais substâncias podem causar no meio ambiente, o presente estudo tem

como objetivo a adaptação e validação de um método analítico confiável visando a determinação de 17  $\beta$  estradiol e estrona, em águas naturais e tratadas.

## 2 – MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 - Otimização das condições cromatográficas

#### 2.1.1 Preparação das soluções estoque

Foram preparadas soluções padrão de concentração nominal 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (massa do padrão por volume de acetonitrila) para cada um dos analitos de interesse. A partir dessa solução estoque foram preparadas soluções mistas com diferentes concentrações dos padrões, de modo a adequar-se à sensibilidade do detector.

#### 2.1.2 Desempenho analítico do sistema HPLC/UV

Para os estudos do sistema HPLC/UV (Cromatógrafo Líquido acoplado a um detector de UV) foram utilizadas soluções-padrão mistas, em acetonitrila, com concentrações variando entre 2,5 e 12,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , preparadas a partir da diluição das soluções estoque.

O equipamento utilizado foi um Cromatógrafo Líquido com detector UV operando a 281 nm. O volume injetado (injetor manual), utilizando-se microseringa, foi de 20  $\mu\text{L}$ . Empregou-se fluxo de 1,0  $\text{mL min}^{-1}$  do sistema eluente e as condições cromatográficas descritas por Snyder *et al.* (1999): 10 min, 50 à 24% de água deionizada, 50 à 76% de acetonitrila.

A quantificação foi feita pelo método do padrão externo, sendo construída uma curva analítica com 5 concentrações dos padrões e número de repetições para cada ponto igual a 2.

A curva analítica forneceu informações sobre a linearidade da faixa estudada através do cálculo do coeficiente de correlação (r).

Por meio da construção das curvas analíticas também se pode observar a sensibilidade analítica do sistema através do coeficiente angular obtido da equação da reta da curva analítica (do tipo  $y = ax + b$ , onde a é o coeficiente angular e b, o coeficiente linear).

Para complementar a avaliação do sistema cromatográfico, foi calculado o coeficiente de variação (CV) para as repetições de cada ponto da curva, por meio da qual pode-se inferir sobre a precisão do sistema na faixa estudada. Nesse cálculo utilizou-se a relação descrita a seguir (Brito *et al.*, 2003):

$$\text{CV (\%)} = (S/M) \times 100 \quad (1)$$

Onde: S = desvio padrão; M = média dos resultados das absorbâncias.

#### 2.1.3 Desempenho analítico do sistema HPLC/FLU

Para a separação e detecção dos analitos no sistema HPLC/FLU (Cromatógrafo Líquido acoplado a um detector de Fluorescência) foram utilizadas as mesmas condições cromatográficas utilizadas para o HPLC/UV.

Para esta etapa utilizou-se solução padrão mista contendo os 2 hormônios nas concentrações entre 1 e 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para a estrona e 12,5 e 100  $\text{ng mL}^{-1}$  para 17  $\beta$  estradiol. Nesta etapa trabalhou-se com os comprimentos de onda descritos pela literatura (Snyder *et al.*, 1999) e confirmados por espectro efetuado (excitação igual a 230 nm e emissão igual a 306 nm).

Para o sistema HPLC/FLU, a curva analítica foi construída com 5 pontos e 3 repetições para cada ponto, conforme recomendado pela ANVISA (2003).

A avaliação do desempenho do sistema cromatográfico foi feita da mesma forma que para o HPLC/UV.

## 2.2 - Validação do método

Foram feitos vários testes e o método que apresentou melhor desempenho, usando como critério a obtenção de recuperação entre 40 e 120% e o coeficiente de variação menor que 45% para repetições (Brito *et al.*, 2003), é mostrado no fluxograma (Figura 1).

Para a validação do método, utilizou-se do estudo de recuperação para determinação da precisão e exatidão conforme descrito por Brito *et al.* (2002). Foram feitas três repetições do procedimento de extração com água superficial e filtrada fortificadas.

Tabela 1 - Níveis de fortificação utilizados para água subterrânea.

Nível	Estrona ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	17 $\beta$ Estradiol ( $\text{ng L}^{-1}$ )
Baixo	2	25
Médio	8	100
Alto	20	200

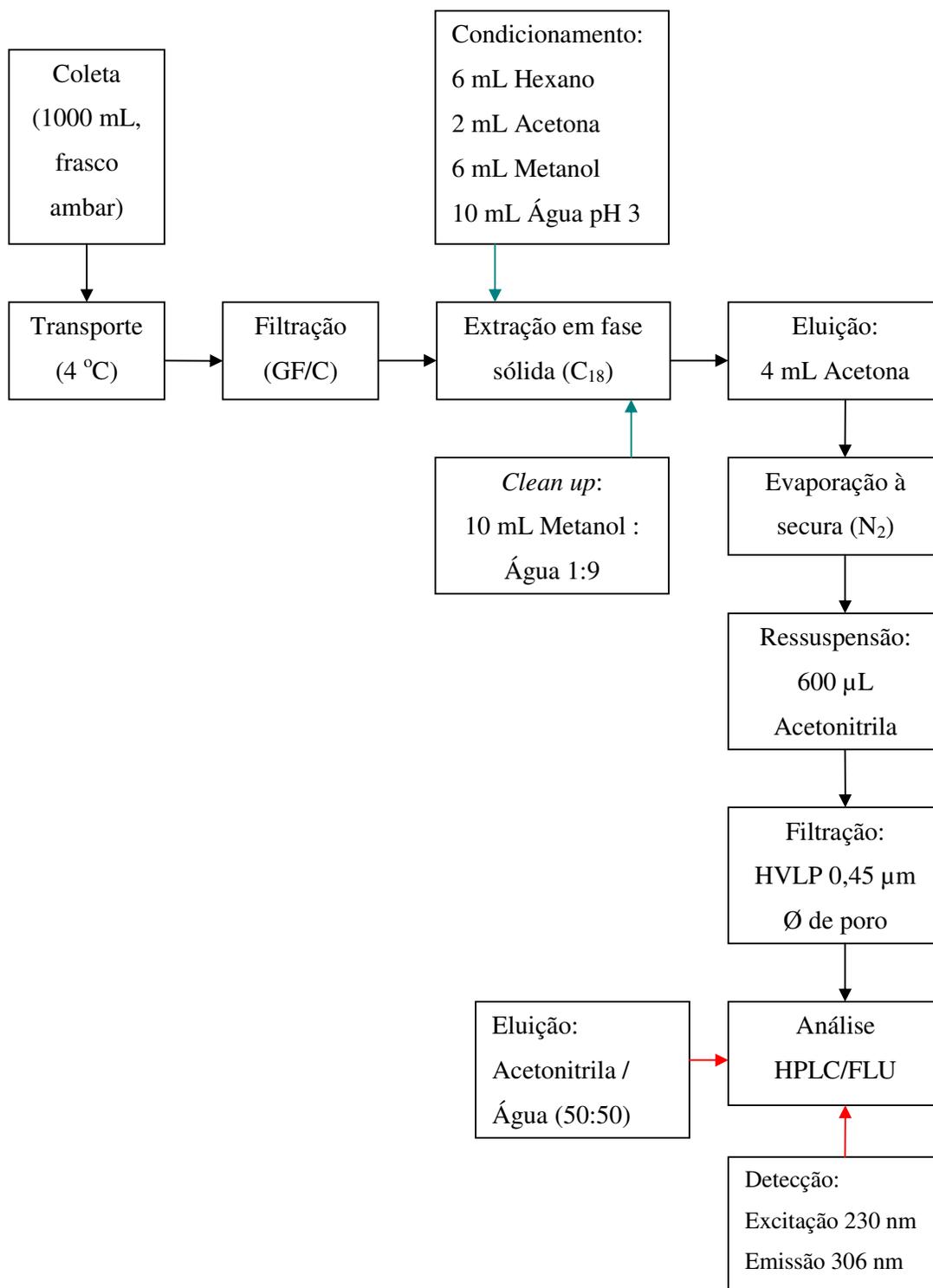


Figura 1 - Esquema do método validado e utilizado para análise de 17  $\beta$  estradiol e estrona em águas naturais e tratadas.

### 2.3 - Estudo de caso aplicado ao sistema de abastecimento de Jaboticabal - SP

Os pontos de coleta estavam localizados entre a nascente do Córrego Rico e a captação de água para abastecimento de Jaboticabal (CR1 - nascente; CR2 - após passagem pela área urbana do

município de Monte Alto; CR3 - no ponto de captação de água para abastecimento, e PT4 - após passagem pela Estação de Tratamento de Água). Na Tabela 2, apresentam-se as coordenadas geográficas dos mesmos.

Tabela 2 - Localização, com coordenadas do Sistema de Projeção UTM<sup>(\*)</sup>, dos pontos de coleta no Córrego Rico, Jaboticabal - SP.

Ponto de coleta	Latitude (m)	Longitude (m)
CR1	7.645.027	757.006
CR2	7.641.048	764.645
CR3	7.641.118	777.648
PT4	7.646.719	777.227

(\*) Sistema de Projeção Cartográfica Universo Transverso de Mercator.

Para cada ponto de coleta, foram tomados 4 L de amostra em frasco de vidro âmbar. As amostras foram transportadas em caixa térmica contendo gelo não-reciclável e armazenadas sob proteção de luz até o momento da análise. Todas as amostras foram processadas em intervalo menor que 24 horas do momento da coleta. Os pontos de coleta estão ilustrados na Figura 2.

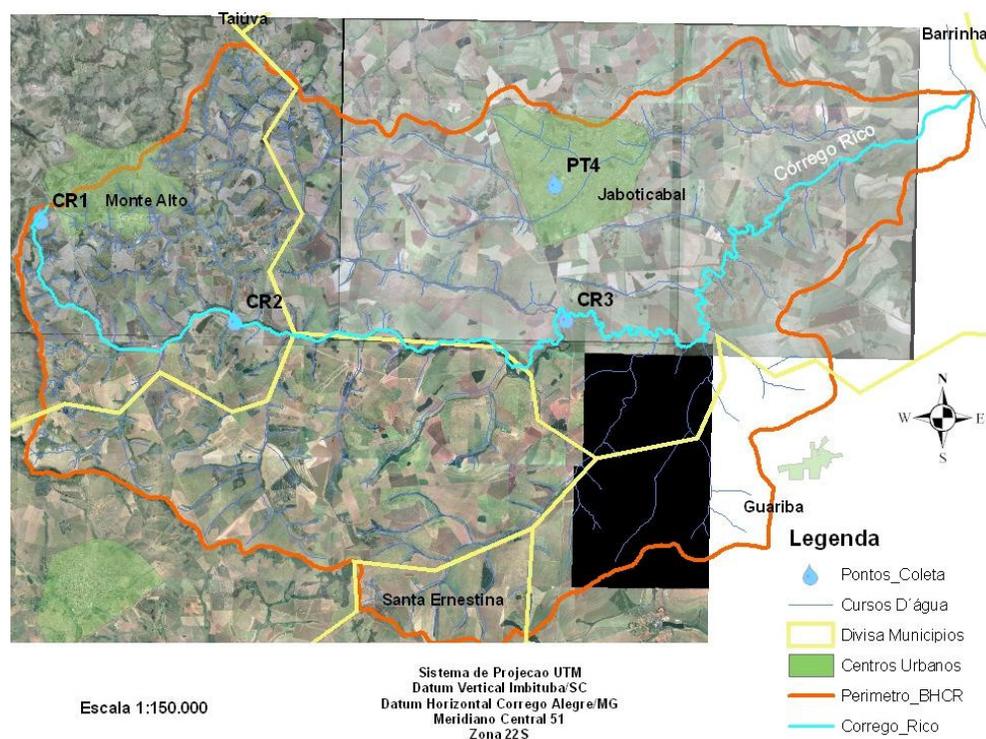


Figura 2 - Pontos de coleta na Bacia Hidrográfica do Córrego Rico. Fonte: Amaral (2005).

Elaborado com fotos cedidas pela CATI, Secretaria Estadual da Agricultura.

Procederam-se coletas em período de cheia (outubro e novembro/2006) e em período de seca (agosto e setembro/2006). Para complementar as avaliações, foram realizadas análises de turbidez, pH, cor aparente e coliformes fecais (APHA, 1992). Realizou-se também, análise de Carbono Orgânico Dissolvido, conforme descrito por Martini (2005), para carbono orgânico total, com filtração prévia em filtro com diâmetro de poro de 0,45 µm.

Exceto para a coleta de agosto/06, o ponto PT4 refere-se à amostra de água da saída da ETA e nesta também foi analisado o Cloro Residual Livre, pelo método colorimétrico (APHA, 1992). Na coleta de agosto/06, o ponto PT4 refere-se a água apenas filtrada, sem adição de cal, cloro, ortopolifosfato de sódio e ácido fluorsilícico.

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 - Desempenho analítico do sistema HPLC/UV

A seguir, são apresentadas na Tabela 3, as equações das retas das curvas analíticas e os respectivos coeficientes de correlação.

Tabela 3 - Equações da curva analítica, intervalo de trabalho e coeficiente de correlação.

Hormônios	Intervalo de trabalho ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Equação	Coeficiente de correlação (r)
Estrona	2,5 a 12,5	$Y = 32476x - 4394$	0,999
17 $\beta$ Estradiol	2,5 a 12,5	$Y = 30802x - 4562$	0,999

Observou-se excelente relação linear entre as concentrações dos hormônios e a resposta do detector, uma vez que os coeficientes de correlação apresentaram-se próximos de 1 e acima dos valores recomendados pela ANVISA (2003) e pelo INMETRO (2005), de 0,99 e 0,90, respectivamente.

Para o limite de detecção, observou-se experimentalmente que em concentrações de  $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  há detecção com repetibilidade satisfatória da área em injeções sucessivas, ou seja, é possível efetuar a quantificação. Para o limite de detecção observado experimentalmente, embora o mesmo não tenha sido determinado para este caso, sabe-se que este se encontra entre  $1,0$  e  $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Apesar de ter apresentado vantagens fundamentais para a confiabilidade analítica, tais como repetibilidade (precisão) e linearidade, o sistema HPLC/UV não foi selecionado para validação do método porque o intervalo de trabalho esteve acima do apresentado pelo sistema HPLC/FLU.

#### 3.2 - Desempenho do sistema analítico HPLC/FLU

A seguir, são apresentadas na Tabela 4, as equações das retas das curvas analíticas e os coeficientes de correlação obtidos.

Tabela 4 - Equações da curva analítica, intervalo de trabalho e coeficiente de correlação.

Hormônios	Intervalo de trabalho ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Equação	Coeficiente de correlação (r)
Estrona	1 a 10	$Y = 505737x - 17632$	0,999
17 $\beta$ Estradiol	0,0125 a 0,100	$Y = 2,0 \times 10^7x + 36976$	0,995

Por meio do coeficiente de correlação próximo de 1, nota-se que a linearidade esteve bastante satisfatória e também esteve acima do valor recomendado pela ANVISA, de 0,99 (ANVISA, 2003) e pelo In Metro (INMETRO, 2005), de 0,90.

Quanto ao coeficiente angular, os valores obtidos foram altos (505737 para o Estrona e  $2,0 \times 10^7$  para o 17  $\beta$  Estradiol), o que implica em alta sensibilidade. Destaca-se que a sensibilidade do sistema HPLC/FLU foi encontrada como sendo maior que a encontrada para o sistema HPLC/UV.

Outra vantagem apresentada pelo sistema consiste na faixa de trabalho em regiões não atingidas pelos demais sistemas estudados (HPLC/UV). Este fato pode ser constatado pelos limites de detecção e quantificação apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) observados experimentalmente para os hormônios.

Hormônios	LD ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
Estrona	0,5	1
17 $\beta$ Estradiol	0,006	0,0125

As vantagens apresentadas pelo conjunto HPLC/FLU tornaram-se motivo pelo qual o desenvolvimento e validação do método tivessem continuidade por este sistema.

### 3.3 - Validação do método

Os resultados obtidos referentes ao ensaio de recuperação para água superficial são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Recuperações percentuais (intervalo e média), desvio-padrão e coeficiente de variação dos compostos analisados pelo método proposto para água de rio.

Hormônio	Nível de Fortificação	Recuperação (%)			CV (%)
		Intervalo	Média	S	
Estrona ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,6	69,1 – 100,0	85,2	15,5	18,3
	1,5	96,5 – 102,9	99,0	3,4	3,4
	5,0	80,2 – 98,2	88,9	9,0	10,1
17 $\beta$	7,5	118,7 – 138,9	128,3	10,5	8,1
Estradiol ( $\text{ng L}^{-1}$ )	30,0	91,2 – 96,8	93,3	3,0	3,2
	50,0	82,5 – 108,0	96,2	12,8	13,4

s: Desvio-padrão.

CV: Coeficiente de Variação.

Os resultados referentes à validação de água filtrada são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Recuperações percentuais (intervalo e média), desvio-padrão e coeficiente de variação dos compostos analisados pelo método proposto para água filtrada.

Hormônio	Nível de Fortificação	Recuperação (%)			CV (%)
		Intervalo	Média	S	
Estrona ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,6	81,5 – 90,1	84,7	4,7	5,6
	1,5	42,7 – 72,5	62,0	16,7	27,0
	5,0	88,6 – 96,5	91,6	4,3	4,7
17 $\beta$	7,5	66,4 – 107,3	85,9	20,5	23,9
Estradiol ( $\text{ng L}^{-1}$ )	30,0	40,0 – 66,5	56,4	14,3	25,4
	50,0	81,6 – 90,7	85,7	4,6	5,4

s: Desvio-padrão.

CV: Coeficiente de Variação.

Os resultados obtidos para a validação de água superficial e filtrada foram considerados satisfatórios considerando-se os critérios adotados de 40 a 120 % para a recuperação e de 45 % de coeficiente de recuperação para a precisão (Brito *et al.*, 2003). Em seguida é apresentado na Tabela 8, os Limites de Quantificação do método, observados experimentalmente.

Tabela 8 - Limites de quantificação (LQ) determinados experimentalmente para os hormônios para o método proposto para água de rio.

Hormônios	LQ
Estrona ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,6
17 $\beta$ Estradiol ( $\text{ng L}^{-1}$ )	7,5

O limite de quantificação para o 17  $\beta$  Estradiol de  $7,5 \text{ ng L}^{-1}$  encontra-se de acordo com os limites apresentados pelos métodos descritos na literatura, que variam de  $0,1$  a  $20 \text{ ng L}^{-1}$ . Este limite também se encontra próximo da menor concentração a apresentar efeito biológico para estrona e 17  $\beta$  Estradiol, o qual consiste em  $10 \text{ ng L}^{-1}$  (Barel-Cohen *et al.*, 2006).

O limite de quantificação de  $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$  da estrona apresentou-se acima dos limites dos métodos descritos na literatura que estão na ordem  $\text{ng L}^{-1}$ . Os ensaios com concentrações menores foram limitados pela sensibilidade do detector à estrona, que apresenta menor fluorescência do que o 17  $\beta$  estradiol. Considerou-se como limite de detecção do método para estrona de  $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$  na qual a concentração mínima na amostra, que após a extração, refere-se a concentração mínima detectada pelo equipamento (limite de detecção do equipamento é de  $0,5 \text{ ng L}^{-1}$ ).

### 3.4 - Estudo de caso aplicado ao sistema de abastecimento de Jaboticabal - SP

Os resultados obtidos para as coletas do período de cheia (outubro e novembro) e do período de seca (agosto e setembro) do ano de 2006 estão expressos na Tabela 9. A precipitação pluviométrica referente ao período em questão na Tabela 10.

Tabela 9 - Resultados de qualidade de água e concentração de estrona e 17  $\beta$  estradiol nas coletas efetuadas na sub-bacia hidrográfica do Córrego Rico, em Jaboticabal e Monte Alto - SP.

Data	PH	Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	CRL (mg L <sup>-1</sup> )	COD (mg L <sup>-1</sup> )	E. coli (UFC 100 mL <sup>-1</sup> )	17 $\beta$ Estradiol (ng L <sup>-1</sup> )	Estrona ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )
<b>CR1</b>								
29/08	6,29	3	0,1	-	-	< 1	16,0	ND
13/09	6,46	< 1	0,1	-	0,00	< 1	ND	ND
28/09	6,75	< 1	0,2	-	0,90	18	30,6	< LQ
16/10	6,66	< 1	0,2	-	2,50	< 1	ND	ND
30/10	6,73	< 1	0,2	-	4,58	< 1	ND	ND
16/11	7,20	< 1	0,1	-	1,23	< 1	ND	ND
22/11	6,69	< 1	0,5	-	2,26	< 1	ND	ND
<b>CR2</b>								
29/08	7,34	81	7,58	-	-	468	ND	ND
13/09	7,38	75	7,08	-	3,39	70	ND	ND
28/09	7,82	208	14,5	-	6,56	1700	ND	ND
16/10	7,65	165	21,7	-	5,65	310	ND	ND
30/10	7,67	214	25,9	-	11,70	183	ND	ND
16/11	7,78	154	16,8	-	5,18	92	10,2	ND
22/11	7,67	143	15,8	-	6,51	184	8,6	ND
<b>CR3</b>								
29/08	6,96	71	8,44	-	-	900	ND	ND
13/09	7,24	57	6,16	-	1,93	120	ND	ND
28/09	7,63	72	9,61	-	1,98	180	25,8	ND
16/10	7,61	103	15,6	-	6,55	200	ND	ND
30/10	7,80	155	20,6	-	7,58	265	ND	ND
16/11	7,71	164	24,8	-	-	120	ND	ND
22/11	7,66	188	30,5	-	4,83	173	ND	ND
<b>PT4</b>								
29/08	6,67	1	0,1	-	-	2	ND	ND
13/09	7,50	< 1	0,1	1,20	0,88	< 1	ND	ND
28/09	6,99	< 1	0,3	1,82	0,00	< 1	6,8	ND
16/10	7,06	< 1	0,3	1,45	3,82	< 1	ND	ND
30/10	7,23	< 1	0,1	1,48	6,48	< 1	ND	ND
16/11	7,38	< 1	0,2	1,58	1,31	< 1	ND	ND
22/11	7,18	1	0,3	1,21	2,86	< 1	ND	ND

Onde: LQ, limite de quantificação (0,6  $\mu$ g L<sup>-1</sup> para Estrona e 7,5 ng L<sup>-1</sup> para 17  $\beta$  estradiol);

UFC, unidade formadora de colônia; -, não analisado; ND, não detectado; uH, unidade

Hazen; uT, unidade de turbidez

Tabela 10 - Precipitação pluviométrica (mm.dia-1) referente município de Monte Alto e ao período de março a novembro/2006. Fonte: SAA, Cati, Regional de Jaboticabal.

Dia	Mês			
	Agosto	Setembro	Outubro*	Novembro*
1		6,4		
2		11,8	15	60
3				
4				28
5			10	50
6			47,5	
7			20	32
8			0,5	
9				
10				
11				5
12			1,5	
13			10	
14				
15			33	
16			2	
17			25	
18			9	
19			42,5	
20				16,5
21		22,5		
22				
23				
24		15		5
25				2,5
26	5,4			2,5
27	4,6			
28	2,8		10	25
29				
30				
31				

\* Pluviômetro da ETA de Jaboticabal.

Independente do local de coleta, a concentração máxima de estrona foi de  $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$  e para  $17 \beta$  estradiol foi de  $30,6 \text{ ng L}^{-1}$ .

As concentrações de  $17 \beta$  estradiol na nascente (CR1) de  $16,0$  e  $30,6 \text{ ng L}^{-1}$ , corroboram com os achados de Peterson *et al.* (2000), que ao estudar a presença desse hormônio nos aquíferos calcários do nordeste de Arkansas verificou uma concentração de  $6$  a  $66 \text{ ng L}^{-1}$ .

De acordo com os autores acima, a concentração de E2 está correlacionado com a concentração de *E. coli* uma vez que este está associada com a presença de dejetos de animais.

Assim, a contaminação da nascente pode estar associada com a aplicação de esterco de animais próximos da área.

Observa-se na Tabela 10, que a precipitação pluviométrica nos dias anteriores à colheita pode ter auxiliado nos altos níveis de E2 na nascente. De acordo com Peterson *et al.* (2000), E2 se movimenta através das águas de escoamento que por sua vez, infiltram no solo e atingem a água subterrânea.

Na maioria das amostras, as concentrações dos estrógenos estão abaixo do limite de quantificação e a concentração de E1, na maioria das amostras, não supera a concentração de E2. Esses dados são contrários ao encontrado na literatura (Ternes *et al.*, 1999; Tashiro *et al.*, 2003; Cargouët *et al.*, 2004), uma vez que está relacionado com a oxidação do E2 para o E1.

Entre o ponto CR2 e CR3 observa-se uma leve queda dos níveis de estrógenos. Microorganismos presentes na água do rio podem ter auxiliado na degradação desses hormônios (Jürgens *et al.*, 2002). Sendo a meia-vida dos estrógenos estimados por Williams *et al.* (1999), de 2-6 dias na água e no sedimento.

A presença de pequenos produtores de suínos ao longo da margem do rio Córrego Rico, pode estar relacionada com o alto valor do  $17\beta$  estradiol encontrado no ponto CR2 e CR3 (10,2 ng L<sup>-1</sup> e 25,8 ng L<sup>-1</sup> respectivamente). Esse hormônio é móvel e pode ter sido carregado para o rio por meio do escoamento ou lixiviação. Williams *et al.* (1999) verificou que em pastos que foram aplicados esterco a uma taxa de 5 Mg/ha, a concentração média de E2 observada na água de escoamento foi de 3.500 ng L<sup>-1</sup>.

Porém, não é possível inferir que a contaminação do rio por hormônios estrogênicos é devida apenas na presença de granjas. Sabe-se que a partir do ponto CR2 o rio recebe efluente da ETE de Monte Alto e que mesmo passando por tratamento, muitos autores (Snyder *et al.*, 1999; Ternes, *et al.*, 1999; Cargouët *et al.*, 2004; Suzuki e Maruyama, 2006) demonstraram a presença de estrogênios em esgoto tratados. As concentrações médias achadas na literatura variam de 0,4 a 14 ng L<sup>-1</sup> para E2 e de 1,5 a 9,9 ng L<sup>-1</sup> para E1 (Ying *et al.*, 2002).

Para diferenciar hormônios de origem humana de não-humana é necessário analisar a presença de estriol e do hormônio sintético, etinilestradiol (Barel-Cohen *et al.*, 2006).

A concentração de estrogênios em águas superficiais relatada nessa pesquisa foi superior ao encontrado por Barel-Cohen *et al.* (2006) que foi de 4,9 ng L<sup>-1</sup>. Porém, com relação aos valores encontrados para  $17\beta$  estradiol, este foram similares ao relatado por Wenzel *et al.* (1998). Já os níveis de estrona estão similares aos achados de Ternes *et al.* (1999), que foram encontrados níveis abaixo de 0,6 µg L<sup>-1</sup>.

A pouca quantidade de E1 nas amostras pode estar relacionada com a absorção desse hormônio no sedimento. Sabe-se que o coeficiente de absorção da estrona é maior que a do  $17\beta$

estradiol, e que a absorção dos estrógenos está correlacionada com a presença de carbono orgânico (Lai *et al.*, 2000). De acordo com a Tabela 12, os valores de E1 diminuem a medida que aumenta a concentração de COD, é de se esperar que a absorção desse hormônio no sedimento é um fator importante na redução da concentração de estrona na fase aquosa.

No ponto PT4 pode-se observar que numa amostra houve presença de hormônio estrogênico. O processo de tratamento de água não foi suficiente para impedir níveis próximos a menor concentração a apresentar efeito biológico para 17  $\beta$  estradiol e estrona, que é 10 ng L<sup>-1</sup> (Barel-Cohen *et al.*, 2006).

Kuch e Ballschmiter (2001) também encontraram E2 numa concentração acima de 2,1 ng L<sup>-1</sup> em amostras de água provenientes da torneira.

#### 4 – CONCLUSÕES

O sistema HPLC/FLU mostrou-se um método analítico confiável para a determinação de 17  $\beta$  estradiol e estrona, em águas naturais e tratadas.

Em todos os pontos (CR1, CR2, CR3 e PT4) foram detectados a presença de estrogênios, na ordem de ng L<sup>-1</sup>. Os dados encontrados na presente pesquisa demonstram a necessidade de estabelecer limites de concentrações de estrógenos para o descarte seguro de efluentes domésticos tratados em corpos receptores bem como implantar tratamento adequado para os dejetos de animais.

Fica evidente a necessidade de mais estudos para estabelecer a verdadeira extensão, principais fonte e conseqüências ecológicas da contaminação por estrogênios.

#### AGRADECIMENTOS

À FAPESP pela concessão de bolsa e pelo apoio financeiro e ao SAAEJ, pelo suporte necessário para realização das coletas.

#### BIBLIOGRAFIA

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Resolução RE nº 899, de 23 de Maio de 2003*. Online. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899\\_03re.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm)>. Acesso em 27/11/06.

AMARAL, L. A. (2005). “*Estudo piloto da poluição antrópica da microbacia hidrográfica do Córrego Rico. Jaboticaba*”l, 68 p. (Relatório FAPESP, processo nº 03/06427-4).

APHA (American Public Health Association). (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, DC: APHA.

- BAREL-COHEN, K.; SHORE, L. S.; SHEMESH, M.; WENZEL, A.; MUELLER, J.; KRONFELD-SCHOR, N. (2006). “*Monitoring of natural and synthetic hormones in a polluted river*”. *Journal of Environmental Management* 78, pp. 16–23.
- BARONTI, C.; CURINI, R.; D’ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; GENTILI, A.; SAMPERI, R. (2000). “*Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water*”. *Environmental Science and Technology* 34 (24), pp. 5049-5066.
- BRITO, N. M.; AMARANTE JR., O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. (2003). “*Validação de métodos analíticos: estratégias e discussão*”. *Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente* 13, pp. 129-146.
- BRITO, N. M.; AMARANTE JR., O. P.; POLESE, L.; SANTOS, T. C. R.; RIBEIRO, M. L. (2002). “*Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de recuperação*”. *Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente* 12, pp. 155-168.
- CARGOUËT, M.; PERDIZ, D.; MOUATASSIM-SOUALI, A.; TAMISIER-KAROLAK, S.; LEVI, Y. (2004). “*Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France)*”. *Science of the Total Environment* 324, pp. 55–66.
- CURRIE, L. A. (1999). “*Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC recommendations, 1995)*”. *Analytica Chimica Acta* 391, pp. 105-126.
- DASTON, G. P.; GOOCH, J. W.; BRESLIN, W. J.; SHEREY, D. L.; NIKIFOROV, A. I.; FICO, T. A.; GORSUCH, J. W. (1997). “*Environmental estrogens and reproductive health: a discussion of the human and environmental data*”. *Reproductive Toxicology* 11 (4), pp. 465-481.
- FAWELL, J. K.; SHEAHAN, D.; JAMES, H. A.; HURST, M.; SCOTT, S. (2001). “*Oestrogens and Oestrogenic activity in raw and treated water in severn trent water*”. *Water Research* 35 (5), pp. 1240-1244.
- GIMENO, S.; KOMEN, H.; JOBLING, S.; SUMPTER, J.; BOWMER, T. (1998). “*Demasculinisation of sexually mature male common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-tert-pentylphenol during spermatogenesis*”. *Aquatic Toxicology* 43 (2-3), pp. 93-109.
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. *DOQ-CQCRE-008, de 01 de março de 2003*. Online. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/kits/doqcgcre008r01.pdf>>. Acesso em: 27/11/06.
- JOHNSON, A. C.; WILLIAMS, R. J.; MATTHIESSEN, P. (2006). “*The potential steroid hormone contribution of farm animals to freshwaters, the United Kingdom as a case study*”. *Science of the Total Environment* 362, pp. 166–178.

- JÜRGENS, M. D.; HOLTHAUS, K. I.; JOHNSON, A. C.; SMITH, J. L.; HETHERIDGE, M.; WILLIAMS, R. J. (2002). “*The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in English rivers*”. Environmental toxicology and chemistry 21, pp. 480-488.
- KUCH, H. M.; BALLSCHMITER, K. (2001). “*Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range*”. Environmental science and technology 35, pp. 3201-3206.
- LAI, K. M.; JOHNSON, K. L.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. (2000). “*Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems*”. Environmental science and technology 34, pp. 3890-3894.
- MARTINI, R. A. “*Estudo da fotodegradação dos compostos orgânicos presentes em amostras de chorume por processo Foto Fenton*”. 2005. 57 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.
- PETERSON, E. W.; DAVIS, R. K.; ORNDORFF, H. A. (2000). “*17  $\beta$ -Estradiol as an indicator of animal waste contamination in mantled karst aquifers*”. Journal of Environmental Quality 29, pp. 826-834.
- SHARPE, R. M.; SKAKKEBAEK, N. E. (1993). “*Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?*”. Lancet 341, pp. 1392-1395.
- SNYDER, S. A.; KEITH, T. L.; VERBRUGGE, D. A.; SNYDER, E. M.; GROSS, T. S.; KANNAN, K.; GIESY, J. P. (1999). “*Analytical methods for detection of select estrogenic compounds in aqueous mixtures*”. Environmental Science and Technology 33, pp. 2814-2820.
- SOLIMAN, M. A.; PEDERSEN, J. A.; SUFFET, I. H. (2004). “*Rapid gas chromatography – mass spectrometry screening method for human pharmaceuticals, hormones, antioxidants and plasticizers in water*”. Journal of Chromatography 1029, pp. 223-237.
- SUZUKI, Y.; MARUYAMA, T. (2006). “*Fate of natural estrogens in batch mixing experiments using municipal sewage and activated sludge*”. Water research 40, pp. 1061-1069.
- TASHIRO, Y.; TAKEMURA, A. FUJII, H.; TAKAHIRA, K.; NAKANISHI, Y. (2003). “*Livestock wastes as a source of estrogens and their effects on wildlife of Manko tidal flat, Okinawa*”. Marine Pollution Bulletin 47, pp. 143–147.
- TERNES, T. (2001). A. “*Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples*”. Trends in Analytical Chemistry 20 (8), pp. 419-434.
- TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MULLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R. D.; SERVOS, M. (1999). “*Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I*”. Investigations in Germany, Canada and Brazil. The Science of Total Environment 225, pp. 81-90.

WENZEL, A.; KUECHLER, T. H.; MUELLER, J. (1998). "*Konzentrationen oestrogen wirksamer Substanzen in Umweltmedien*". German Environmental Protection Agency, Projeto n° 21602011/11 (Alemanha).

WILLIAMS, R. J.; JÜRGEN, M. D.; JOHNSON, A. C. (1999). "*Initial predictions of the concentrations and distribution of 17  $\beta$ -estradiol, oestrone and ethynyl oestradiol in 3 English rivers*". Water Research 33 (7), pp. 1663-1671.

YING, G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y. J. (2002). "*Occurrence and fate of hormone steroids in the environment*". Environment International 28, pp. 545–551.