



INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS DO ESTADO DE SÃO PAULO

INVESTIGATION OF ESTROGENIC ACTIVITY IN GROUNDWATER OF SAO PAULO STATE

Gilson Alves Quinágua¹; Daniela Dayrell França¹; Gisela de Assis Martini²; Fabiano Fernandes Toffoli¹; Rosângela Pacini Modesto¹; Rúbia Kuno¹; Maria Inês Zanolli Sato¹

Artigo recebido em: 20/10/2016 e aceito para publicação em: 06/12/2016.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14295/ras.v31i1.28667>

Resumo: Os interferentes endócrinos são substâncias químicas de diversas naturezas como hormônios naturais (estrone - E1, estradiol - E2, estriol - E3), hormônios sintéticos (etinilestradiol - EE2, utilizado em anticoncepcionais), compostos orgânicos sintéticos como o bisfenol A, praguicidas organoclorados como o DDT, entre outros, capazes de interferir na ação dos hormônios. Com o atual quadro de demanda hídrica no Estado de São Paulo e consequente aumento da exploração de água subterrânea, o potencial de infiltração de água superficial contaminada por interferentes endócrinos na água subterrânea tem aumentado devido ao rebaixamento do lençol, especialmente nos locais onde poços de alta vazão estão localizados próximos às águas superficiais. As redes de esgotos danificadas e sistemas sépticos podem também levar a lixiviação desses compostos para as águas subterrâneas. Com objetivo de investigar a atividade estrogênica em águas subterrâneas do Estado de São Paulo, a CETESB utilizou no presente estudo o bioensaio BLYES (*Bioluminescent Yeast Estrogen Screen*), baseado em leveduras bioluminescentes, no período de 2011 a 2015. Dos 78 pontos de coleta da rede de monitoramento, 6 apresentaram atividade estrogênica superior ao limite de quantificação do método, entretanto, os valores ficaram abaixo do valor de referência de 3,8 ng E2 eq L⁻¹, evidenciando que não há risco à saúde humana para consumo de água subterrânea a longo prazo. Os resultados mostram que as águas subterrâneas analisadas estão protegidas quanto à ocorrência de atividade estrogênica.

Palavras-chave: BLYES. Interferentes endócrinos. Águas subterrâneas.

Abstract: The endocrine disruptors are chemicals able to interfere with the action of hormones. They may be natural (estrone, estradiol, estriol) or synthetic hormones (ethinylestradiol, used for contraception), plasticizers such as bisphenol A, pesticides like DDT, among others. The high water demand in Sao Paulo State has led to an increase in groundwater exploitation, resulting in greater groundwater draw downs. Consequently, the input of surface water contaminated with endocrine disrupting compounds in groundwater will increase, especially in areas where high capacity wells are located near surface waters. These compounds can also reach the groundwater through leaching of septic system effluents or damaged sewage networks. In order to investigate the estrogenic activity in groundwaters of Sao Paulo State, CETESB used the BLYES bioassay (Bioluminescent Yeast Estrogen Screen) from 2011 to 2015. Out of 78 sampling sites in the monitoring program, 6 showed estrogenic activity higher than the quantification limit of the method, however, the values were below the trigger value 3.8 ng E2 eq L⁻¹. These data indicate that the long-term consumption of groundwater poses no risk to human health. The results indicate that the groundwater of Sao Paulo State is still protected from the occurrence of estrogenic activity.

Keywords: BLYES. Endocrine disrupting chemicals. Groundwater.

1 INTRODUÇÃO

Desde 1997, por meio do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente -

PNUMA, e da Organização Mundial de Saúde - OMS (IPCS, 2012), reforçado com as publicações de dois documentos em formato de relatórios em 2002 e 2012, há uma

¹ Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB - E-mails: (gquinaglia@sp.gov.br, ddfranca@sp.gov.br, ftoffoli@sp.gov.br, rmodesto@sp.gov.br, rkuno@sp.gov.br, misato@sp.gov.br)

² Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN - E-mail: (gisela.martini@usp.br)

crescente preocupação mundial quanto aos efeitos dos contaminantes químicos no meio ambiente que possuam a capacidade de afetar o sistema endócrino (hormonal) e interferir em processos de desenvolvimento e saúde dos seres humanos e animais. Os efeitos adversos vão desde incidências de cânceres de próstata, testicular e de mama até feminilização de peixes, anfíbios e pássaros (UNEP, 2016).

Estas substâncias são conhecidas por interferentes endócrinos. De acordo com Ghiselli e Jardim (2007) há outras denominações na literatura como perturbadores endócrinos, desreguladores endócrinos, estrogênios ambientais, sendo alguns termos menos recomendados como disruptivos ou disruptores endócrinos.

Se presentes em água potável, esta pode se tornar uma via de exposição direta aos seres humanos. Desta forma, o monitoramento da água para a presença de compostos estrogênicos é importante para garantir a qualidade da saúde pública e ambiental (Jonker *et al.*, 2015).

Os interferentes endócrinos pertencem a inúmeras classes de compostos como plastificantes (ex. Bisfenol-A); Organo Halogenados, como as Bifenilas Policloradas (BPC) e praguicidas como o Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT); contaminantes emergentes como os retardantes de chama (ex. PBDE); fármacos e produtos de higiene pessoal (PPCP) como, por exemplo, o triclosan; estrogênios naturais como os hormônios femininos 17 β -estradiol (E2), estrona (E1) e estriol (E3); hormônios sintéticos como etinilestradiol (EE2) presente na pílula anticoncepcional, entre outros.

Nesse contexto, a ocorrência dessas substâncias no meio ambiente e em organismos tem sido relatada em diversos estudos (Birchenough *et al.*, 2002; Colborn *et al.*, 1993; Guillette e Gunderson, 2001; IPCS, 2012; Jobling *et al.*, 1998; Sumpter, 2005; Snyder *et al.*, 2004; Kuch *et al.*, 2010).

O grande número de interferentes endócrinos identificados no ambiente é uma preocupação comum às agências nacionais e regionais em todo o mundo, dadas as dificuldades no monitoramento de tantos

compostos por meio de análises químicas (Lopez *et al.*, 2015). Dentre as outras ferramentas analíticas disponíveis para detecção de interferentes endócrinos no meio ambiente, o bioensaio que se baseia em leveduras transgênicas luminescentes, BLYES (*Bioluminescent Yeast Estrogen Screen*) é capaz de identificar a presença de atividade estrogênica, mostrando-se adequado para este estudo de qualidade das águas subterrâneas, pois confere muitas vantagens, como por exemplo: rápidas respostas, alta sensibilidade e baixo custo de execução (Anderson *et al.*, 1996; Routledge e Sumpter, 1997; Zacharewski, 1997; Snyder *et al.*, 2000).

O ensaio utiliza leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) que foram geneticamente modificadas, tendo a inserção de um gene para produção do receptor de estrogênio humano (hER) e um plasmídeo responsável pela produção de bioluminescência. Sendo assim, a levedura é capaz de emitir luz quando entra em contato com substâncias que se ligam ao receptor de hormônio, ou seja, quanto maior for a concentração de substâncias estrogênicas na amostra, maior será a emissão de luz pela levedura. Os resultados obtidos são expressos quantitativamente por meio da atividade estrogênica equivalente (ng E2 eq L⁻¹).

A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) é o órgão ambiental responsável pelo monitoramento da qualidade das águas no Estado e realiza o monitoramento da qualidade das águas subterrâneas de modo sistemático desde 1990, quando foi estruturada a rede estadual composta por poços tubulares utilizados para o abastecimento público de água (CETESB, 2016). Desde 2009, poços rasos (piezômetros com 40 m de profundidade média) avaliam a qualidade do aquífero freático, compondo uma rede de monitoramento integrado de qualidade e quantidade operada pela CETESB e DAEE.

Em 2011 a CETESB iniciou ainda uma investigação pioneira quanto à presença de atividade estrogênica em águas subterrâneas do Estado de São Paulo, utilizando o bioen-

saio *in vitro* BLYES.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Seleção dos locais de amostragem: os pontos utilizados foram os integrantes das duas redes de monitoramento da CETESB que são poços tubulares e piezômetros, selecionados de forma a abranger os diferentes aquíferos do Estado, em suas diversas áreas e forma de ocorrência. (CETESB, 2016).

2.1.1 Rede de Qualidade: os pontos de coleta da Rede de Qualidade são formados por poços tubulares utilizados para abastecimento público, com profundidades variando de 100 a 1.000 metros. Esses pontos estão localizados principalmente em área urbana, consolidada ou periférica. De acordo com a resolução CONAMA nº 302, de 20 de março de 2002, áreas urbanas consolidadas devem atender critérios, como por exemplo: definição legal pelo poder público, malha viária com canalização de águas pluviais, rede de abastecimento de água, rede de esgoto, distribuição de energia elétrica e iluminação pública, recolhimento de resíduos sólidos urbanos, tratamento de resíduos sólidos urbanos, e densidade demográfica superior a cinco mil habitantes por km². Esta rede é composta atualmente por 302 pontos monitorados no total.

2.1.2 Rede Integrada Qualidade-Quantidade: os pontos de coleta são poços rasos, com profundidade média de 40 metros, que avaliam a qualidade da água do aquífero livre mais próximo

da superfície. Esses pontos de coleta estão prioritariamente localizados em áreas rurais. Foram investigados neste trabalho 24 poços dessa rede.

2.1.3 Coleta de amostras: foram coletadas amostras (Figura 1) de águas subterrâneas no Estado de São Paulo semestralmente, em 78 locais no período de 2011 a 2015, o que corresponde a 27% do total de pontos que compõem as duas redes. Para a coleta das amostras da Rede Integrada de Qualidade e Quantidade, que utiliza poços com diâmetro de 100 mm, construídos exclusivamente para o monitoramento, utilizou-se bomba de baixa vazão, em conformidade com a NBR ABNT 15847:2010 – Amostragem de água subterrânea em poços de monitoramento – Métodos de purga, particularmente no que se refere à estabilização do nível d'água e do pH. As coletas dos poços da Rede de Qualidade, que são poços de abastecimento público, foram realizadas diretamente nas torneiras instaladas no cavalete com os poços em funcionamento, de modo a ocorrer a total renovação das águas contidas no poço. As amostras foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar de 1L, com folha de alumínio entre o frasco e a tampa, para evitar o contato da amostra com material plástico. As amostras foram mantidas sob refrigeração em 4°C ± 2°C (CETESB, 2011). As amostras foram submetidas ao processo de extração em até 7 dias após a coleta.

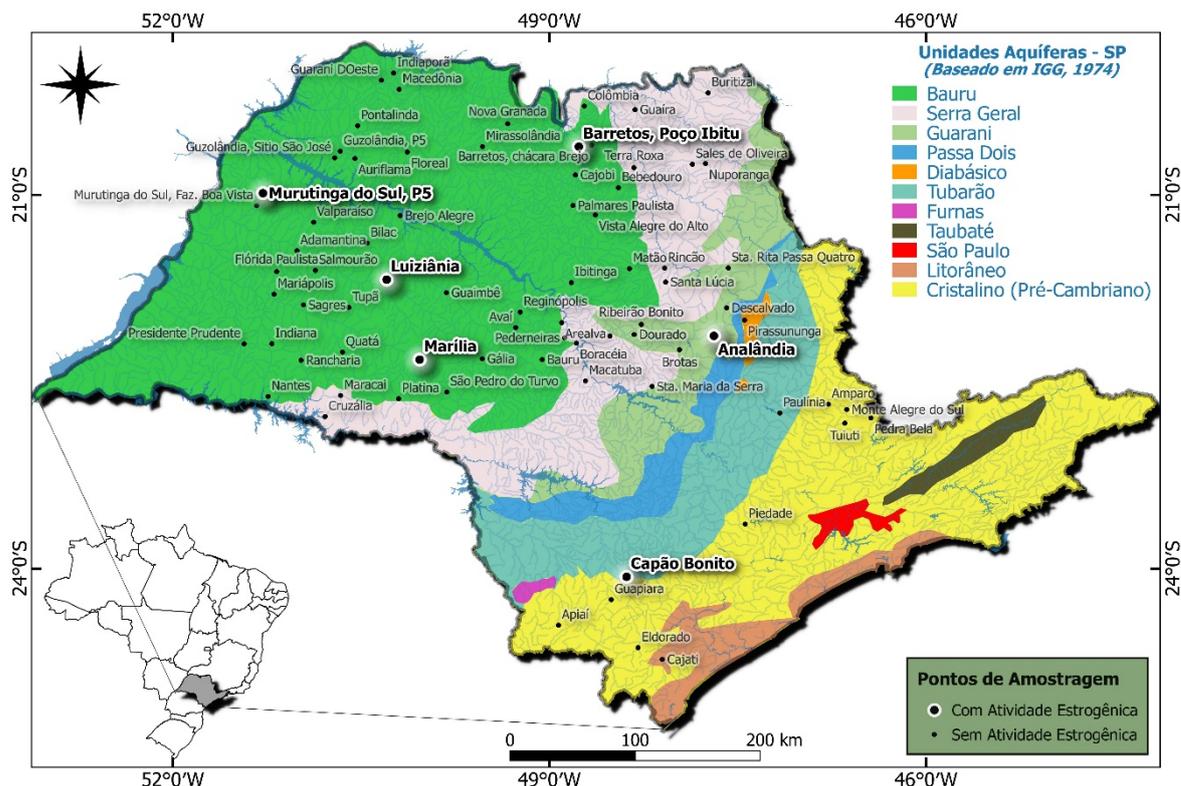


Figura 1 - Mapa com a localização dos pontos amostrados no período de 2011-2015
Figure 1 - Sampling sites in São Paulo State, 2011-2015

2.2 Extração da amostra: para cada 1L de amostra foi realizada extração em fase sólida utilizando discos Atlantic HLB - L (Horizon Technology, EUA). O solvente utilizado para condicionamento do disco e eluição da amostra foi metanol (grau resíduo). Após a eluição, os extratos foram secos em evaporador/concentrador a vácuo (Genevac Ez-2). Em seguida, todos os extratos foram redissolvidos em 1000 µL de dimetilsulfóxido (grau puríssimo PA/ACS) 4%.

2.3 Determinação da Atividade Estrogênica: Os extratos foram distribuídos em microplacas de 96 poços, então foram adicionados em cada poço 100 µL de cultura da levedura BLYES crescida durante a noite e agitados por 20 segundos. Em seguida, as microplacas foram incubadas por cerca de 20 horas em temperatura de 30°C. A medida da intensidade de luminescência foi realizada utilizando

um luminômetro da Perkin Elmer, modelo Victor X3. Para obtenção da curva dose-resposta foi utilizado como composto de referência do ensaio o 17β-estradiol (E2), com concentrações entre $2,5 \cdot 10^{-13}$ - $1,0 \cdot 10^{-7}$ mol L⁻¹ (Sanseverino *et al.*, 2005). O limite de quantificação do método é 0,1 ng E2 eq L⁻¹.

2.4 Quociente de perigo: para interpretar o significado da atividade estrogênica obtida nas amostras de água, os resultados devem ser comparados com limites máximos toleráveis em água para consumo humano. Assim, as concentrações de atividade estrogênica na água foram também expressas como quociente de perigo, sendo este a atividade estrogênica na água dividida por um valor de referência. Nesta pesquisa, foi adotado o valor de referência derivado do estudo realizado por Brand *et al.* (2013), de 3,8 ng E2 eq L⁻¹. Se o quociente de perigo for maior que 1,0 em água para consumo humano, a preocupação com a saúde não pode ser

dispensada, sendo necessária maior investigação.

número total de amostras analisadas, em porcentagem.

2.5 Frequência de quantificação: a frequência de quantificação foi determinada como sendo a razão entre o número total de amostras que apresentou atividade estrogênica e o

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os resultados do monitoramento realizado no período de 2011 a 2015 em 78 pontos amostrais são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Atividade estrogênica total (ng E2 eq L⁻¹) em amostras de água subterrânea de 2011 a 2015 (continua)
Table 1 - Total estrogenic activity (ng E2 eq L⁻¹) in groundwater samples. São Paulo State, 2011-2015

MUNICÍPIO	Aqüífero	2011		2012		2013		2014		2015	
		1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º
Adamantina	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Amparo	Pré-cambriano	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Analândia	Guarani	<0,10	<0,10	0,11	0,38	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Apiiaí	Pré-cambriano	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Arealva	Guarani	-	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Auriflama	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Avai	Bauru	-	-	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Barretos, chácara Brejo	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Barretos, Poço Ibitu	Serra Geral	<0,10	<0,10	0,19	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Bauru	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Bebedouro	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Bilac	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Bocaina	Guarani	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-
Boracéia	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Brejo Alegre	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Brotas	Guarani	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Buritizal	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Cajati	Pré-cambriano	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Cajobi	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Capão Bonito	Pré-cambriano	-	-	-	-	0,55	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Colômbia	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Cruzália	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Descalvado	Guarani	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Dourado	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Eldorado	Pré-cambriano	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-
Floreal	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-
Flórida Paulista	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Gália	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Guaimbê	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Guafrá	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Guapiara	Pré-cambriano	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Guarani D'Oeste	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Guzolândia, P5	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Guzolândia, Sitio São José	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Ibitinga	Bauru	-	-	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Indiana	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	<0,10	<0,10	<0,10
Indiaporã	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Luiziânia	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	0,25	<0,10	<0,10	<0,10	-	<0,10
Macatuba	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Macedônia	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-
Maracai	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Mariápolis	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Marília Faz. Sta. Emília	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	0,24	<0,10	-	<0,10	<0,10	<0,10
Matão	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Mirassolândia	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Monte Alegre do Sul	Pré-cambriano	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Murutinga do Sul, P5	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	0,16	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Murutinga do Sul, Faz. Boa Vista	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Nantes	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Nova Granada	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-
Nuporanga	Serra Geral	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-

Tabela 1 - Atividade estrogênica total (ng E2 eq L⁻¹) em amostras de água subterrânea de 2011 a 2015
Table 1 - Total estrogenic activity (ng E2 eq L⁻¹) in groundwater samples. São Paulo State, 2011-2015

MUNICÍPIO	Aquífero	(conclusão)									
		2011		2012		2013		2014		2015	
		1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º	1º	2º
Palmares Paulista	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-
Paulínia	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Pederneiras	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Pedra Bela	Pré-cambriano	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Piedade	Pré-cambriano	<0,10	<0,10	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Pirassununga	Tubarão	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Platina	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Pontalinda	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Presidente Prudente	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	<0,10
Quatá	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Rancharia	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Reginópolis	Bauru	-	-	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Ribeirão Bonito	Guarani	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Rincão	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Sagres	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Sales de Oliveira, GU0118P	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	-	<0,10	<0,10
Sales de Oliveira, DistIndGU0119P	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Salmourão	Serra Geral	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	-	-	-	-	-
Santa Lúcia	Guarani	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
São Pedro do Turvo	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	-	<0,10	<0,10	<0,10
Sta. Maria da Serra	Guarani	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Sta. Rita Passa Quatro	Guarani	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Terra Roxa	Serra Geral	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Tuiuti	Pré-cambriano	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Tupã	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Valparaíso	Bauru	-	-	-	-	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
Vista Alegre do Alto	Bauru	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10

- = não amostrado

Em somente 7,69% dos 78 pontos de coleta investigados (Tabela 1), foi identificada a presença de atividade estrogênica. Dentre um total de 531 amostras testadas, 7 amostras apresentaram atividade estrogênica, resultando numa frequência de quantificação (FQ) de 1,32%. No Brasil, até o presente momento, os autores desconhecem estudos que avaliaram a atividade estrogênica em amostras de água subterrânea, e poucos estudos foram realizados no mundo. Algumas pesquisas analisaram os contaminantes emergentes em amostras de água, no entanto esses estudos determinaram a concentração desses compostos e não as atividades estrogênicas encontradas nas amostras. Na França, em estudo bastante abrangente, Lopez *et al.* (2015) verificaram a presença de contaminantes emergentes em amostras de água subterrânea de quase 500 pontos distribuídos no país. Bisfenol A e outros hormônios foram detectados em mais de 1% das amostras em concentrações superiores ao limite de risco toxicológico. Já o estudo de

Vulliet e Cren-Olive (2011), em uma região da França, encontrou 11 tipos de esteroides em amostras de águas superficial e subterrânea. A estrona foi encontrada em 20% das amostras em concentrações geralmente entre 0,1 - 1 ng L⁻¹, apenas 3 estiveram acima de 1 ng L⁻¹. Nesse mesmo estudo foram detectados os hormônios sexuais etinilestradiol, 17 α -estradiol e 17 β -estradiol, cuja presença nas águas tanto superficiais como subterrâneas é relevante devido à sua elevada potência estrogênica.

Quando se analisa compostos estrogênicos em amostras de água, a literatura mostra uma detecção em quase 100% das amostras, no entanto, a simples presença desses não significa riscos para a biota e saúde humana. Por essa razão, a avaliação direta da atividade estrogênica nas amostras de água consiste em ferramenta importante, pois fornece informação sobre os potenciais efeitos da presença desses compostos na água. Além disso, o custo mais baixo do bioensaio em relação às análises químicas torna a

determinação da atividade estrogênica uma boa opção para programas de monitoramento.

O quociente de perigo (QP) foi calculado dividindo-se a atividade estrogênica da amostra pelo valor referência 3,8 ng E2 eq L⁻¹. Os resultados obtidos foram inferiores a 1, em geral um décimo do QP limite, mostrando que não há riscos para saúde humana para consumo destas águas (Tabela 2).

Na Holanda, Brand *et al.* (2013) determinaram o valor de QP de 0,13 usando o valor mais alto de atividade estrogênica encontrado em amostras de água superficial, valor esse semelhante ao maior QP calculado no presente estudo, 0,14 em Capão Bonito. No mesmo estudo da Holanda, amostras de água tratada obtidas de 2 poços de água subterrânea apresentaram QP para atividade estrogênica de 0,006 e 0,008.

Tabela 2 - Faixas de valores de quociente de perigo (QP) e níveis de atividade estrogênica. São Paulo, 2011 a 2015

Table 2 - Hazard Quotient (HQ) and estrogenic activity levels. São Paulo State, 2011-2015

Local	Rede	Atividade estrogênica (ng E2 eq L ⁻¹)	Quociente de perigo (QP)
Analândia	Integrada	0,11/0,38	0,03/0,10
Barretos, Poço Ibitu	Qualidade	0,19	0,05
Capão Bonito	Qualidade	0,55	0,14
Luiziânia	Integrada	0,25	0,07
Marília, Faz. Sta. Emília	Integrada	0,24	0,06
Murutinga do Sul, P5	Qualidade	0,16	0,04

Não foi possível associar a atividade estrogênica neste local à presença de outros contaminantes monitorados ou a uma fonte poluidora específica de forma a explicar a atividade observada. Apenas os poços da Rede de Qualidade (mais profundos) são utilizados para abastecimento público, enquanto os poços da Rede Integrada (mais superficiais) são utilizados apenas para monitoramento do nível e da qualidade dos aquíferos. Entretanto os baixos quocientes de perigo calculados demonstram que não há risco no consumo humano destas águas, especialmente pelo fato desta atividade não ter sido detectada novamente nos mesmos locais em diversas campanhas posteriores de coleta.

4 CONCLUSÃO

O bioensaio BLYES mostrou-se uma excelente ferramenta para triagem (*screening*) no programa de monitoramento de águas

subterrâneas do Estado de São Paulo, pois confere respostas rápidas, sensíveis e de baixo custo comparado às análises químicas. Para os próximos programas da rede de monitoramento das águas subterrâneas do Estado de São Paulo, a CETESB adotará os seguintes critérios:

- Se o valor de atividade estrogênica for superior a 3,8 ng E2 eq L⁻¹ no mesmo ponto de coleta por três anos consecutivos, recomenda-se a caracterização química do ponto de coleta para investigação da natureza dos interferentes endócrinos;
- Se o valor de atividade estrogênica for inferior a 3,8 ng E2 eq L⁻¹ no mesmo ponto de coleta por três anos consecutivos, indica que há baixa prioridade e recomendam-se que novas reavaliações sejam realizadas

por um período superior a três anos.

- c) Os resultados obtidos neste trabalho no período de cinco anos (2011 – 2015) indicam que as águas subterrâneas do Estado de São Paulo estão protegidas da ocorrência de atividade estrogênica nos pontos de coleta analisados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Melanie L. Eldridge e Gary Saylor da Universidade do Tennessee, e Gisela A. Umbuzeiro, Wilson F. Jardim e Cassiana C. Montagner da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) pela significativa contribuição para a execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, M. J. ; MILLER, M. R.; HINTON, D. E. In vitro modulation of 17- β estradiol-induced vitellogenin synthesis: Effects of cytochrome P4501A1 inducing compounds on rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) liver cells. **Aquatic Toxicology**, v. 34, p. 327 – 350, 1996.

BIRCHENOUGH, A. C.; BARNES, N. ; EVANS, S. M.; HINZ, H.; KRÖNKE, I.; MOSS, C. A review and assessment of tributyltin contamination in the North Sea, based on surveys of butyltin tissue burdens and imposex/intersex in four species of neogastropods. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, p. 534–543, 2002.

BRAND, W.; JONGH, C. M.; VAN DER LINDEN, S. C.; MENNES, W.; PUIJKER, L. M.; VAN LEEUWEN, C. J.; VAN WEZEL, A. P.; SCHRIKS, M.; HERINGA, M. B. Trigger values for investigation of hormonal activity in drinking water and its sources using CALUX bioassays. **Environment International**, v. 55, p. 109-118, 2013.

CETESB. **Relatório de qualidade das águas subterrâneas no Estado de São Paulo 2013-2015**. São Paulo, 2016. 311 p. (Série Relatórios). Disponível em: <http://aguassubterraneas.cetesb.sp.gov.br/publicacoes-e-relatorios/>. Acesso em: jul. 2016.

CETESB, ANA. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. Organizadores: Brandão, C. J.; Botelho, M. J. C.; Sato, M. I. Z.; Lamparelli, M.C. São Paulo: CETESB, Brasília, DF: ANA. 2011. 325p.

COLBORN, T., VOM SAAL, F.S., SOTO, M. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. **Environmental Health Perspectives**. v. 101, p.378–384, 1993.

GHISELLI, G.; JARDIM W.. Interferentes Endócrinos no Ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p.695-706, 2007.

GUILLETTE, L. J.; GUNDERSON, M. P. Review alterations in development of reproductive and endocrine systems of wildlife populations exposed to endocrine-disrupting contaminants. **Reproduction**, v. 122, p. 857–864, 2001.

IPCS – International Programme on Chemical Safety, **Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors**, WHO – World Health Organization, 2012.

JOBLING, S.; NOLAN, M.; TYLER, C. R.; BRIGHTY, G.; SUMPTER, J. P. Widespread sexual disruption in wild fish, **Environmental Science & Technology**, v. 32, p. 2498–2506, 1998.

JONKER, W.; LAMOREE, M. H.; HOUTMAN, C. J.; HAMERS, T.; SOMSEN, G. W.; KOOL, J. Rapid activity-directed screening of estrogens by parallel coupling of liquid chromatography with a functional gene reporter assay and mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1406, p. 165-174, 2015.

KUCH, B., KERN, F., METZGER, J. W., VON DER TRENCK, K. T. Effect-related monitoring: estrogen-like substances in groundwater, **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17, p. 250-260, 2010.

LOPEZ, B.; OLLIVIER, P.; TOGOLA, A.; BARAN, N.; GHESTEM, J. P. Screening of French groundwater for regulated and emerging contaminants, **Science of the Total Environment**, v. 518–519, p. 562–573, 2015.

Águas Subterrâneas (2017) 31(1):79-87.

- NBR – **ABNT 15847:2010** Amostragem de água subterrânea em poços de monitoramento – métodos de purga. 2010.
- ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J. P., Structural features of alkylphenolic chemicals associated with estrogenic activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 3280 – 3288, 1997.
- SANSEVERINO, J.; GUPTA, R. K.; LAYTON, A. C.; PATTERSON, S. S.; RIPP, S. A.; SAIDAK, L.; SIMPSON, M. L.; SCHULTS, T. W.; SAYLER, G. S. Use of *Saccharomyces cerevisiae* BLYES expressing bacterial bioluminescence for rapid, sensitive detection of estrogenic compounds, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 8, p. 4455–4460, 2005.
- SNYDER, S. A.; SNYDER, E.; VILLENEUVE, D.; VILLALOBROS, A.; BLANKENSHIP, A.; GIESY, J. Instrumental and bioanalytical measures of endocrine disruptors in water. In: KEITH, L. H.; JONES-LEPP, T. L.; NEEDHAM L. L. (Eds.) **Analysis of Environmental Endocrine Disruptors**. Washington, DC: American Chemical Society, pp. 73 – 95. 2000.
- SNYDER, S. A.; WESTERHOFF, W.; YOON, Y.; SEDLAK, D. L. Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine Disruptors in Water: Implications for the Water Industry, **Environmental Engineering Science**, v. 20, n.5, p. 449-469, 2004.
- SUMPTER, J.P. Endocrine disruptors in the aquatic environment: an overview, **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 33, p. 9–16, 2005.
- UNEP– United Nations Environment Programme. Disponível em: <<http://www.unep.org/chemicalsandwaste/UNEPsWork/EndocrineDisruptingChemicals/GeneralReports/tabid/130228/Default.aspx>> Acesso em 08/03/2016.
- VULLIET, E., CREN-OLIVE, C. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 2929–2934, 2011.
- ZACHAREWSKI, T., *In vitro* bioassays for assessing estrogenic substances. **Environmental Science & Technology**, v. 31, p. 613 – 623, 1997.