

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ESGOTOS: AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE ESTROGÊNIOS

Fernanda Dittmar Cardoso ¹
Alessandra Honjo Ide ¹
Mauricius Marques dos Santos ¹
*Júlio César Rodrigues de Azevedo ^{1,2}

ANAEROBIC WASTEWATER TREATMENT: EVALUATION OF
ESTROGENS REMOVAL EFFICIENCY

Recibido el 10 de marzo de 2015; Aceptado el 18 de abril de 2016

Abstract

The release of domestic sewage, treated or not, in aquatic ecosystems, and urban and agricultural runoff causes changes in the characteristics of river basins due to the incorporation of different substances. The emerging contaminants, specifically endocrine disruptors, have attracted the attention of the scientific community due to the problems that it can cause to biota, when released into the environment. In the first sampling campaign was found increased concentration in the influent of estrogens in relation to the effluent. In the second collection, it was verified that the system employed in the Wastewater Treatment Plant, presented 99.0% efficiency in removal of 17 β -estradiol and 77.8% of 17 α -ethinylestradiol from the liquid phase, which may be associated with sludge return, and their sorption. Despite the removal, we observed that the process was not effective for the removal of 17 α -ethinylestradiol, as this hormone showed to be more resistant to degradation / adsorption, which can be proven by concentration around 1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ in the effluent.

Keywords: anaerobic system, emerging contaminants, estrogens, female sex hormones, Brasil.

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (PPGCTA), Laboratório de Estudos Avançados em Química Ambiental (LEAQUA), Brasil.

² Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental (PPGERHA), Brasil.

*Autor correspondente: Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Rua Deputado Heitor de Alencar Furtado, 4900, CEP 81280-340, Curitiba – PR, Brasil. Email: jcrazevedo@hotmail.com

Resumo

O lançamento de efluentes domésticos, tratados ou não, em ecossistemas aquáticos, e o escoamento superficial urbano e agrícola, têm incorporado diferentes substâncias aos ambientes, em especial os chamados contaminantes emergentes. Alguns destes poluentes, os disruptores endócrinos, devem ser monitorados devido aos problemas que podem causar à biota, como disfunções na reprodução. Considerando o impacto de estrogênios oriundos de esgotos na vida animal, inclusive humana, foi realizado um estudo da eficiência de remoção destes compostos por uma estação de tratamento anaeróbio de esgotos. Em três campanhas amostrais, foram coletadas amostras líquidas de quatro pontos da estação de tratamento (afluente; antes do reator anaeróbio; após o reator anaeróbio; na saída da estação) e uma amostra sólida do lodo após o tratamento com calagem. Os compostos 17 β -estradiol, estrona e 17 α -etinilestradiol foram concentrados e extraídos por cartuchos de extração em fase sólida, e identificados e quantificados por HPLC. Na primeira coleta, foi constatado incremento na concentração dos estrogênios no afluente em relação ao efluente. Já na segunda coleta, o sistema empregado apresentou 99.0% de eficiência na remoção de 17 β -estradiol e 77.8% de 17 α -etinilestradiol da fase líquida. Na terceira coleta, somente o 17 α -etinilestradiol foi detectado nas amostras, com um incremento na sua concentração nos pontos subsequentes ao reator, provavelmente devido à dessorção deste hormônio pelo lodo. Apesar da remoção verificada na segunda coleta, foi concluído que o processo não foi eficiente para a remoção do 17 α -etinilestradiol, pois este hormônio apresentou-se mais resistente à degradação/adsorção, fato comprovado pela concentração em torno de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ no efluente.

Palavras-chave: sistema anaeróbico, contaminantes emergentes, estrogênios, hormônios sexuais femininos, Brasil

Introdução

Novos problemas ambientais têm surgido com o aumento populacional que induziu ao crescimento desordenado das cidades. Este aumento também incentivou a produção industrial de novas substâncias químicas, as quais contaminam o meio ambiente, principalmente pela falta de planejamento das cidades, com populações ocupando locais irregulares e, conseqüentemente, sem as condições mínimas de saneamento. Devido a esta desordem, efluentes domésticos são despejados diretamente nos corpos de água ou tratados de forma inadequada ou ineficiente (Ghiselli, 2006). Outro aspecto que também deve ser considerado é o fato de que os métodos de tratamento de efluentes não conseguem acompanhar a produção de novas substâncias, sendo os rejeitos lançados aos ambientes aquáticos contendo ainda grande parte de contaminantes (Ghiselli, 2006; Ratola *et al.*, 2012; Verlicchi *et al.*, 2012; Narumiya *et al.*, 2013).

Também deve-se considerar que a evolução dos equipamentos analíticos permitiu melhorar a sensibilidade e detecção destes micropoluentes químicos, sendo alguns destes compostos denominados de contaminantes emergentes, pela sua identificação recente em matrizes ambientais e devido aos efeitos adversos que podem causar à biota, mesmo em baixas concentrações (ng.L^{-1} a $\mu\text{g.L}^{-1}$) (López *et al.*, 2002; Ghiselli, Jardim, 2007; Stuart *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2013; Cruz-Esteban *et al.*, 2014). Por conta disto, poluentes emergentes no meio ambiente

têm sido uma das principais preocupações das organizações comprometidas com a saúde pública e do meio ambiente, como a Organização Mundial de Saúde (WHO), Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e a Comissão Europeia.

Dentro desta classe de contaminantes, os disruptores ou interferentes endócrinos merecem destaque. Segundo a USEPA, “um interferente endócrino é um agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais que são responsáveis pela manutenção da homeostase, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento”, sendo que estas substâncias podem imitar, antagonizar, ou perturbar os hormônios endógenos (Pinto *et al.*, 2008; Salomão *et al.*, 2012; Stuart *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2013). Dentre os vários compostos desreguladores endócrinos, se destacam os hormônios sexuais femininos (HSFs), por apresentarem a melhor conformação reconhecida pelos receptores endócrinos, provocando efeitos adversos nos seres vivos (Reis Filho *et al.*, 2006; Bila, Dezotti, 2007; Verbinnen *et al.*, 2009; Verbinnen *et al.*, 2010).

Os estrogênios, uma classe de hormônios femininos, são muito utilizados em anticoncepcionais, na reposição hormonal, no tratamento de outros distúrbios ginecológicos e no tratamento de alguns carcinomas. Dentre os principais estrogênios, pelo seu consumo e liberação, têm-se o 17 β -estradiol, produzido natural e sinteticamente, a estrona, de fonte exclusivamente natural, e o 17 α -etinilestradiol, produzido a partir do 17 β -estradiol, sendo o estrogênio sintético mais utilizado na formulação de anticoncepcionais (Reis Filho *et al.*, 2006; Raimundo, 2007; Sodr e *et al.*, 2007).

Os HSFs foram introduzidos no mercado sem a preocupação de causar impactos ambientais, tendo como destino final os corpos d’água, por meio de várias rotas. Os hormônios são produzidos por animais ou podem ser ingeridos por meio de medicamentos e, no caso de humanos, após a excreção, estes compostos são enviados à rede de esgotos. Os esgotos ao serem lançados nos corpos d’água, tanto *in natura* quanto após um tratamento convencional (físico-químico, como decantação, e biológico, como lodo-ativado ou reator anaeróbio), podem retornar aos domicílios, caso estes ambientes aquáticos sejam mananciais e tenham um tratamento pouco eficiente da água coletada e distribuída (Lopes *et al.*, 2008). O principal problema da introdução destes compostos nos ecossistemas é a grande gama de efeitos nocivos que os hormônios podem causar, mesmo em baixas concentrações (ng.L⁻¹) (Ghiselli, Jardim, 2007; Lopes, 2007; Raimundo, 2007).

Vários destes efeitos já foram evidenciados, como a interferência na capacidade de reprodução das espécies e no desenvolvimento da prole, diminuindo a eclosão de ovos de pássaros, peixes e tartarugas, feminizando peixes machos, provocando o hermafroditismo em peixes, r pteis, pássaros e mamíferos e promovendo alterações no sistema imunológico de mamíferos

marinhos. Em humanos, a exposição de mulheres a agentes estrogênicos foi um fator de risco considerável para o desenvolvimento de câncer de mama e útero, além de interferir no crescimento mamário, na lactação e predispor ao desenvolvimento de doenças uterinas como fibroses e endometriose. Em homens, a ação dos estrógenos pode resultar em ginecomastia (crescimento das mamas), diminuição da libido, impotência, diminuição dos níveis de hormônio masculino no sangue, diminuição na contagem de espermatozoides, testículos não descendidos (criptorquidia), e pênis sumariamente pequenos (Mclachlan *et al.*, 2006; Reis Filho *et al.*, 2006; Ghiselli, Jardim, 2007; Christiansen *et al.*, 2002; Bila, Dezotti, 2007; Machado, 2014).

Os hormônios estrogênicos podem ser liberados para o ambiente por meio da excreção de até 40% das doses ministradas de hormônios sintéticos, além da excreção natural de humanos e animais ($\pm 10\mu\text{g}$ a $100\mu\text{g}$ de estradiol, etinilestradiol, estrona e estriol, por mulher/dia) (Reis Filho *et al.*, 2006; Raimundo, 2007). Estas substâncias são excretadas conjugadas ao ácido glucurônico (17β -estradiol) ou ao sulfato (estrona), encontrando-se na forma inativa, ou seja, incapazes de se ligar aos receptores específicos. Apesar disto, os compostos são biotransformados pela bactéria *Escherichia coli*, presentes nas áreas de despejo de efluentes, e convertidos à sua forma ativa, por meio da quebra da conjugação (D'Ascenzo *et al.*, 2003; Lopes *et al.*, 2008; Campani *et al.*, 2010)

No Brasil, já foram encontradas concentrações consideráveis (de 1.5 a 2600 ng.L^{-1}) destes interferentes endócrinos no afluente e no efluente de Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs), em água superficial e potável (Ghiselli, 2006; Lopes, 2007; Machado *et al.*, 2014). Alguns estrogênios apresentam natureza hidrofóbica, o que induz a adsorção dos compostos no material particulado em suspensão e na matéria orgânica presente. Portanto, as técnicas de separação mecânica, como a decantação, têm a capacidade de retirar os compostos da fase aquosa e, conseqüentemente, enriquecerem o lodo de esgoto com HSFs. Em ambientes naturais, portanto, é promovida a adsorção nos sedimentos, que acabam se tornando reservatórios de estrogênios com capacidade de provocar a sua bioacumulação em seres vivos (Khanal *et al.*, 2006; Raimundo, 2007; Sodré *et al.*, 2007).

Em geral, ETEs utilizam tratamentos convencionais que não foram projetados para remover moléculas complexas, como os HSFs, sendo os seus efluentes lançados aos corpos d'água com uma quantidade preocupante de contaminantes (Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Sacher *et al.*, 2001; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2009; Ratola *et al.*, 2012; Verlicchi *et al.*, 2012; Narumiya *et al.*, 2013). Alguns tratamentos terciários têm se mostrado bastante eficientes na remoção dos compostos orgânicos em questão, como processos oxidativos avançados ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, fotocatalise com TiO_2 , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, e a ozonização), que apresentam taxas de remoção de mais de 97% dessas substâncias em ETEs, a cloração, filtração em carvão ativado (>99%), processos com membrana de nanofiltração e osmose reversa (Bila; Dezotti, 2007). Apesar de promissores, estes

tratamentos são dispendiosos para as empresas de saneamento, não sendo utilizados em grande escala por conta dos custos de instalação e manutenção. Portanto, pesquisas têm sido conduzidas no sentido de monitorar a presença desses compostos no afluente e no efluente de estações de tratamento de esgoto a fim de avaliar a eficiência de remoção dos tratamentos amplamente empregados (Ternes *et al.*, 1999; Servos *et al.*, 2005).

Considerando que hormônios são moléculas orgânicas e, portanto, passíveis de serem degradadas pela microbiota, a biodegradação se constitui num importante mecanismo de remoção destes compostos de águas residuárias (Arnon *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2008). Segundo Direito (2005), a degradação de compostos orgânicos por microorganismos em meio aeróbico é bem eficiente comparado a outros processos, como químicos, devido à presença de enzimas monooxigenases e dioxigenases. Estas clivam o anel aromático do estrogênio, fazendo com seja mais facilmente biodegradado. Ternes *et al.* (1999) evidenciaram taxas de remoção com sistema aeróbico de 83% para a estrona, 99.9% para o 17 β -estradiol e 78% para o estrogênio sintético 17 α -etinilestradiol. Em relação ao sistema anaeróbico, estudos têm mostrado menor eficiência na remoção de disruptores endócrinos, comparado aos sistemas aeróbicos. Devido à falta de oxigênio, a biodegradação anaeróbica ocorre muito mais lentamente do que em sistemas aeróbicos. O oxigênio é o aceptor final de elétrons preferencial dos microrganismos, devido ao maior ganho de energia nas reações aeróbicas; ou seja, na falta deste elemento, são utilizados outros aceptores, que não promovem um ganho de energia muito elevado para o microrganismo (Silva, 2002; Servos *et al.*, 2005; Lopes *et al.*, 2008; Khanal *et al.*, 2006).

O tratamento biológico anaeróbico (UASB - *upflow anaerobic sludge blanket reactors*/Ralf - Reator Anaeróbico de Manto de Lodo e Fluxo Ascendente) é muito comum no Brasil devido ao clima quente (Chernicharo, 2006), e algumas pesquisas já mostraram que este tipo de tratamento é ineficiente para a remoção de alguns contaminantes emergentes (Brandt *et al.*, 2013). Contudo, são escassos os estudos com estrogênios, se fazendo necessária uma abordagem em relação à sua remoção por tratamento anaeróbico. Assim, o principal objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência de remoção dos estrogênios 17 β -estradiol, estrona e 17 α -etinilestradiol do esgoto bruto pelo sistema de biodegradação anaeróbia (Ralf) adotado numa estação de tratamento de esgotos do Estado do Paraná, Brasil.

Materiais e métodos

Este estudo foi realizado numa Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) do Estado do Paraná (Brasil), onde é empregado tratamento físico-químico com gradeamento, desarenador e caixa de gordura, seguido de um tratamento biológico do tipo Ralf, e flotor subsequente. O flotor na época não estava em operação por problemas técnicos. A Era realizado retorno do lodo do ponto D para o ponto A (Figura 2),

sendo que no momento da terceira coleta estava sendo realizado este retorno, alterando as características da amostra de afluente nesta coleta. O clarificado (efluente) era despejado no rio próximo da ETE. Foram analisados os hormônios sexuais femininos 17β -estradiol (Figura 1A), estrona (Figura 1B) e 17α -etinilestradiol (Figura 1C). Após o tratamento, o efluente é lançado em um rio da Região Metropolitana de Curitiba, pertencente à Bacia do Alto Iguaçu, que se trata de importante manancial hídrico.

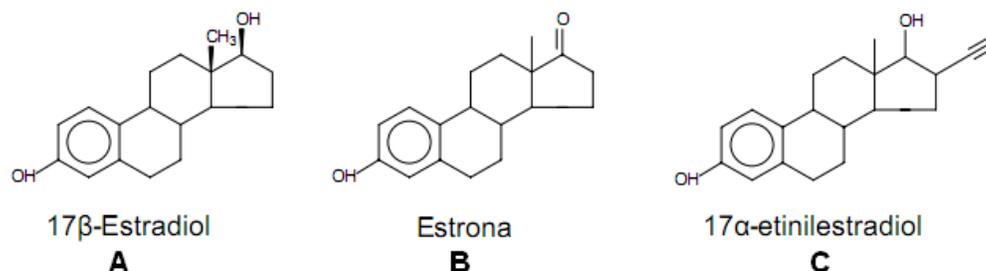


Figura 1. Estruturas químicas dos estrogênios. A) 17β -Estradiol B) Estrona C) 17α -Etinilestradiol.

Nesta ETE foram realizadas três amostragens, nos meses de janeiro, abril e junho de 2011, com a finalidade de avaliar o efeito do período de maior e o de menor precipitação, que podem provocar a diluição do afluente e a alteração do tempo de detenção hidráulico (TDH) no sistema. Foram realizadas amostragens em 4 pontos da estação de tratamento, indicados na Figura 2, da seguinte forma: i) no ponto A (Afluente) foram coletadas três amostras líquidas com uma hora de diferença entre elas; ii) no ponto B (Entrada do Ralf) foram coletadas três amostras líquidas, considerando o TDH do ponto A para o ponto B, que foi de 30min. As amostragens no ponto B foram realizadas também no intervalo de uma hora entre cada amostragem; iii) no ponto D (Saída do Ralf), foram coletadas três amostras, considerando o TDH do ponto B para o ponto D (TDH de 7 horas), com uma hora de diferença entre elas; iv) no ponto E, efluente do processo, a amostragem seguiu a forma como foi feita no ponto D, três amostras com uma hora entre elas e após o TDH de 30 minutos. Entre os pontos A e B (Figura 2), devido os compostos analisados serem hidrofóbicos (Khanal *et al.*, 2006) foi avaliada a remoção.

Ao todo foram coletadas doze amostras líquidas. A amostragem do lodo proveniente do Ralf e do flotador foi realizada no ponto F (após o filtro-prensa), somente na segunda coleta. As amostras líquidas foram armazenadas em garrafas de vidro âmbar, previamente descontaminadas. As amostras foram preservadas a 4 °C. Em campo, foi medido o potencial redox por meio de sonda multiparâmetros marca Hanna modelo HI 9828/4.

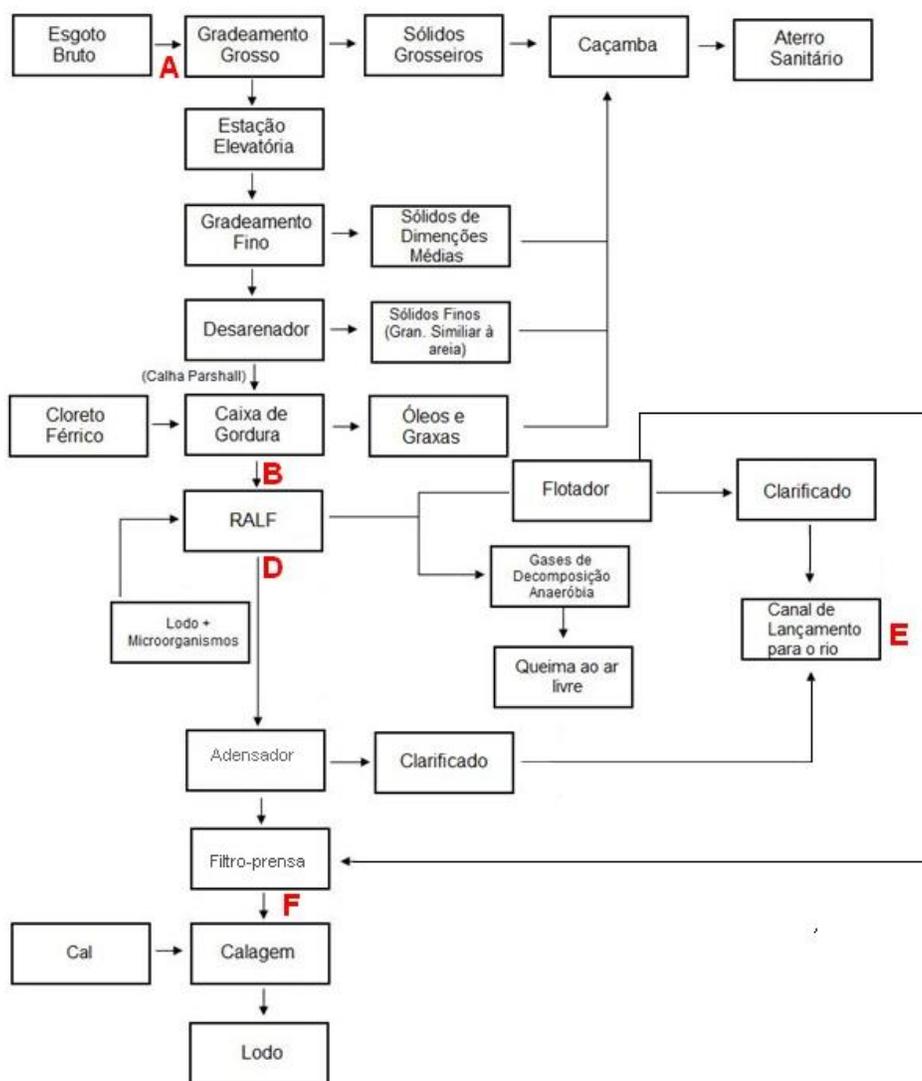


Figura 2. Etapas do sistema de tratamento da ETE Atuba Sul. Pontos de coleta estão indicados por letras (A, B, D, E e F).

Para a análise dos estrogênios, foram utilizados solventes orgânicos de grau UV/HPLC e os padrões analíticos da Sigma Aldrich. Para extração dos hormônios das amostras líquidas, primeiramente o pH foi reduzido a 3.0 com HCl grau P.A., para obter um aumento da afinidade dos compostos pelo cartucho de extração em fase sólida. Após correção do pH, um litro das amostras de esgoto foram filtradas em membrana de 0.45 µm de porosidade, e em seguida extraídas em cartuchos de extração em fase sólida (6 mL, 1 g de C18, Agilent Technologies),

previamente condicionados com 6 mL de metanol e 5 mL de água ultra pura, com vazão de 8 a 10mL por minuto, conforme descrito por Machado (2010). O conteúdo de estrogênios presente no cartucho foi eluído com 10 mL de acetonitrila grau HPLC pelo cartucho, seco em atmosfera de nitrogênio. O solvente foi rotaevaporado a 70°C, e o conteúdo rediluído em 1 mL de metanol, com auxílio de ultrassom para completa solubilização. Desse modo foi obtido um extrato purificado e concentrado 1000 vezes.

A extração de estrogênios da amostra de lodo seguiu a metodologia descrita em López *et al.* (2002). Uma quantidade de 20 g da amostra liofilizada, do lodo de reator anaeróbio da segunda coleta, foi submetida a duas extrações através da ultrasonicação por 5 minutos, adicionando 20 mL da mistura de solventes hexano e acetona (1:1). Os extratos foram filtrados em papel filtro (porosidade: 14 µm), misturados e rotaevaporados. Posteriormente, houve a solubilização dos compostos em 2 mL de metanol:acetona (1:1) e 18 mL de água ultrapura, em ultrassom. A amostra foi passada em cartucho de extração em fase sólida, previamente condicionados, novamente eluídos e rotaevaporados. Por fim, foi feita a dissolução em 0.5 mL de metanol, com auxílio de um ultrassom.

Para a detecção e quantificação dos estrogênios, foi empregada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O volume de injeção foi de 20 µL e a coluna cromatográfica utilizada foi uma ODS C18 (octadecilsilano), fase móvel isocrática de acetonitrila e água na proporção de 50%. A análise foi realizada no equipamento Agilent, bomba quaternária de 600 bar, equipado com uma coluna de octadecilsilano (Eclipse Plus C18) com 5 µm de diâmetro de poro, 250 mm de comprimento e 4.6 mm de diâmetro interno. Utilizou-se detector com arranjo de fotodiodos.

Para o controle analítico, foram utilizados brancos de extração a cada bateria de 5 amostras, e pela injeção cromatográfica de um padrão intermediário da curva analítica, a fim de verificar se o tempo de retenção dos compostos permanecia constante.

A metodologia empregada para validação do método analítico foi baseada nas Resolução 899/03 da ANVISA (2016) e no DOQ-CGCRE-008/11 do INMETRO (2016). Utilizou-se a padronização externa para a quantificação dos compostos de interesse por cromatografia. Para a linearidade, foi considerada a resolução 899/03 da ANVISA (2016), que recomenda como critério mínimo um coeficiente de correlação igual a 0,99. A sensibilidade foi expressa pela inclinação da curva analítica de regressão linear e determinada simultaneamente aos testes de linearidade. A seletividade foi avaliada por meio da comparação do cromatograma da amostra isenta de padrão e do cromatograma obtido pela injeção de uma mistura dos padrões puros para verificar a presença de picos interferentes. Os limites de detecção e quantificação foram obtidos pelo método estatístico recomendado pela ANVISA. A precisão foi avaliada em termos

de repetibilidade por meio do cálculo da estimativa do desvio padrão absoluto e do coeficiente de variação para um número de seis repetições. A eficiência da extração em fase sólida foi avaliada por meio do teste de recuperação estimado pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas dos compostos de interesse. A Tabela 1 apresenta o valores dos limites de detecção e quantificação obtidos e a sensibilidade do método.

Tabela 1. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) determinados nas amostras de água e LD no sedimento. Coeficiente de correlação da curva analítica e sensibilidade do método

Composto	Limites do método analítico		LD _{lodo} ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Coeficiente de correlação	Sensibilidade
	LD _{água} ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	LQ _{água} ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)			
17 β -estradiol	25.4	84.8	2.5	0.9984	1.998
17 α -etinilestradiol	48.2	160.7	3.0	0.9998	1.888
estrona	26.7	89.0	2.5	0.9993	1.895

Resultados e discussão

Na Figura 3A consta a variação da concentração dos hormônios na primeira coleta, onde foi verificado um aumento na concentração do 17 α -etinilestradiol ao longo do processo da estação (de não-detectável a $1.20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Considerando seu alto coeficiente de partição octanol-água (3.67 – 4.15), o estrogênio poderia estar adsorvido no lodo do reator, e o seu incremento, na saída do reator Ralf, pode estar relacionado a liberação deste hormônio adsorvido no lodo.

A concentração do 17 α -etinilestradiol no efluente final caiu em torno de 35% em relação à saída do Ralf (Figura 3A), fato que possivelmente esteja relacionado à sua adsorção nos flocos do flotador, o qual antecede a saída do efluente final. Esta adsorção nos flocos também justifica o decaimento da quantidade de estrona da saída do reator para o efluente final.

Ainda nesta primeira campanha, o 17 β -estradiol apresentou aumento da sua concentração no efluente, provavelmente em decorrência da liberação dos hormônios adsorvidos no lodo, como ocorreu com o 17 α -etinilestradiol. A variação do tempo de detenção no sistema devido à chuva durante a coleta (período de chuva: TDH 6.5 a 7h ; período seco: TDH 10 a 11h), também pode ter reduzido a eficiência do sistema. Estudos realizados com resíduos hospitalares, como os ftalatos, avaliados através da degradação por reatores UASB e reator de lodos ativados (Paiva, 2011), operados com baixo TDH, não se mostraram eficientes na sua remoção, sendo recomendável um aumento no TDH. Apesar de serem sistemas e disruptores diferentes, o mesmo processo pode ter ocorrido neste estudo com o aumento da vazão e, conseqüentemente, diminuição do TDH após as chuvas que ocorreram na coleta 1.

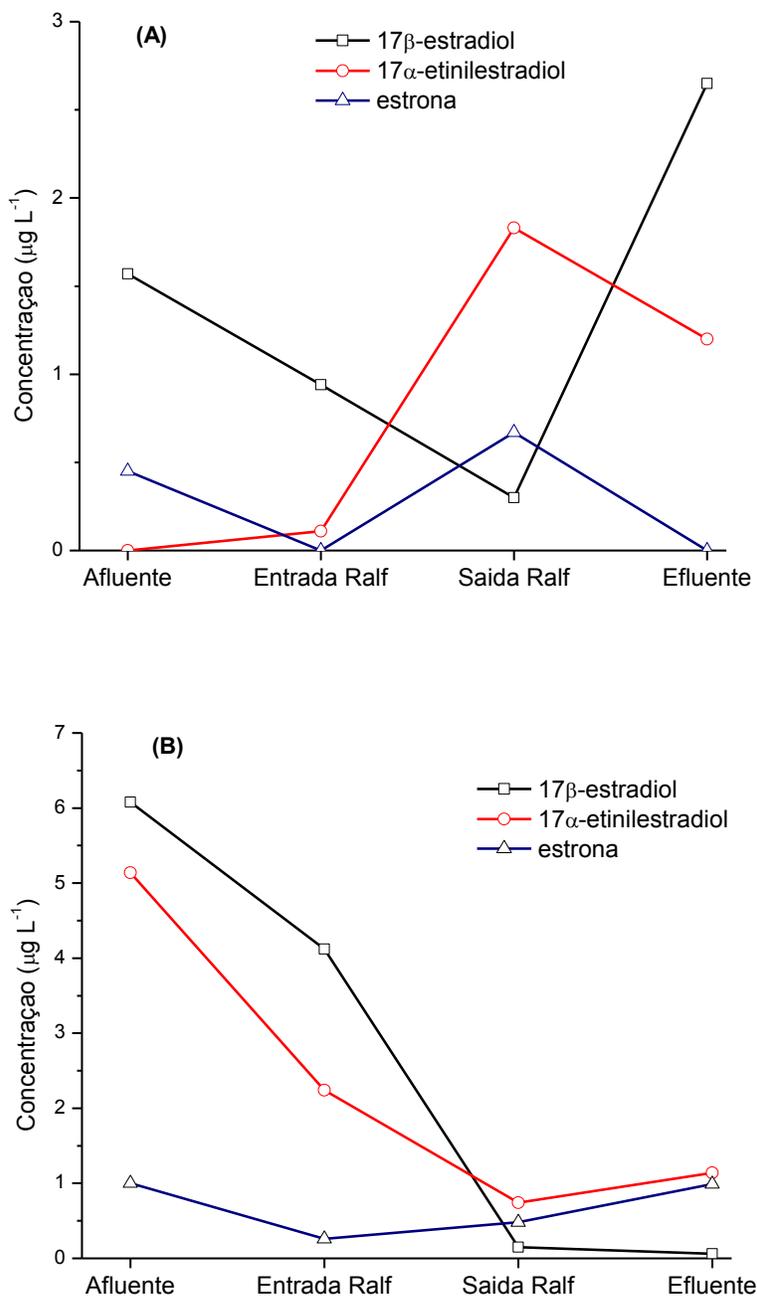


Figura 3. Variação da concentração dos estrogênios, na primeira (A) e segunda (B) coleta, realizada na estação de tratamento de esgotos.

Há ainda a hipótese de conversão, ao longo do processo, dos hormônios na sua forma inativa (no afluente) para a forma ativa (no efluente), oriunda da quebra da conjugação destes compostos com os glucoranídeos e sulfatos pelas bactérias presentes no esgoto (Lopes *et al.*, 2008). A carga de choque também pode alterar a eficiência do sistema, como foi observado por Freire *et al.* (2008), ao avaliar a eficiência de remoção de pentaclorofenol através de um reator anaeróbio de leito fluidizado.

Foi observado que a concentração de 17β -estradiol aumentou e a da estrona diminuiu da saída do Ralf até o efluente final nesta primeira amostragem, comportamento também verificado em outros trabalhos (Czajka e Londry, 2006; Lopes *et al.*, 2008), em relação à estes hormônios considerando que o primeiro é a forma reduzida do segundo e o meio estava mais redutor no efluente ($E_h = -156$ mV) em relação ao afluente ($E_h = +50.5$ mV).

Na Figura 3B consta a variação da concentração de HSFs na segunda coleta, sendo possível observar um aumento na concentração dos compostos no afluente, em relação a coleta 1. No momento da coleta do afluente, estava sendo realizado o retorno do lodo para esta etapa, e considerando que o lodo apresenta valores elevados de hormônios sorvidos, as altas concentrações no afluente são justificáveis. Nesta coleta foi observada uma remoção de 99% e 78%, respectivamente, dos hormônios 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol da fase aquosa. Já a concentração de estrona manteve-se estável, ou seja, não houve remoção. A remoção dos hormônios da fase aquosa pode se dar majoritariamente por três vias: volatilização, degradação biótica ou abiótica, e adsorção na fase sólida (Khanal *et al.*, 2006).

Segundo a Figura 3B, pode-se afirmar que todos os estrogênios estudados foram parcialmente removidos do esgoto nas primeiras etapas desta segunda amostragem, provavelmente, como consequência da adsorção destes hormônios nas partículas decantadas. Pode ter ocorrido remoção dos hormônios por adsorção no material particulado em suspensão, e assim retirados do sistema por meio das etapas mecânicas do início do sistema (decantador, desarenador), o que já foi constatado por Piccioni (2010).

De acordo com Khanal *et al.* (2006), a perda de estrogênios por volatilização, em condições naturais de temperatura e pressão, é bem limitada, devido às baixas pressões de vapor destes compostos. Segundo estes autores, como já mencionado, a remoção por adsorção destes compostos no lodo é bem recorrente, devido às suas naturezas hidrofóbicas, e a biodegradação é um mecanismo eficiente de remoção, quando as condições são favoráveis aos microorganismos, sendo provavelmente estas as principais formas de remoção dos compostos na segunda coleta.

Foi possível verificar, ao comparar os dados referentes às coletas 1 e 2, que existe uma concentração estável do 17α -etinilestradiol no efluente, próxima de $1.0 \mu\text{g.L}^{-1}$, podendo considerar a hipótese de um equilíbrio entre a quantidade aquosa e a quantidade adsorvida deste composto. Este fato pode ser confirmado com os resultados obtidos na coleta 3 (Figura 4).

Na terceira coleta foi encontrada uma pequena quantidade de 17α -etinilestradiol nas amostras (Figura 4), com um incremento na concentração nos pontos subsequentes ao reator, que pode estar envolvido com a dessorção deste hormônio pelo lodo do Ralf, considerando a hipótese de equilíbrio mencionada acima, ou ativação do hormônio pela quebra da conjugação com outros compostos. As concentrações de 17β -estradiol e de estrona não foram detectadas pela técnica cromatográfica nesta coleta. Este fato pode estar relacionado, além da possibilidade dos compostos estarem ausentes das amostras, às baixas concentrações destes compostos no ambiente (abaixo do limite de detecção) e aos efeitos de matriz, que podem conter substâncias que interferem na análise (Ghiselli, Jardim, 2007).

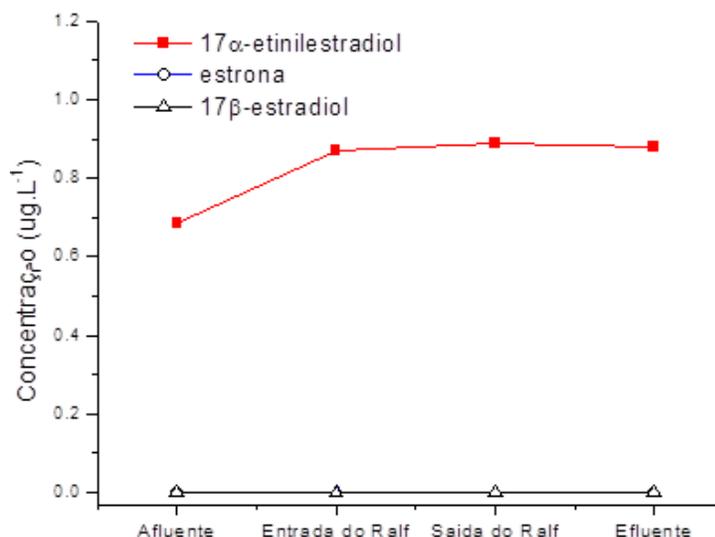


Figura 4. Variação da concentração dos estrogênios, na terceira coleta realizada na estação de tratamento de esgotos.

Foram observadas variações na remoção de estrogênios na estação de tratamento de esgoto nas três coletas realizadas. Na Tabela 2 constam as variações percentuais dos hormônios em relação ao afluente/efluente, onde os valores acima de 100% indicam aumento da concentração na saída da ETE em relação ao seu afluente. Isto foi observado na primeira e terceira coleta, indicando uma possível transformação da forma inativa na forma ativa.

A variação pode estar relacionada a diferentes fatores, como: I) variação da composição do afluente da estação, mesmo realizando a coleta no mesmo horário; II) diluição do afluente proveniente das chuvas (coleta 1); III) variação da comunidade microbológica do reator; IV) retorno de lodo na ETE (na coleta 2); V) alteração do TDH na coleta 1, devido à grande taxa de precipitação e consequente aumento de volume de entrada na ETE; VI) desativação de uma outra unidade de tratamento de esgotos, direcionando seu afluente para esta ETE.

Tabela 2. Variação percentual das concentrações dos hormônios sexuais femininos em relação a concentração de entrada (afluente) da concentração de saída (efluente)

	17 β -estradiol	17 α -etinilestradiol	Estrona
Coleta 1	169	> 100	100
Coleta 2	99	78	1.0
Coleta 3	ND	128	ND

*ND=Não detectável

O hormônio encontrado em maiores níveis foi o 17 β -estradiol, o qual é um dos principais hormônios sintetizados pelo corpo humano, e desempenha papel fundamental no organismo feminin, além de ser bastante utilizado na formulação de anticoncepcionais. Uma parte da quantidade de 17 β -estradiol presente no afluente foi removida da fase líquida por processos de adsorção no lodo do reator anaeróbico, o qual apresentou uma concentração de 1655 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, confirmando que uma das vias de remoção foi a adsorção, evidenciando a afinidade dos hormônios estrogênicos pela fase sólida neste meio estudado. A estrona também apresentou adsorção no lodo, onde foram encontrados valores de 11.5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, menores que o de 17 β -estradiol, que pode estar relacionado com sua menor concentração no afluente ou pelo fato do lodo apresentar caráter redutor, ou seja, favorecendo a transformação da estrona no 17 β -estradiol.

Na coleta 2, apesar da maior remoção do hormônio 17 α -etinilestradiol da fase líquida, foi encontrada uma concentração considerável deste hormônio no afluente, provavelmente oriunda da liberação do estrogênio adsorvido no lodo, cujo estava retornando à esta etapa do sistema no momento da coleta. Czajka e Londry (2006) sugerem que este hormônio sintético apresenta difícil biodegradação e sua remoção está mais relacionada com a adsorção.

Já a estrona foi o hormônio encontrado em menores concentrações na forma dissolvida, provavelmente por ser de fonte natural e os ambientes avaliados serem redutores, que não favorecem a permanência do composto nesta forma oxidada.

Devido às concentrações de HSFs existentes no efluente analisado, e seus efeitos nocivos em baixas concentrações, sugere-se o desenvolvimento e emprego de tratamentos terciários, como processos oxidativos avançados, degradação eletroquímica, tratamento com wetlands, tratamento com ozônio ou com adsorventes, em ETEs semelhantes às do estudo (Gultekin, Ince, 2007; Broséus *et al.*, 2009; Błedzka *et al.*, 2010; Hsieh *et al.*, 2013; Hernández *et al.*, 2014; Rovani *et al.*, 2014).

Conclusão

Na primeira coleta foi observado aumento da concentração dos HSFs do efluente em relação ao afluente, o que pode estar relacionado com o menor tempo de detenção hidráulico (TDH), alterando assim as características da atividade do reator, diminuindo a eficiência de remoção pela degradação biológica ou pela adsorção. Outro aspecto que deve ser considerado é o fato do meio estar redutor, favorecendo a transformação da estrona no 17 β -estradiol.

Na segunda coleta, em relação à primeira, foi observado aumento da concentração dos HSFs no afluente, provavelmente devido ao retorno de lodo do reator para a entrada da estação de tratamento, possibilitando assim a liberação dos HSFs adsorvidos. Estes HSFs, ao passarem pelas primeiras etapas do sistema, tiveram uma remoção de aproximadamente 30% do 17 β -estradiol e de 60% do 17 α -etinilestradiol, confirmando sua adsorção às partículas decantáveis. Após a passagem pelo reator Ralf, o afluente apresentou remoção de, aproximadamente, 99% de 17 β -estradiol e de 77.8% do 17 α -etinilestradiol. Apesar desta constatação, foi observado que o processo não foi eficiente para a remoção do 17 α -etinilestradiol, pois este hormônio apresentou-se mais resistente a degradação/adsorção, independente do fator que alterou as características do sistema de tratamento, o que pode ser confirmado pela sua concentração em torno de 1.0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ no efluente.

A redução da eficiência de remoção dos estrogênios foi constatada pela diminuição do tempo de detenção hidráulico neste estudo. Pesquisas já avaliaram a biodegradabilidade dos hormônios sexuais femininos, e foi demonstrado que, em um dia, cerca de 88% de 17 β -estradiol pode ser biodegradado aerobicamente e, em cinco dias, 50% do mesmo foi biodegradado em condições anaeróbias (Lopes *et al.*, 2008). Portanto, é possível afirmar que, com o aumento do tempo de detenção do efluente no Ralf, se tenha uma remoção mais eficiente destas substâncias pelo processo de biodegradação (Froehner *et al.*, 2011).

Agradecimentos. Os autores agradecem à Companhia de Saneamento do Paraná por ceder as amostras para esta pesquisa, à Fundação Araucária pelo suporte financeiro e bolsa PQ, à CAPES (Bolsista CAPES, Proc. BEX 12102/13-0) e ao CNPq.

Referencias bibliográficas

- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2003). *Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. Acesso em 04 de abril de 2016, disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE_899_2003_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%ADticos+e+bioanal%C3%ADticos.pdf?MOD=AJPERES
- Arnon, S., Dahan, O., Elhanany, S., Cohen, K., Pankratov, I., Gross, A., Ronen, Z., Baram, S., Shore, L. (2008). Transport of Testosterone and Estrogen from Dairy-Farm Waste Lagoons to Groundwater. *Environmental, Sciences and Technology*, **42**, 5521–5526.
- Bila, M.D., Dezotti, M. (2007) Desreguladores Endócrinos no Meio Ambiente: Efeitos e Consequências, *Química Nova*, **30**(3), 651-666.
- Błedzka, D., Gmureka, M., Gryglik, M., Olaka, M., Miller, J.S., Ledakowicz, S. (2010) Photodegradation and advanced oxidation of endocrine disruptors in aqueous solutions, *Catalysis Today*, **151**, 125–130.
- Brandt, E.M.F., de Queiroz, F.B., Afonso, R.J.C.F., Aquino, S.F., Chernicharo, C.A.L. (2013) Behaviour of pharmaceuticals and endocrine disrupting chemicals in simplified sewage treatment systems. *Journal of Environmental Management*, **128**, 718-26.
- Broséus, R., Vincent, S., Aboufadel, K., Daneshvar, A., Sauvé, S., Barbeau, B., Prévost, M. (2009) Ozone oxidation of pharmaceuticals, endocrine disruptors and pesticides during drinking water treatment, *Water Research*, **43**, 4707–4717.
- Campani, B.D., Marques, D.M.L. Da M., Müller, G.T., Centeno, G. (2010) Esteróides em Água Residuária – Estado da Arte e Perspectivas de Tratamento, *VII Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental*, anais. Porto Alegre, Brasil.
- Christiansen, L.B., Nielsen, M.W., Helweg, C. (2002) Feminization of fish the effect of estrogenic compounds and their fate in sewage treatment plants and nature, *Danish Environmental Protection Agency*, p. 184.
- Chernicharo, C.A.L. (2006). Post-treatment options for the anaerobic treatment of domestic wastewater. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, **5**, 73-92.
- Czajka, P.C., Londry, K. L. (2006) Anaerobic biotransformation of estrogens. Department of Microbiology, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada, *Science of the Total Environment*, **367**, 932–941.
- Cruz-Esteban, S., Cruz-López, L., Malo, E.A., Valle-Mora, J., Infante-Matha, D.M., Santiesteban-Hernandez, A., Hernández, R.G., Bello-Mendoza, R. (2014) Presencia de anti-inflamatorios no esteroideos en cuerpos de agua superficial de Tapachula, Chiapas, México, *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales*, **7**(2), 105-114.
- D’Ascenzo, G., Corcia, A. (2003) Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities, *The Science of The Total Environment*, **302**, 199-209.
- Direito, I.C.N. (2005). Detecção de gene degradadores de compostos aromáticos em solos de rizosfera sob manejo convencional e orgânico. *Dissertação* (Mestrado em Biotecnologia Vegetal). Universidade do Rio de Janeiro.
- Freire, F.B., Pires, E. C., Freire, J.T. (2008) Tratamento anaeróbico de pentaclorofenol em reator de leito fluidificado alimentado com água residuária sintética contendo glicose como fonte única de carbono, *Engenharia Sanitária Ambiental*, **13**(3), 339-346.
- Froehner, S., Piccioni, W., Machado, K.S., Aisse, M.M. (2011) Hormones, and Bisphenol by Aerobic and Anaerobic Sewage Treatment. *Water Air Soil Pollut.*, **216**, 463–471.
- Ghiselli, G. (2006) Avaliação da Qualidade das Águas destinadas ao Abastecimento Público na Região de Campinas, Ocorrência e Determinação dos Interferentes Endócrinos, Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal, *Tese* (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.
- Ghiselli, G., Jardim, W. (2007) Interferentes Endócrinos no Ambiente, *Química Nova*, **32**, 127-132.

- Halling-Sorensen, B., Nielsen, S.N., Lanzki, P.F., Ingerslev, F., Lützhof, H.C.H., Jorgensen, S.E. (1998) Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review, *Chemosphere*, **26**(2), 357-393.
- Gultekin, I.G., Ince, N.H. (2007) Synthetic endocrine disruptors in the environment and water remediation by advanced oxidation processes, *Journal of Environmental Management*, **85**, 816–832.
- Hernández, R.G., Santos, R.A.G., Aguilar, H.A.N. (2014) Degradación electroquímica de anticonceptivos orales en medio acuoso, *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales*, **7**(2), 134-140.
- Hsieh, Chi-Ying, Yang, Lei, Kuo, Wen-Chien, Zen, Yi-Peng. (2013) Efficiencies of freshwater and estuarine constructed wetlands for phenolic endocrine disruptor removal in Taiwan, *Science of the Total Environment*, **463–464**, 182–191.
- INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (2016). *Orientação sobre validação de métodos analíticos. Documento de caráter orientativo DOQ-CGCRE-008*. Acesso em 20 de março de 2016, disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidog/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf.
- Jiang, J., Zhou, Z., Sharma, V.K. (2013) Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water — A review from global views, *Microchemical Journal*, **110**, 292-300.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy. (2009) 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**, 363-380.
- Khanal, S.K., Xie, B., Thompson, M.L., Sung, S., Ong, S.K., Leeuwen, V. (2006) Fate, Transport, and Biodegradation of Natural Estrogens in the Environment and Engineered Systems, *Environmental Science & Technology*, **40**(21), 6547-6556.
- Lopes, L.G. (2007) Estudo sobre a ocorrência de estrógenos em águas naturais e tratadas da região de Jaboticabal – SP. *Tese (Doutorado em Química)*, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.
- Lopes, L.G., Marchi, M.R.R. De, Souza, J.B.G. De, Moura, J.A. (2008) Hormônios Estrogênicos no Ambiente e Eficiência das Tecnologias de Tratamento para Remoção em Água e Esgoto. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, **13** (4), 123-13.
- López, M.J.A., Gil, A., Paz, E., Barceló, D. (2002) Occurrence and analysis of estrogens and progestogens in river sediments by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry. *Analyst*, **127**, 1299–1304.
- Machado, K.S. (2010) Determinação de Hormônios Sexuais Femininos na Bacia do Alto Iguaçu, Região Metropolitana de Curitiba-PR. *Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental)* - Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal do Paraná.
- Machado, K.S., Cardoso, F.D., Braga, Maria Cristina Borba, Azevedo, J.C.R. (2014) Occurrence of female sexual hormones in the Iguazu river basin, Curitiba, Paraná State, Brazil. *Acta Scientiarum. Technology*, **36**, 421-427.
- Mclachlan, J.A., Simpson, E., Martin, M. (2006) Endocrine disruptors and female reproductive health. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **20**(1), 63-75.
- Narumiya, M., Nakada, N., Yamashita, N. Tanaka, H. (2013) Phase distribution and removal of pharmaceuticals and personal care products during anaerobic sludge digestion. *Journal of Hazardous Materials*, v. **260**, 305-312.
- Paiva, F.V., Souza, N.C., Van Haandel, A.C. (2011) Identificação de compostos orgânicos e farmacêuticos em esgoto hospitalar utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. *Engenharia Sanitária Ambiental*, **16**(1), 37-44.
- Piccioni, W.J. (2010) Estudo da presença e remoção de micropoluentes em estações de tratamento de esgoto. *Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Ambiental)* - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.
- Pinto, R.M., Fernandes, E.S., Peters, V.M., Guerra, M. (2008) O. Disruptores endócrinos: descrição dos métodos para avaliação in vivo de produtos químicos com efeito estrogênico. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução*, **27**(1/2), 21-25.

- Raimundo, C. (2007) Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia. *Dissertação* (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.
- Ratola, N., Cincinelli, A., Alves, A., Athanasios, K. (2012) Occurrence of organic microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review. *Journal of Hazardous Materials*, **239**, 1-18.
- Reis Filho, R.W., Araújo, J.C., Vieira, E.M. (2006) Hormônios Sexuais Estrógenos: Contaminantes Bioativos. *Química Nova*. **29**(4), 817-822.
- Rovani, S., Censi, M. T., Pedrotti Jr, S.L., Lima, E. C., Cataluna, R., Fernandes, A.N. (2014) Development of a new adsorbent from agro-industrial waste and its potential use in endocrine disruptor compound removal, *Journal of Hazardous Materials*, **271**, 311–320
- Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H., Blankenhorn, I. (2001) Pharmaceuticals in groundwaters: analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *Journal of Chromatography A*, **938**, 199-210.
- Salomão, A.L. S., Soroldoni, G., Marques M. (2012) Avaliação da toxicidade do hormônio sintético 17 -etinilestradiol em microalgas unicelulares *Scenedesmus subspicatus* e *Selenastrum capricornutum*. Artigo apresentado no *XII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia*.
- Servos, M.R., Bennie, D.T., Burnison B.K., Jorkovic, A., Mcinnis, R., Neheli, T., Schnell, A., Seto, P., Smyth, S.A, Ternes, T.A. (2005) Distribution of estrogens, 17h-estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, **336**, 155-170.
- Silva, R.L.B. (2002). Contaminação de poços rasos no bairro Brisamar, Ítaqui, RJ, por derramamento de gasolina: concentração de BTEX e avaliação da qualidade da água consumida pela população. *Tese* (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Saneamento Ambiental, Rio de Janeiro.
- Sodré, L.L., Locatelli, M.A.F., Montagner, C.C., Jardim, W.F. (2007) Origem e Destino de Interferentes Endócrinos em Águas Naturais. Universidade Estadual de Campinas, *Caderno Temático*, **6**, 1.
- Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E., Hart, A. (2012) Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment*, **416**, 1-21.
- Ternes, T.A., Stumph, M., Mueller, 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 the Total Environment*, **225**, 81-90.
- Verbinnen, R.T., Silva, I.S. Da, Nunes, G.S.N., Gomes, L.V., Silva, M.N.S. (2009) Hormônios estrógenos em mananciais: desafio ao tratamento de água para consumo humano. In: *25º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, anais. Recife: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – ABES.
- Verbinnen, R.T., Nunes, S.G., Vieira, E.M. (2010) Determinação de Hormônios Estrógenos em água potável usando CLAE- DAD. *Química Nova*, **33**(9), 1837-1842.
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Zambello, E. (2012) Evaluation of a model for the removal of pharmaceuticals, personal care products, and hormones from wastewater. *Science of the Total Environment*, **429**, 123-155.