

Distribución de esteroides estrogénicos en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales

Distribution of estrogenic steroids in municipal wastewater treatment plants

Ferreira, Aldo P.

Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Departamento de Direitos Humanos, Saúde e Diversidade Cultural. Avenida Brasil, 4036, sala 905. Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ Cep: 21.041-361.

aldopachecoferreira@gmail.com

Recibido: 21 de junio de 2017

Aceptado: 3 de noviembre de 2017

Resumen. En la actualidad, existe una preocupación creciente por la presencia de estrógenos en el medio acuático, donde pueden ser introducidos a partir de aguas residuales después de su eliminación incompleta en las plantas de tratamiento. Las aguas residuales sistemáticamente reciben estrógenos naturales y sintéticos, y por lo tanto una comprensión más profunda de la suerte de ellos en el medio ambiente es necesaria. Se evaluaron los niveles de estrógenos en los efluentes de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTARs) Penha e Ilha do Governador, ambos de tipo convencional de flujo continuo de lodo activado con aireación prolongada. Fue utilizado como el parámetro de determinación de algunos compuestos de interés como estrógenos naturales [estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3)] y sintéticos (17 α -etinilestradiol (EE2)]. Las muestras individuales se recogieron posteriormente al tratamiento de cada PTAR y después de los procedimientos de laboratorio se realizó la determinación de estrógenos basado en la extracción en fase sólida (SPE) y la cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). Las concentraciones fueron de: 0,7 a 5,2 $\mu\text{g/l}$ y de 0,5 a 5,6 de E1; 0,9 a 7,7 y 1,2 a 9,2 $\mu\text{g/l}$ para E2; 2,01 a 6,09 y 1,07 a 4,08 $\mu\text{g/l}$ para EE2 en PTAR Penha y PTAR Ilha do Governador, respectivamente. La capacidad de eliminación de estrógenos fue eficaz, pero denota que la eliminación sistemática de la población es en la actualidad alta. Se recomienda instalar mecanismos para mitigar el consumo exagerado de estas sustancias o implementar una eliminación completa más eficaz.

Palabras clave: Estrógeno; Planta de tratamiento de aguas residuales; Contaminación ambiental; Salud pública

Abstract. Currently, there is a growing concern over the presence of estrogens in the aquatic environment, where they can be introduced from wastewater after their incomplete elimination in the treatment plants. Wastewater systematically receives natural and synthetic estrogens, and thus a deeper understanding of the fate of them in the environment is extremely necessary. It was evaluated estrogen levels in the effluent from the Sludge Wastewater Treatment Plants (SWTPs) Penha and Ilha do Governador, both of type conventional continuous-flow activated sludge with extended aeration. The determination of some target compounds as natural estrogens was used as the evaluation parameter [estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) and synthetic (17 α -ethinylestradiol (EE2)]. Individual samples were collected posterior treatment of each SWTP, and after laboratory procedures, the determination of estrogens was performed by a method based on solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD). Concentrations ranged from 0.7 to 5.2 $\mu\text{g/l}$ and from 0.5 to 5.6 for E1; 0.9 to 7.7 and 1.2 to 9.2 $\mu\text{g/l}$ for E2; 2.1 to 6.9 and 1.7 to 4.8 $\mu\text{g/l}$ for EE2 at SWTPs Penha and Ilha do Governador, respectively. The removal capacity of estrogens despite its effectiveness denotes that the systematic elimination by the population is high nowadays and urging mechanisms to mitigate the exaggerated consumption or to implement most effective complete removal.

Keywords: Estrogen; Wastewater treatment plant; Environmental pollution; Public health

Introducción

El desarrollo de las actividades antrópicas, como centros urbanos, industrias y la agropecuaria, no se ha llevado en cuenta las limitaciones y los trabajos en el medio ambiente. En consecuencia, cada vez más surgen impactos ambientales, siendo muchos de ellos de gran magnitud y/o irreversibles (Filby y col. 2007,

Mierzwa y col. 2009, Saeed y col. 2017). Sin embargo, la preocupación por cuestiones ambientales ha aumentado significativamente en las últimas décadas.

En los últimos años los contaminantes emergentes presentes en aguas residuales en concentraciones del orden de ng/l o $\mu\text{g/l}$ han des-

pertado interés en la comunidad científica por presentar potencialidad para ejercer efectos en humanos y animales (Atkinson y col. 2012). Entre los contaminantes emergentes presentes en aguas residuales, se destacan los estrógenos naturales estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), estríol (E3) y el sintético, 17 α -etinilestradiol (EE2), que han sido motivo de preocupación debido a gran cantidad lanzada diariamente en el medio ambiente, ya que son desreguladores endocrinos que poseen alta estrogenicidad, e incluso en bajas concentraciones pueden causar efectos adversos en organismos (Ying y col. 2002, Bila y Dezotti 2007, Mierzwa y col. 2009).

Algunas hormonas estrogénicas son naturalmente secretadas por mujeres y también por hombres, pero en cantidades medias diarias menores. La literatura destaca que las mujeres en menstruación secretan diariamente cierta cantidad de E1, E2 y E3, siendo estos valores casi 100 veces mayores durante la gestación (Carballa y col. 2004, Bila y Dezotti 2011; Aquino y col. 2013). E2 se considera el estrógeno natural más potente, seguido de sus metabolitos E1 y E3 (Castro 2002).

Además de los efectos sobre el desarrollo y función reproductiva, la exposición a estos contaminantes en efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs) se ha asociado con efectos adversos más amplios para la salud, incluyendo daños genotóxicos (Gravato y Santos 2003, Liney y col. 2006), inmunosupresión (Hoeger y col. 2005), actividad alterada de las enzimas de biotransformación hepática fase I / fase II (Gravato y Santos 2003, Hoeger y col. 2005, Gagne y col. 2006) y nefrotoxicidad (Liney y col. 2006). Además, se verificó que algunos de estos efectos ocurren en concentraciones de estrógenos considerablemente menores que aquellas que causan la feminización del sistema reproductivo (Liney y col. 2006). La probabilidad de que los contaminantes de PTARs afecten la salud es una preocupación significativa. Por ejemplo, la inmunosupresión puede conducir a una mayor susceptibilidad a la enfermedad; la capacidad metabólica alterada puede llevar a la acumulación tóxica de contaminantes o a la producción de metabolitos reactivos; y daños al ADN pueden resultar en mortalidad embrionaria, anomalías en el desarrollo y/o cáncer (Yasuda y col. 2017).

Con el fin de eliminar sustancias indeseables o transformarlas en otras aceptables según establecido en la legislación brasileña (Brasil

2011) y no alterar los parámetros de calidad del cuerpo hídrico receptor, el efluente sanitario debe pasar por un sistema de tratamiento (Johnson y Chen 2017). Actualmente existen diversos métodos y niveles de tratamiento que se pueden emplear en PTARs y estos procesos se pueden clasificar en: físicos, químicos y biológicos. Los tres procesos actúan en conjunto de modo que la transformación de un proceso de tratamiento influenciará en los demás (Ferreira y col. 2008).

Existen ahora considerables evidencias de estudios de campo y de laboratorio de los efectos sobre la reproducción por la exposición a estrógenos ambientales presentes en efluentes, en particular los estrógenos naturales E1, E2, E3 y estrógenos sintéticos EE2 (Ahmed 2000, Ferreira y col. 2008, Muller y col. 2008). Los estudios en sistemas de mamíferos mostraron que algunos estrógenos (y/o sus metabolitos) también tienen, por ejemplo, propiedades genotóxicas y propiedades inmunotóxicas (Adeel y col. 2017).

Los estrógenos, principalmente E2 es responsable de la formación de las características femeninas, así como EE2 es el principal estrógeno sintético encontrado en las píldoras anticonceptivas y aplicadas en terapias de reposición hormonal. Por poseer alto potencial estrogénico han sido clasificados como los mayores responsables en provocar alteraciones endocrinas en organismos presentes en aguas superficiales. Estos compuestos se han detectado sistemáticamente en efluentes de PTARs por el hecho de ser eliminados parcialmente durante el proceso de tratamiento (Moraes y col. 2008, Johnson y Chen 2017).

Conforme el esquema demostrado en la *figura 1*, de forma general, las PTARs reciben la alcantarilla *in natura* y la somete a una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen por objetivo eliminar diversas sustancias indeseables, posibilitando así su retorno al medio ambiente con características sanitarias más adecuadas (Bento y col. 2005, Falcioni y col. 2005, Ferreira y col. 2008). Además, las diferentes configuraciones y condiciones operativas de diversas PTARs pueden influir en los mecanismos de adsorción, fotodegradación, volatilización y transformaciones químicas y/o biológicas de los compuestos (Suárez y col. 2008). Aun así, son raras las investigaciones que relacionaron parámetros operacionales y físico-químicos con la remoción de los estrógenos en PTAR.

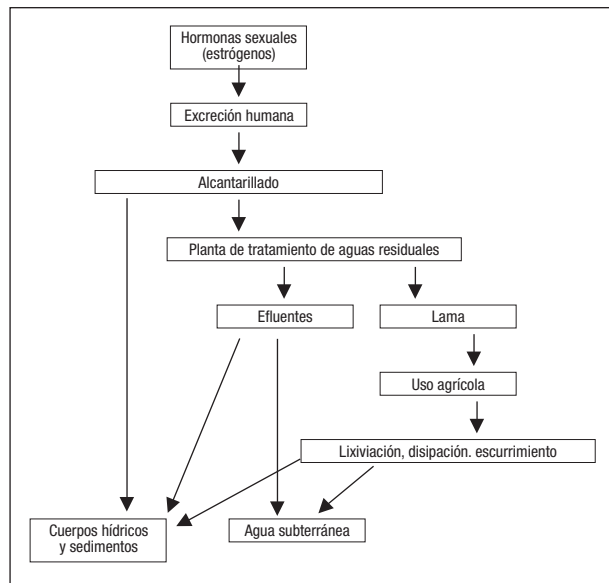


Figura 1. Representación esquemática de la principal vía de entrada de estrógenos sexuales en sistemas acuáticos. Fuente: Reis Filho y col. 2006.

Estrógenos: aspectos de encuadramiento y definiciones

El sistema endocrino es un mecanismo complejo que coordina y regula la comunicación entre las células, constituido por combinaciones de glándulas y hormonas, siendo responsable de las funciones biológicas normales, como la reproducción, desarrollo embrionario, crecimiento y metabolismo (Wirsh y Thomas 2010). Las hormonas son mensajeros químicos que responden por la comunicación entre diferentes tipos de células, las cuales identifican las hormonas a través de receptores que son estructuras proteicas especializadas en reconocimiento molecular (Slabaugh y Seager 2007). Después de la aproximación e interacción (hormona-receptor) ocurre una serie de reacciones bioquímicas, llevando a respuestas biológicas específicas (Witorsch y Thomas 2010, Eick y col. 2012).

Los estrógenos se utilizan hoy en día en la fabricación de píldoras anticonceptivas y esto lleva a una preocupación acerca de la llegada de estos compuestos a ambientes acuáticos, así como sus posibles impactos. A pesar de que las hormonas naturales poseen una vida media de aproximadamente dos a diez días, que es relativamente corta, los estrógenos naturales son continuamente lanzados en el ambiente y esto les concede un carácter de persistencia (Ying y col. 2009). Los estrógenos artificiales persisten en el medio ambiente, pues se acumulan

en suelo, sedimentos ya lo largo de la cadena trófica (Ying y col. 2002, Hoeger y col. 2005). Entre las hormonas sexuales, los estrógenos vienen recibiendo mayor atención por ser compuestos extremadamente activos biológicamente y están relacionados a la etiología de varios tipos de cáncer (Eick y col. 2012). Los estrógenos naturales E1, E2, E3, y el sintético EE2, desarrollado para uso médico en terapias de reposición y métodos anticonceptivos, son los que despiertan mayor preocupación, tanto por la potencia como por la cantidad continua introducida en el ambiente. Estas hormonas poseen la mejor conformación reconocida por los receptores y, por lo tanto, son considerados responsables de la mayoría de los efectos disruptores desencadenados por su presencia en los efluentes (Stumpf y col. 1999, Aerni y col. 2004, Atkinson y col. 2012). Johnson y col. (2000) investigaron las cantidades diarias excretadas de los estrógenos naturales E2, E1, E3 y de EE2 en las píldoras orales anticonceptivas y estimaron las excreciones diarias de estrógenos por humanos. Esta estimación se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Excreción diaria (µg) per capita de estrógenos por humanos (Johnson y col. 2000)

Categoría	Estrona	17β-Estradiol	Estriol	17α-Etinilestradiol
	E1	E2	E3	EE2
Hombres	3,9	1,6	1,5	-
Mujeres menstruando	8	3,5	4,8	-
Mujeres en la menopausia	4	2,3	1	-
Mujeres embarazadas	600	259	6000	-
Mujeres que usan anticonceptivos	-	-	-	35

El lanzamiento de aguas residuales sanitarias en cuerpos receptores sin tratamiento, o parcialmente tratados, sigue siendo la principal causa de la contaminación de recursos hídricos (Ternes y col. 1999, Tollefsen y col. 2007, Saeed y col. 2017). Toneladas de sustancias sintéticas y naturales se descargan anualmente en el medio ambiente, de las cuales un número considerable son disruptores endócrinos (Ying y col. 2009, Zorita y col. 2009). Además de estar asociados a los efectos en el sistema endócrino,

algunos son también persistentes, lipofílicos, bioacumulativos y tienen baja presión de vapor, lo que facilita la dispersión y difusión en el ambiente (Johnson y Chen 2017). La *tabla 2*

presenta un resumen sobre las concentraciones de E1, E2, EE2 y E3 encontrados en las alcantarillas sanitarias de PTARs de diferentes países.

Tabla 2. Concentraciones en ng/l de estrógenos detectados en alcantarillas domésticas

Estrógeno	País	Alcantarillado no tratado	sanitario tratado	Referencias
E1	Alemania	27	9	Ternes y col. 1999
	Brasil	40	n.d.	
	Noruega	25	3	Tollefsen y col. 2007
	Brasil	n.d.	< 500	Souza 2008
	Francia	n.d.	6-119	Muller y col.2008
	Brasil	33737	955	Moura 2009
	Suecia	14,5	3	Zorita y col.2009
	Australia	n.d.	9,12-32,22	Ying y col.2009
	Japón	21-68	0,6-80	Hashimoto y Murakami 2009
	Estados Unidos	n.d.	3-6	Nelson y col.2011
	España	< 130	< 0,6	Cases y col.2011
	Corea del Sur	13-52	1-79	Sim y col. 2011
	Canadá	35-104	11,2-370	Atkinson y col.2012
	China	42,2-110,7	3,8-30,4	Ye y col.2012
E2	Alemania	15	n.d.	Ternes y col.1999
	Brasil	21	n.d.	
	Canadá	n.d.	6	
	Noruega	12	< 3	Thomas y col.2007
	Brasil	n.d.	< 3	Souza 2008
	Francia	n.d.	13-28	Muller y col.2008
	Brasil	690	102	Moura 2009
	Suecia	3,2	< 1,6	Zorita y col.2009
	Australia	n.d.	1,37-6,35	Ying y col.2009
	Japón	5,8-12	< 5	Hashimoto y Murakami 2009
	Estados Unidos	n.d.	< 2	Nelson y col.2011
	Corea del Sur	17	n.d.	Sim y col 2011
	Canadá	24,7-66,9	26,7	Atkinson y col.2012
	China	7,4-32,7	1,9	Ye y col.2012
EE2	Alemania	n.d.	1	Ternes y col.1999
	Canadá	n.d.	9	
	Noruega	< 3	< 3	Thomas y col.2007
	Brasil	n.d.	< 3	Souza 2008
	Francia	n.d.	20	Muller y col.2008
	Brasil	180	100	Moura 2009
	Suecia	< 10	< 10	Zorita y col.2009
	Australia	n.d.	0,11-1,20	Ying y col.2009
	España	< 11	< 11	Cases y col. 2011
	Estados Unidos	n.d.	< 2	Nelson y col.2011
	Canadá	0,5-5,7	1-9,8	Atkinson y col.2012
China	8,6-40,9	n.d.	Ye y col.2012	
E3	Noruega	128	< 3	Thomas y col.2007
	Francia	n.d.	19-111	Muller y col.2008
	Corea del Sur	46-1130	160-273	Sim y col 2011
	China	126,9-845,6	7,7-11	Ye y col.2012

n.d. – no detectado; E1 = estrona; E2 = 17 β estradiol; EE2 = 17 α etinilestradiol; E3 = estriol

En este artículo, se propone analizar un estudio cuantitativo de E1, E2, EE2 y E3 en el efluente de PTARs Penha e Ilha do Governador. Se pretende, así, evaluar el desempeño y detección de estrógenos, discutiendo un mejor control del proceso y los potenciales impactos causados al ambiente ya la salud pública.

Materiales y métodos

Caracterización de las PTARs

Las PTARs Penha e Ilha do Governador son sometidas a los siguientes parámetros operativos: determinación del contenido en sólidos, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), la demanda química de oxígeno (DQO) y el pH. Los residuos sólidos comprenden los sólidos disueltos y en suspensión. Todos estos sólidos pueden dividirse en volátiles y fijos, siendo los volátiles, por lo general, productos orgánicos y los fijos materia inorgánica o mineral.

La PTAR-Penha opera con biofiltros y lodos activados, tratando un caudal alrededor de 1.600 l/s. La PTAR-Ilha do Governador opera con lodos activados, tratando un caudal alrededor de 525 l/s.

Muestreo

El muestreo se realizó al final de la línea de tratamiento de las PTARs Penha e Ilha do Governador. Se recogieron un volumen de 1l de muestra para los análisis cromatográficos en frasco de vidrio ámbar, utilizando 5 ml de metanol para su conservación. Los frascos eran debidamente lavados y acondicionados en telgopor con hielo. Se adoptó un tiempo máximo de conservación de las muestras de 48 horas, mantenidas en refrigeración hasta la realización de los análisis.

Durante las 12 horas programadas para la obtención de muestras, entre las 8h y las 20h, se obtuvieron dos muestras de PTAR cada semana, a lo largo de los meses de julio y agosto de 2016, por el hecho de que en esos meses es baja la pluviosidad y, consecuentemente, posibilita la detección de los analitos a investigar con mayor exactitud. Las muestras recogidas se colocaron en recipientes volumétricos de 0,5 l y el pH fue ajustado a 3,0 con unasgotas de ácido clorhídrico calidad p.a. Posteriormente se realizó la filtración de la muestra en membranas de fibra de vidrio de 0,45 µm (Whatman GF/B), para posterior extracción en fase sólida (SPE). Los resultados expresan el contenido de cada estrógeno identificado.

Análisis de laboratorio

Después de la recolección, las muestras fueron transportadas al laboratorio en maletas térmicas refrigeradas, y luego fueron filtradas por medio de una malla de 230 µm para retener partículas mayores y con filtros de fibra de vidrio Macherey-Nagel, MN GF-3, porosidad de 0,60 µm.

Para el análisis de los compuestos E1, E2, E3 y EE2 se utilizó un cromatógrafo líquido Agilent Technologies 1200 Series, compuesto por un sistema cuaternario de bombas LC-10AT, módulo controlador SCL-10A, desgasificador DGV-14A, horno de columna CTO-10AS, auto-inyector SIL-10AF y detector de arreglo de diodos (DAD) SPD-M10A. El sistema fue controlado por el programa Chemstation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU). La separación se realizó en una columna Shim-Pack RP-18e (150 x 4,6 mm, d.i. 5 µm), la cual fue protegida por una pre-columna Shim-Pack G-ODS (10 x 4,0 mm, d.i. 5 µm), ambas de Shimadzu (Kyoto, Japón). La metodología (Wang y col. 2008), fue optimizada y adaptada para posterior análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia, acoplada a detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). La columna se mantuvo en 40 °C, el tiempo de la corrida fue de 62 minutos, y la inyección se realizó en el cromatógrafo en un volumen de 20 µl.

Validación del método analítico

La validación del método analítico se obtuvo mediante la evaluación de los parámetros de selectividad, linealidad, exactitud, límites de detección y cuantificación, y repetibilidad.

La selectividad del método cromatográfico fue evaluada por la observación de ausencia de picos en la región del tiempo de retención del analito de interés. Para ello, se inyectó las muestras de blanco sin fortificación y blanco fortificado obtenido con agua ultra pura.

La linealidad fue evaluada por la respuesta obtenida en función de la concentración del analito, la cual fue estudiada en las concentraciones de 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 y 4,0 µg/l, inyectadas en triplicada. Después de las inyecciones se calcularon el promedio de las 47 áreas, la estimación de la desviación estándar relativa (DER), o coeficiente de variación (CV), la estimación de la desviación estándar y la ecuación de la regresión lineal de la curva analítica para cada analito.

El proceso utilizado para evaluar la exactitud fue realizado por medio de ensayos de recu-

peración. Las muestras de agua ultra pura fueron fortificadas y extraídas según el método, en las concentraciones de 1,0, 2,0 y 3,0 $\mu\text{g/l}$ y cuantificadas por HPLC-DAD.

Los límites de detección (LD) fueron determinados por la inyección de la menor concentración del patrón mix de las hormonas. Los límites de cuantificación (LQ) para cada una de las hormonas se determinaron utilizando el primer nivel de concentración de la curva analítica, utilizando una solución mixta del patrón que contenía E3, EE2 y E2 en la concentración de 0,5 $\mu\text{g/l}$.

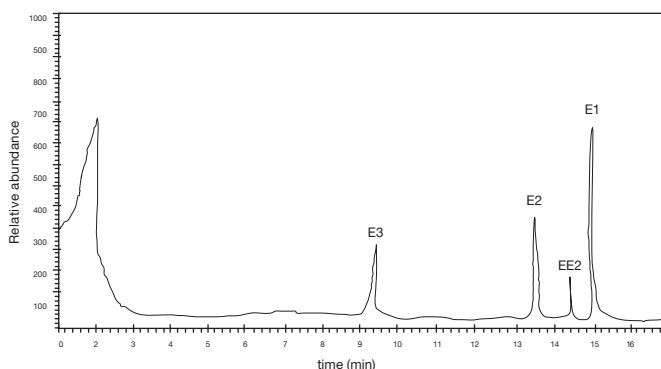
Para la evaluación de la repetibilidad del método cromatográfico, una misma muestra de un patrón a 1,0 $\mu\text{g/l}$ fue inyectada tres veces, en las mismas condiciones de operación y en el mismo día.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico Origin 7.5 (OriginLabCorporation).

Resultados

Para verificación de la detección de los analitos investigados, la *figura 2* presenta el cromatograma de separación obtenido para los patrones de hormonas inyectadas en concentraciones de 10 $\mu\text{g/ml}$ para E1 y 100 ng/ml para E2, EE2 y E3 en el sistema cromatográfico.



E1 = estrona; E2 = 17 β estradiol; EE2 = 17 α etinilestradiol; E3 = estriol

Figura 2. Cromatograma obtenido de patrones de los estrógenos E1, E2, EE2 y E3

Los resultados obtenidos de los componentes, a partir de análisis de las muestras de agua de los efluentes recogidos al final de la línea de tratamiento de las PTARs Penha e Ilha do Governador, se presentan en las *tabla 3* y

tabla 4 utilizando la metodología HPLC-DAD. No hubo detección de E3 y esto puede estar asociado a la menor interacción de este analito con la fase estacionaria del SPE, caracterizada por interactuar por fuerza de van der Waals, lo que favorece la retención de analitos menos polares, siendo el E3 el más polar de los 4 estrógenos analizados.

Las concentraciones de los analitos evaluados tuvieron como promedio para las aguas de la PTAR Penha: E1 - 2,76 $\mu\text{g/l}$, E2 - 3,77 $\mu\text{g/l}$ y EE2 - 4,08 $\mu\text{g/l}$. Para las aguas de la PTAR Ilha do Governador: E1 - 2,24 $\mu\text{g/l}$, E2 - 4,34 $\mu\text{g/l}$ y EE2 - 3,65 $\mu\text{g/l}$. Las concentraciones variaron de: 0,7 a 5,2 $\mu\text{g/l}$ y de 0,5 a 5,6 para E1; 0,9 a 7,7 y 1,2 a 9,2 $\mu\text{g/l}$ para E2; 2,1 a 6,9 y 1,7 a 4,8 $\mu\text{g/l}$ para EE2 en las aguas de las PTARs Penha e Ilha do Governador, respectivamente.

Discusión

La remoción de contaminantes durante el tratamiento de aguas residuales busca mejorar la depuración del efluente de acuerdo al patrón de calidad vigente. El nivel de eliminación de los contaminantes está vinculado al nivel de tratamiento, así como la eficiencia del proceso. Las transformaciones y la degradación biológica pueden ocurrir aeróbicamente, por oxidación biológica en lodos activados y filtros biológicos, o anaerobiamente en sistemas de alcantarillado o digestores de lodo anaeróbico (Carballa y col. 2004). Los sistemas compuestos por laguna de aireación, sedimentación y lodo están entre los más utilizados durante el tratamiento de efluentes en las PTARs brasileñas (Bento y col. 2005). Entretanto, la no existencia de un programa de monitoreo específico en las PTARs, imposibilita el cálculo de las cantidades de estrógenos que ingresan al efluente y las que son removidas, fundamental para determinar el comportamiento de esas sustancias durante el paso por las varias etapas de tratamiento.

Los estudios de eliminación de fármacos en PTARs brasileñas son raros y espaciados. Stumpf y col. (1999) y Ternes y col. (1999) fueron los primeros en reportar la presencia de hormonas, antiinflamatorios y anti-lipémicos en aguas de alcantarillas, efluentes y Reis Filho y col. (2006) en aguas de ríos en el Estado de Río de Janeiro.

En la literatura internacional, Korner y col. (2000) investigaron la remoción de la actividad estrogénica del efluente doméstico en una PTAR en Alemania. Se comprobó que 90% de

Tabla 3. Análisis de concentraciones de estrógenos ($\mu\text{g/l}$) en aguas del efluente final, PTAR Penha

PTAR Penha												
Componente	Análisis											
	N total	X	DP	SE	Lower 95% CI of Mean	Upper 95% CI of Mean	Suma	Valor mínimo	Q1	Mediana	Q3	Valor máximo
E1	7	2,75714	1,78219	0,6736	1,1089	4,40539	19,3	0,7	1,1	3,4	3,9	5,2
E2	7	3,77143	2,27062	0,85821	1,67146	5,8714	26,4	0,9	2,25	3,7	4,8	7,7
EE2	7	4,08571	1,97352	0,74592	2,26052	5,91091	28,6	2,1	2,7	3,2	5,5	6,9

E1 = estrona; E2 = 17β estradiol; EE2 = 17α etinilestradiol; E3 = estriol; X - media aritmética; DP - desviación estándar; Se - Error estándar; Lower 95% CI of Mean- límite inferior del intervalo de confianza para la media; Upper 95% CI of Mean- límite superior del intervalo de confianza para la media; Q1 – primero cuartil; Q3 – tercero cuartil

Tabla 4. Análisis de concentraciones de estrógenos ($\mu\text{g/l}$) en aguas del efluente final, PTAR Ilha do Governador

PTAR Ilha do Governador												
Componente	Análisis											
	N total	X	DP	SE	Lower 95% CI of Mean	Upper 95% CI of Mean	Suma	Valor mínimo	Q1	Mediana	Q3	Valor máximo
E1	7	2,24286	1,86356	0,70436	0,51936	3,96636	15,7	0,5	1,05	1,3	3,1	5,6
E2	7	4,34286	2,6324	0,99495	1,9083	6,77741	30,4	1,2	3,1	3,3	5,25	9,2
EE2	7	3,65714	1,19702	0,45243	2,55009	4,7642	25,6	1,7	2,9	4,1	4,6	4,8

E1 = estrona; E2 = 17β estradiol; EE2 = 17α etinilestradiol; E3 = estriol; X - media aritmética; DP - desviación estándar; Se - Error estándar; Lower 95% CI of Mean- límite inferior del intervalo de confianza para la media; Upper 95% CI of Mean- límite superior del intervalo de confianza para la media; Q1 – primero cuartil; Q3 – tercero cuartil

la actividad estrogénica fue removida y sólo 2,8% fue encontrada en el lodo biológico, concluyendo que la mayor parte de las sustancias responsables de la estrogenicidad del desagüe doméstico fue de hecho biodegradada y no adsorbida en las partículas sólidas o en el lodo biológico.

Ternes y col. (1999) realizaron el monitoreo de estrógenos naturales y del anticonceptivo sintético, EE2, en las PTARs Penha, Río de Janeiro, Brasil. En el alcantarillado doméstico, los estrógenos E2 y E1 se detectaron en concentraciones de 0,021 y 0,04 $\mu\text{g/l}$, respectivamente. Las tasas de eliminación de E1 observadas fueron 67% en el filtro biológico y 83% en el proceso de lodos activados. Para E2 estas tasas fueron de 92 y 99,9%, respectivamente. Para el estrógeno anticonceptivo EE2 las tasas de remoción fueron de 64 y 78% para el filtro biológico y en el sistema de lodos activados. De acuerdo con Sole (2003) el estrógeno E2 es uno de los mayores responsables de la actividad estrogénica en los efluentes. EE2 se

elimina principalmente en forma de conjugados (Ying y col. 2002); además, también es un ejemplo claro de un compuesto hormonalmente activo (y muy potente) que, seguramente, puede tener algún impacto en el sistema endócrino de organismos receptivos no blanco, como los peces (Sumpter y Johnson 2006).

La presencia de estrógenos en el medio ambiente puede ser responsable de alteraciones fisiológicas e histológicas en animales, así como causar diversos impactos en la vida acuática (Johnson y Chen 2017). Entre los efectos causados se pueden citar feminización de peces machos; inducción al hermafroditismo; alteración en el funcionamiento de glándulas endócrinas de los animales; disminución de la fertilidad de mariscos, peces, aves y mamíferos; disminución de la supervivencia de la prole, así como la alteración del sistema inmunológico y comportamentales de aves y mamíferos; disminución del éxito de eclosión de huevos de peces, aves y reptiles (Brion y col. 2004).

Al analizar los valores obtenidos en ese estudio se observa que fueron mayores que los reportados en la literatura. Los estudios de Routledge col. (1998) indican que truchas arco iris del sexo masculino pasaron a producir vitelogenina (VTG) observándose respuestas entre 1 y 10 ng/l de E2 y entre 25 y 50 ng/l para E1 en el agua. Este descubrimiento ocurrió cuando los pescadores encontraron peces hermafroditas cercanos a PTAR, y luego fue confirmada por la utilización de truchas enjauladas, que sometidas a un ambiente con estradiol pasaron a sintetizar VTG, según datos reportados por Purdomy col. (1994).

Investigaciones realizadas por Thorpe (2003) demostraron que pequeñas concentraciones de estrógenos fueron suficientes para causar daños reproductivos en peces como la feminización del tubo reproductivo, hecho verificado en peces cebra juveniles expuestos a 100 ng/l de E2 por un período de 21 días. En la revisión sobre feminización de peces realizada por Christiansen y col. (2002) se ha notificado que los estrógenos pueden inducir hemafroditismo en concentraciones de aproximadamente 0,1 ng/l de EE2 y 10 ng/l de E2, y una concentración de 5 ng/l de E2 puede inducir otros efectos adversos para salud de los peces.

Las PTARs como vienen siendo construidas en los últimos años no son apropiadas para la remoción de estrógenos, sino solamente materia orgánica y patógenos (Aquino y col. 2013). Esto sucede porque la problemática de la presencia de estos contaminantes es relativamente reciente y, por lo tanto, aún no se han desarrollado métodos que sean eficientes para la remoción de estos compuestos durante el proceso de tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, actualmente han crecido los trabajos de investigación, y consecuentemente el conocimiento, acerca del destino y comportamiento de estrógenos en PTAR.

Conclusión

Los datos obtenidos de esta investigación en la cual se analizaron efluentes de PTARs demuestran que hubo eficiencia en los procesos de depuración, a pesar de no haberse eliminado totalmente los estrógenos. El hecho preocupante, en Brasil, es que los sistemas de recolección y tratamiento de aguas residuales se han implementado sólo parcialmente y por lo tanto, la probabilidad de que aparezcan compuestos emergentes de interés en las aguas es significativa. Junto a esto, tenemos un sistema de mo-

nitoreo precario en más del 50% de los municipios brasileños y el resto es inexistente, lo que impide una evaluación más precisa de la calidad de las aguas de los ríos, del abastecimiento de aguas y de las posibilidades de ingestión de estos contaminantes por parte de la población. De esta forma, este trabajo contribuye a enterarse de un tema aún poco estudiado, donde se han generado datos que permitieron conocer el tratamiento y la presencia de estrógenos en dos importantes PTAR, y alertar sobre el problema aquí expuesto. Por la importancia de las sustancias con potencial de generar disrupción endócrina es necesario continuar con estudios sobre metodologías de detección de estrógenos.

Bibliografía citada

Adeel M., Song X., Wang Y., Francis D., Yang Y. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environ Int.* 2017;99:107-119.

Aerni H.R., Kobler B., Rutishauser B.V., Wettstein F.E., Fischer R., Giger W., Hungerbühler A., Marazuela M.D., Peter A., Schönenberger R., Vögeli A.C., Suter M.J.F., Eggen R.I.L. Combined biological and chemical assessment of estrogenic activities in wastewater treatment plant effluents. *Anal Bioanal Chem.* 2004;378(3):688-696.

Ahmed S.R. The immune system as a potential target for environmental estrogens (endocrine disruptors): a new emerging field. *Toxicol.* 2000;150:191-206.

Aquino S.F., Brandt E.M.F., Chernicharo C.A.L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos Estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. *Eng Sanit Amb.* 2013;18:187-204.

Atkinson S.K., Marlatt V.L., Kimpe L.E., Lean D.R., Trudeau V.L., Blais J.M. The occurrence of steroidal estrogens in southeastern Ontario wastewater treatment plants. *Sci Total Environ.* 2012;430:119-25.

Bento A.P., Sezerino P.H., Philippi L.S., Reginato V., Lapolli F.R. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. *Eng. Sanit. Amb.* 2005;10(4):329-338.

Bila D.M., Dezotti M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. Química Nova. 2007;30(3):651-666.

Brasil. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Diário Oficial da República Federativa do Brasil: Brasília, 2011.

Brion F., Tyler C.R., Palazzi X., Laillet B., Porcher J.M., Garric J., Flammarion P. Impacts of 17 β -estradiol, including environmentally relevant concentrations, on reproduction after exposure during embryo-larval-, juvenile- and adult-life stages in zebra fish (*Danio rerio*). Aquatic Toxicol. 2004;68(3):193-217.

Carballa M., Omil F., Lema J.M., Llompart M., García-Jares C., Rodríguez I., Gómez M., Ternes T. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. Water Res. 2004.;38(12):2918-2926.

Cases V., Alonso V., Argandoña V., Rodriguez M., Prats D. Endocrine disrupting compounds: a comparison of removal between conventional activated sludge and membrane bioreactors. Desalination. 2011;272:240-245.

Castro C.M.B. Perturbadores endócrinos ambientais: uma questão a ser discutida. Eng Sanit Amb. 2002;7(1):4-5.

Eick G.N., Colucci J.K., Harms M.J., Ortlund E.A., Thornton J.W. Evolution of minima specificity and promiscuity in steroid hormone receptors. PLOS Genet. 2012;8:1-10.

Falcioni T., Manti A., Boi P., Canonico B., Balsamo M., Papa S. Enumeration of activated sludge bacteria in a wastewater treatment plant. J Biol Regulators and Homeostatic Agents. 2005;19(3-4):176-179.

Ferreira A.P., Cunha C.L.N, Roque O.C.C. Avaliação da microfauna no efluente final para monitoramento da qualidade ambiental em estações de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados. Gaia Scientia. 2008;1(2):51-58.

Filby A.L., Neuparth T., Thorpe K.L., Owen R., Galloway T.S., Tyler C.R. Health impacts of estrogens in the environment, considering complex mixture effects. Environ Health Perspect. 2007;115(12):1704-1710.

Gagne F., Blaise C., Andre C. Occurrence of pharmaceutical products in a municipal effluent and toxicity to rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. Ecotoxicol Environ Saf. 2006;64:329-336.

Gravato C., Santos M.A. *Dicentrarchus labrax* biotransformation and genotoxicity responses after exposure to a secondary treated industrial/urban effluent. Ecotoxicol Environ Saf. 2003;55:300-306.

Hashimoto T., Murakami T. Removal and degradation characteristics of natural and synthetic estrogens by activated sludge in batch experiments. Water Res. 2009;43:573-582.

Hoeger B., Hitzfeld B., Kollner B., Dietrich D.R., van den Heuvel M.R. Sex and low-level sampling stress modify the impacts of sewage effluent on the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immune system. Aquat Toxicol. 2005;73:79-90.

Johnson A.C., Belfroid A., Di Corcia A. Estimating steroid estrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. Sci. Total Environ. 2000;256:163-173.

Johnson A.C., Chen Y. Does exposure to domestic wastewater effluent (including steroid estrogens) harm fish populations in the UK? Sci Total Environ. 2017;589:89-96.

Liney K.E., Hagger J.A., Tyler C.R., Depledge M.H., Galloway T.S. Health effects in fish of long-term exposure to effluents from wastewater treatment works. Environ Health Perspect. 2006;114:81-89.

Mierzwa J.C., Aquino S.F.E., Veras L.R.V. Remoção de Desreguladores Endócrinos. In: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, Edital 5 (PROSAB 5). Remoção de microorganismos emergentes e micro contaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano. Valter Lucio de Pádua (coordenador). Rio de Janeiro: ABES; 2009.

Moraes N.V., Grando M.D., Valerio D.A.R., Oliveira D.P. Exposição ambiental a desreguladores endócrinos: alterações na homeostase dos hormônios esteroidais e tireoideanos. Rev Bras Toxicol. 2008;21(1):1-8.

Moura J.A. Estudo da eficiência de estações de tratamento de esgoto - ETE e estações de tratamento de água - ETA na eliminação de resíduos de estrógenos naturais e sintéticos na UGRHI-13 (Tietê-Jacaré). Tese (Doutoradoem Química/ Química Analítica), Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista; 2009.

Muller M., Rabenoelina F., Balaguer P., Patureau D., Lemenach K., Budzinski H., Barceló D., Alda M.L., Kuster M., Delgenès J.P., Hernandez-Raquet G. Chemical and biological analysis of endocrine-disrupting hormones and estrogenic activity in an advanced sewage treatment plant. *Environ Toxicol Chem.* 2008;27(8):1649-1658.

Nelson E.D., Do H., Lewis R.S., Carr S.A. Diurnal variability of pharmaceutical, personal care product, estrogen and alkylphenol concentrations in effluent from a tertiary wastewater treatment facility. *Environ Sci Technol.* 2011;45(4):1228-1234.

Purdom C., Hardiman P., Bye V., Eno N., Tyler C., Sumpter J., Routledge E.J. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry and Ecol.* 1994; 8:275-285.

Reis Filho R.W., Araújo J.C.D., Vieira E.M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. *Química Nova.* 2006;29(4):817-822.

Routledge E.J., Sheahan D.C., Brighty C.G., Waldock M.E., Sumpter J.P. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environ Sci Technol.* 1998;32(11):1559-1565.

Saeed T., Al-Jandal N., Abusam A., Taqi H., Al-Khabbaz A., Zafar J. Sources and levels of endocrine disrupting compounds (EDCs) in Kuwait's coastal areas. *Mar Pollut Bull.* 2017;pii: S0025-326X(17)30216-3.

Sim W.J., Lee J.W., Shin S.K., Song K.B., Oh J.E. Assessment of fates of estrogens in wastewater and sludge from various types of wastewater treatment plants. *Chemosphere.* 2011;82(10):1448-1453.

Slabaugh M.R., Seager S.L. *Organic and Biochemistry for Today* (6th ed.). Pacific Grove: Brooks Cole; 2007.

Sole M., Raldua D., Barcelo D., Porte C. Long-term exposure effects in vitellogenin, sex hormones, and biotransformation enzymes in female carp in relation to a sewage treatment works. *Ecotoxicol Environ Safety.* 2003;56:373-380.

Souza J.B.G. Estudo da ocorrência de tetraciclina e estrógenos em água superficial, subterrânea e esgoto tratado na cidade de Campo Grande (MS). Tese (Doutoradoem Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista; 2008.

Stumpf M., Ternes T.A., Wilken R.D., Rodrigues S.V., Baumann W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci Total Environ.* 1999;225(1-2):135-141.

Suárez S., Carballa M., Omil F., Lema J.M. How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters? *Rev. Environ Sci Biotechnol.* 2008;7:125-138.

Sumpter J.P., Johnson A.C. Response to comment on lessons from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. *Environ Sci Technol.* 2006;40:1086-1087.

Ternes T.A., Stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R.D., Servos M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci Total Environ.* 1999;225:81-90.

Tollefsen K.E., Harman C., Smith A., Thomas K.V. Estrogen receptor (ER) agonists and androgen receptor (AR) antagonists in effluents from Norwegian North Sea oil production platforms. *Marine Pollution Bull.* 2007;54:277-283.

Witorsch R.J., Thomas J.A. Personal care products and endocrine disruption: a critical review of the literature. *Crit Rev Toxicol.* 2010;40:1-30.

Yasuda M.T., Sakakibara H., Shimoi K. Estrogen and stress-induced DNA damage in breast cancer and chemo prevention with dietary flavonoid. *Genes Environ.* 2017;39:10. doi: 10.1186/s41021-016-0071-7.

Ying G.G., Kookana R.S., Kumar A., Mortimer

M. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queen Island. *Sci Total Environ.* 2009;407:5147-5155.

Ying G.G., Kookana R.S., Ru Y.J. Occurrence and fate of hormones steroids in environment.

Environ Internat. 2002;28:545-551.

Zorita S., Mårtensson L., Mathiasson L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Sci Total Environ.* 2009;407:2760-2770.