



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

ALLYSON QUEIROZ DA SILVA

**Impacto de contaminantes emergentes em estuários urbanizados: efeitos em organismos
não-alvos e avaliação de risco ecológico**

FORTALEZA

2019

ALLYSON QUEIROZ DA SILVA

Impacto de contaminantes emergentes em estuários urbanizados: efeitos em organismos não-alvos e quantificação

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de doutor em Ciências Marinhas Tropicais.
Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos.**

Orientador: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

Co-orientador: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S578i Silva, Allyson Queiroz da.
Impacto de contaminantes emergentes em estuários urbanizados : efeitos em organismos não-alvos e avaliação de risco ecológico / Allyson Queiroz da Silva. – 2019.
115 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa.
Coorientação: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.

1. Contaminantes emergentes. 2. Risco ambiental. 3. Toxicidade aguda. 4. Toxicidade crônica. I. Título.
CDD 551.46

ALLYSON QUEIROZ DA SILVA

Impacto de contaminantes emergentes em estuários urbanizados: efeitos em organismos não-alvos e quantificação.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais.

Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos.

Data da aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Luis Ernesto Arruda Bezerra (membro interno)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a. Dr^a. Letícia Veras Costa Lotufo (membro externo)
Instituto de Ciências Biomédicas – ICB/USP

Prof^a. Dr^a. Janisi Sales Aragão (membro externo)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Prof^a. Dr^a. Carla Bastos Vidal (membro externo)
Centro Universitário Unifanor – UniFanor Wyden

**Aos meus pais,
Edilson Alves e Maria Socorro
por me possibilitarem chegar até aqui,
pelo amor incondicional e confiança nas minhas escolhas.
DEDICO.**

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Ceará (UFC) por me acolher e proporcionar quatro anos de muito aprendizado e crescimento profissional. Agradecimento em especial ao Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) que por muito tempo foi minha segunda casa ao longo de toda minha caminhada acadêmica, de no mínimo 8 anos.

A todo o corpo técnico administrativo que compõe a UFC e o LABOMAR que sempre se mostraram solícitos quando preciso.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico (FUNCAP) pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais (PPGCMT) e a todo o seu corpo docente que acrescentaram substancialmente a minha formação acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa que topou essa minha empreitada no doutorado e que sempre esteve de prontidão, fosse por email, whatsapp ou facebook, para sanar minhas dúvidas, dar mais ideias para o trabalho, corrigir paper, assinar documentos e tantas outras coisas. O sr. é exemplo de profissional a ser seguido, principalmente pelo seu lado de engajamento social, por romper as barreiras do muro da academia e levar conhecimento para a sociedade. É exemplo de ser humano também. Num meio acadêmico onde sempre se busca alcançar “tantas e tantas” publicações em revistas conceituadas, por vezes o lado humano é deixado de lado, e a busca desenfreada por números acaba cegando as pessoas e fazendo com que esqueçam que estão lhe dando com seres humanos, que são passíveis de altos e baixos na vida. Graças a Deus, você não é um desses “cegos”. Empatia e Ensino são essenciais na prática docente, e isso você tem de sobra. **MUITO OBRIGADO por TUDO**, principalmente quando precisei dar uma pausa no meu caminho!!!! **GRATIDÃO!!!!**

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante por auxiliar um biólogo a se aventurar pelo mundo da química analítica e por permitir o usufruir da estrutura do Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos (Lacor).

Ao Prof. Dr. Diego Veras Wilke por permitir o uso do Laboratório de Bioprospecção e de Biotecnologia Marinha (Labbmar) para realizar parte dos testes de ecotox. GRATIDÃO Diego!!!

Aos integrantes do Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática (NEPEA) da Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista (UNESP – São Vicente), em especial a Carol Feitosa, Guacira de Figueiredo e a Gabriela Daniel por sempre me receberem tão bem na Baixada Santista e me ajudarem nos testes com ouriços e copépodos. GRATIDÃO!!!!

Aos integrantes do Laboratório de Ecotoxicologia da Unisanta por auxiliarem na montagem e finalização dos testes de ouriço.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Nascimento coordenador do Laboratório de Análises de Traços (Lat) por me permitir utilizar o HPLC para as análises das amostras. Agradecer também ao Jhonyson Arruda e a Rouse Costa pela paciência e disponibilidade em tirar minhas dúvidas sobre o funcionamento do HPLC e tantas outras dúvidas.

Aos integrantes do Lacor, em especial a Gabrielle Melo (Gabi) e ao Davi Martins pelo auxílio nas coletas. Gabi MUITO OBRIGADO por sempre abrir meus caminhos quando milhares de dúvidas teimavam em se instalar na minha cabeça, e você com tanta paciência e doçura acalmava meu juízo!!! GRATIDÃO!!

A Paula Jimenez por sempre me receber com tanto carinho na sua casa nas minhas idas a tão querida baixada santista. GRATIDÃO Paulinha!!!

As minhas coordenadoras Lea Campos e Arlene Paiva por sempre me ajudaram quando era necessário me ausentar da sala de aula para poder dar prosseguimento às etapas do doutorado (aulas, seminários e experimentos). Obrigado por sempre compreenderem. GRATIDÃO!!!
Aos meus companheiros de sala de professores pelas conversas de cunho pedagógico, político e as mais aleatórias possíveis. Talvez não tenham noção disso, mas nesses momentos vocês me ajudavam muito!!! GRATIDÃO MEU QUERIDOS RESTRITOS!!!!!!

Aos meus alunos que hoje estão no 2º ano, em especial ao 2º MED. Todos vocês acompanharam integralmente a minha jornada no doc. Embora não tivessem noção dos experimentos e análises que fiz, vocês sempre se interessavam em saber com o que eu estava trabalhando, perguntavam como estava o andamento do cronograma de disciplinas, seminários, experimentos e das minhas viagens para Santos. Fizem até trabalhos sobre o bisfenol-A...lembram?! Muito obrigado pelas palavras de incentivo e a preocupação que sempre demonstravam com meu doc. Vocês foram parte nisso tudo, principalmente na minha formação de professor. GRATIDÃO!!!!

Aos meus amigos Helenísticos (Jamys, Livia, Évila, Elthon, Marcela e Larissa) pelas conversas jogadas fora e pelo companheirismo. Embora o contato não seja mais tão frequente, já que a vida nos conduziu para rumos distintos, o prazer de ter vocês no meu círculo de amizade é imenso. Vocês são meu presente da ECOTOX!!! Levo cada um de vocês no meu coração!!! GRATIDÃO!!!!

Aos meus queridos do MEU MELHOR GRUPO (Marcionília, Alan, Elthon, Eveline, Évila, Larissa, Luciana, Paulinha e Renan)!!!! Vocês fizeram meus dias tensos na frente do HPLC se tornarem mais alegres, em especial com as risadas do Renan Vandre, vulgo Daku!!!! GRATIDÃO!!!

A Livia Pitombeira e Jeanylle Nilin por serem sempre essas pessoas que são!!!! Por me inspirarem na ECOTOX!!! E mais ainda por terem me ajudado me escutando e aconselhando quando eu precisei!!!! GRATIDÃO!!!!

A minha irmã Allysiane, meu avô José Bandeira, meu cunhado Thiago Marden e principalmente aos meus pais Edilson e Socorro que sempre estiveram ao meu lado e me apoiando durante esses quatro anos de doutorado. Durante minha formação acadêmica, desde a graduação até hoje, eles se mostraram presentes e participativos, se preocupando quando eu estava esperando o HPLC voltar a funcionar ou quando algum experimento não estava dando certo e vibrando quando terminava a escrita de algum capítulo da tese ou quando um artigo era aceito para publicação. Sou grato a DEUS por ser parte de vocês dois!!!! Amos vocês!!!!

“...Runners, until the race is run...”
(Chris M., Guy B., Jonny B. e Will C.)

RESUMO

As atividades antrópicas realizadas em regiões costeiras resultam na produção e liberação de resíduos, como efluentes industriais, hospitalares ou domésticos, que acabam atingindo o meio aquático. Entre os contaminantes presentes nos efluentes urbanos, os chamados contaminantes de preocupação emergente (CPE) têm recebido grande atenção da comunidade científica nos últimos anos. Os CPE são substâncias provenientes da atividade doméstica, agropecuária ou industrial, as quais não possuem regulação nas legislações ambientais e que vêm sendo encontradas em múltiplos compartimentos ambientais em concentrações traços. A categorização desse grupo abrange a classe de fármacos, hormônios, produtos de desinfecção, antissépticos, produtos de uso pessoal, retardantes de chamas, estimulantes (cafeína), entre outros. O presente trabalho buscou avaliar os efeitos tóxicos de três CPE (o hormônio etinil estradiol - EE2, o fármaco ácido acetil salicílico – AAS, e o bisfenol-A - BPA) em organismos marinhos e quantificar os mesmos, além da cafeína (CAF) em três estuários situados na região metropolitana de Fortaleza (RMF) para assim estimar o risco ecológico dessas substâncias nesses ecossistemas. A toxicidade dos CPE estudados foi mensurada através de testes de toxicidade aguda e crônica. Os valores de CL_{50} calculados nos testes de toxicidade aguda em microcrustáceos mostraram que os compostos foram mais tóxicos para *M. juniae* do que para *Artemia* sp. Entre os três contaminantes, o EE2 foi o mais tóxico ($CL_{50-48h} = 18,4 \pm 2,7 \text{ mg.L}^{-1}$ para *Artemia* sp.; $CL_{50-96h} = 0,36 \pm 0,07 \text{ mg.L}^{-1}$ para *M. juniae*). Os três compostos testados afetaram significativamente o desenvolvimento embrionário do ouriço-do-mar em todas as concentrações testadas, incluindo as mais baixas e de relevância ecológica. Na etapa de quantificação de CPE em amostras de água dos estuários dos rios Ceará, Cocó e Pacoti, foi analisado também o composto CAF. Os resultados indicaram que os rios analisados apresentavam CAF e BPA nas amostras da coluna de água e que as concentrações de tais compostos variaram de 231,1 – 427,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para CAF e de 71,6 – 188,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para BPA. Com base nesses valores e nos dados de efeitos desses compostos em organismo não alvo foi feita a análise de risco ecológico para cada um dos rios. A avaliação de risco ecológico sugere que os três rios apresentam risco ambiental, portanto a biota associada a esses locais está susceptível aos efeitos adversos causados pela CAF e BPA.

Palavras-chave: Contaminantes emergentes; Risco ambiental; Toxicidade aguda; Toxicidade crônica.

ABSTRACT

Anthropic activities carried out on coastal regions result in the production and release of wastes, such as industrial, hospital and domestic effluents, which end up reaching the aquatic environment. Among the contaminants present in urban effluents, the so-called contaminants of emerging concern (CECs) have received great attention from the scientific community in recent years. CECs are substances from domestic, agricultural or industrial activities that have been found in multiple environmental compartments in trace concentrations. This group of substances includes pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), hormones, disinfection products, antiseptics, some pesticides and biocides, flame retardants, stimulants (caffeine), among others. The present study aimed to evaluate the toxic effects of three CECs (the hormone ethinyl estradiol - EE2, the drug acetylsalicylic acid ASA and the bisphenol-A - BPA) on marine organisms and to quantify them, in addition to caffeine (CAF), in three estuaries from the metropolitan area of Fortaleza (RMF) to estimate the environmental risks associated to these substances. The toxicity of the studied CECs was measured by acute and chronic toxicity tests using marine invertebrates. LC_{50} values calculated in the acute toxicity tests with microcrustaceans showed that the compounds were more toxic to *M. juniae* than to *Artemia* sp. Among the three contaminants tested, EE2 was the most toxic ($LC_{50-48h} = 18.4 \pm 2.7 \text{ mg.L}^{-1}$ to *Artemia* sp.; $LC_{50-96h} = 0.36 \pm 0.07 \text{ mg.L}^{-1}$ to *M. juniae*). The three compounds significantly affected the embryonic development of the sea urchins at all concentrations tested, including the lowest and those of ecological relevance. The CECs, including also CAF, were quantified in water samples from the estuaries of the Ceará, Cocó and Pacoti rivers. The results indicated that the rivers analyzed presented CAF and BPA in the water column samples and that the concentrations of such compounds ranged between $231.1 - 427.1 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ for CAF and from $71.6 - 188.9 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ for BPA. Based on the environmental concentrations and the toxicity of these compounds to non-target organisms, ecological risk analysis was performed for the studied rivers, indicating that all of them are under high environmental risk, since the local biota is likely to suffer adverse effects due to CAF and BPA.

Keywords: Emerging contaminants; Environmental risk; Acute toxicity; Chronic toxicity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Evolução do número de pesquisas sobre contaminantes emergentes tendo como referência a base de dados <i>Science direct</i>	28
FIGURA 2	Esquema da principal via de entrada dos contaminantes emergentes (CE) em ecossistemas aquáticos. (Fonte: Autor)	29
FIGURA 3	Microcrustáceo <i>Artemia</i> sp. utilizado nos bioensaios de toxicidade aguda.....	55
FIGURA 4	Microcrustáceo <i>Mysidopsis juniae</i> utilizado nos bioensaio de toxicidade aguda (Fonte: Acervo pessoal)	57
FIGURA 5	Ouriço do mar <i>Echinometra lucunter</i> utilizado nos bioensaios de toxicidade crônica. À esquerda ouriço do mar macho liberando espermatozoides pelos gonóporos. (Fonte: Acervo pessoal)	58
FIGURA 6	Formas embrionárias de <i>E. lucunter</i> , mostrando uma larva pluteus normal (A), larva com desenvolvimento retardado, como blástula (B), gástrula (C), prisma (D), embrião jovem (E) e larvas malformadas (F,G e H) larvae (F, G and H). (Fotos B, C, D, F e H - cortesia do Dr. Fernando Perina).....	60
FIGURA 7	Copépodo <i>Nitocra</i> sp. utilizado nos bioensaios de toxicidade crônica. (Fonte: goo.gl/FTgWtd)	61
FIGURA 8	Copépodo <i>Nitocra</i> sp. (A – náuplio; B – copepodito; C – fêmea) (Fonte: NEPEA).....	62
FIGURA 9	Desenvolvimento embrio-larval do ouriço do mar <i>E. lucunter</i> exposto aos compostos analisados (A – AAS, B – BPA e C – EE2). As concentrações usadas foram expressas em $\mu\text{g.L}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$).....	65
FIGURA 10	Porcentagem de sobrevivência do copépodo <i>Nitocra</i> sp. exposto a sedimento contaminado (A – AAS, B – BPA e C – EE2). As concentrações utilizadas foram expressas em $\mu\text{g.g}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$)	66
FIGURA 11	Número total da prole de <i>Nitocra</i> sp. expostos a sedimento contaminado (A – AAS, B – BPA e C – EE2). As concentrações utilizadas foram expressas em $\mu\text{g.g}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$).....	66
FIGURA 12	Sistema utilizado para a etapa de filtração das amostras de água (Fonte: autor)	91
FIGURA 13	Sistema utilizado para a extração em fase sólida.....	91
FIGURA 14	Cromatogramas de amostra isenta dos analitos de interesse e amostra dopada.....	96

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Propriedades físico-químicas dos compostos analisados.....	54
TABELA 2	Resumo das condições necessárias para teste de toxicidade aguda com <i>Artemia</i> sp.....	56
TABELA 3	Resumo das condições necessárias para teste de toxicidade aguda com <i>M. juniae</i>	58
TABELA 4	Resumo das condições necessárias para teste de toxicidade crônica com <i>E. lucunter</i>	60
TABELA 5	Resumo das condições necessárias para teste de toxicidade crônica com <i>Nitocra</i> sp.....	62
TABELA 6	Valores calculados de CL ₅₀ para o 17 α -etinilestradiol (EE2), bisfenol-A (BPA) e ácido acetilsalicílico (ASA) em <i>Artemia</i> sp. e <i>Mysidopsis juniae</i> . Os dados correspondem à média \pm desvio padrão. Os resultados são expressos em mg.L ⁻¹	64
TABELA 7	Taxa de fertilidade de fêmeas de <i>Nitocra</i> sp. expostas a sedimento contaminado. As concentrações utilizadas foram expressas em $\mu\text{g.g}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$).....	67
TABELA 8	Valores estimados de PNEC (<i>Predicted no-effect concentration</i>) e CR (Coeficiente de risco) dos compostos 17 α -etinilestradiol (EE2), bisfenol-A (BPA) e ácido acetilsalicílico (AAS) para os bioensaios de toxicidade aguda e crônica.....	67
TABELA 9	Localização dos pontos de amostragem.....	89
TABELA 10	Parâmetros de avaliação do método cromatográfico. Os valores LD e LQ são expressos em mg.L ⁻¹	97
TABELA 11	Parâmetros de avaliação do método cromatográfico. Determinação da precisão do método a partir do coeficiente de variação (CV).....	98
TABELA 12	Concentrações dos analitos de interesse em amostras de água. Valores das concentrações expressos em $\mu\text{g.L}^{-1}$	98
TABELA 13	Valores estimados de PNEC (<i>Predicted no-effect concentration</i>) e CR (Coeficiente de risco) dos compostos bisfenol-A (BPA) e cafeína (CAF) para os rios Ceará (RC), rio Cocó (RCC) e rio Pacoti (RP).....	100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
ACN	Acetonitrila
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
As	Arsênio
BPA	Bisfenol A
CAF	Cafeína
CAM	Concentração ambiental medida
CE ₅₀	Concentração de efeito 50%
CENO	Concentração de efeito não observado
CEO	Concentração de efeito observado
CEs	Contaminantes emergentes
CL ₅₀	Concentração letal média 50%
COX	Cicloxigenase
CPEs	Contaminantes de preocupação emergentes
CR	Coeficiente de risco
DBO	Demanda biológica de oxigênio
DDT	Dicloro-difenil-tricloetano
DEQ	Desreguladores endócrinos químicos
DEQ	Desreguladores Endócrinos Químicos
DEs	Desreguladores endócrinos
DMSO	Dimetilsulfóxido
ECHA	Agência Europeia de Produtos Químicos
EE2	17 α -etinilestradiol
ETE	Estações de tratamento de esgoto
FPCP	Fármacos e produtos de cuidado pessoal
KCl	Cloreto de potássio
MeOH	Metanol
OD	Oxigênio dissolvido
Pb	Chumbo
PGs	Prostaglandinas
PNEC	Predicted No Effect Concentration
QR	Quociente de risco
SDS	Dodecil sulfato de sódio

Sumário

INTRODUÇÃO	15
REVISÃO DE LITERATURA	19
Zonas costeiras	19
Estuários da zona metropolitana de Fortaleza	21
Estuário do rio Cocó	21
Estuário do rio Pacoti	23
Estuário do rio Ceará.....	25
Contaminantes emergentes.....	27
Fármacos no meio ambiente.....	30
Desreguladores endócrinos no meio ambiente.....	32
Avaliação de risco no ambiente.....	34
OBJETIVOS.....	36
Objetivo geral	36
Objetivos específicos	36
REFERÊNCIAS	37
CAPÍTULO I.....	48
1.1 Introdução.....	51
1.2 Materiais e métodos	54
1.2.1 Reagentes	54
1.2.2.1 Teste de toxicidade aguda com <i>Artemia</i> sp.....	55
1.2.2.2 Teste de toxicidade aguda com <i>Mysidopsis juniae</i>	56
1.2.2.3 Teste de toxicidade crônica com <i>Echinometra lucunter</i>	58
1.2.2.4 Teste de toxicidade crônica com <i>Nitocra</i> sp.	61
1.3 Análise de dados	63
1.4. Resultados	64
1.4.1 Bioensaios de toxicidade aguda.....	64
1.4.2. Bioensaios de embriotoxicidade	64
1.4.3. Bioensaios de fecundidade	65
1.4.4. Risco ambiental	67
1.4 Discussão	68
1.5 CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS	73
CAPÍTULO II.....	84

2.1	Introdução.....	87
2.2	Materiais e métodos	89
2.2.1	Reagentes	89
2.2.2	Amostragem.....	89
2.2.3	Preparo das amostras.....	90
2.2.4	Identificação dos analitos de interesse.....	92
2.2.5	Controle de qualidade do método cromatográfico.....	92
2.2.5.1	Seletividade	92
2.2.4.2	Controle de qualidade do método cromatográfico.....	93
2.2.6	Análise dos dados.	95
2.3	RESULTADOS.....	96
2.3.1	Controle de qualidade do método cromatográfico.....	96
2.3.2	Determinação dos compostos de interesse.....	98
2.3.3	Avaliação de risco ecológico	99
2.4	DISCUSSÃO	100
2.4.1	Parâmetros cromatográficos.	100
2.4.2	Contaminação.....	101
2.4.3	Avaliação de risco ecológico	106
2.5	CONCLUSÃO	108
	REFERÊNCIAS	109

INTRODUÇÃO

A poluição do meio ambiente não é um evento contemporâneo em nossa sociedade, ela já estava presente desde os primórdios da civilização. Os primeiros relatos e evidências que se têm sobre isso nos conduzem à Grécia e a Roma antiga onde os excrementos humanos e a exploração das minas de chumbo (Pb), que já eram efetuadas em larga escala, contribuíam para a contaminação dos corpos hídricos receptores (PHILIP, ARAVIND, ARAVINDAKUMAR, 2018; SAUVÉ, DESROSIERS, 2014).

Depois do Pb tivemos o advento da poluição por arsênio (As) mediante a exploração das minas e do uso de pesticidas (ALAM, FARHA, ZAMAN, 2015), que foram substituídos tão logo houve o conhecimento do seu potencial tóxico. Os pesticidas à base de As foram trocados pelo então inseticida moderno dicloro-difenil-tricloetano (DDT) que anos mais tarde foi banido em virtude dos seus efeitos negativos sobre a vida selvagem e a saúde humana (PURNOMO *et al.*, 2011; SAUVÉ, DESROSIERS, 2014).

A pequena cronologia estabelecida acima culmina nos dias de hoje com a preocupação da comunidade científica e dos órgãos ambientais em identificar os “novos” xenobióticos, e saber se eles representam risco ao ambiente e ao próprio homem. Essa preocupação veio despontar através de estudos da caracterização de efluentes liberados pelas estações de tratamento de esgotos e efluentes que revelaram a presença de uma miríade de compostos antropogênicos (GOGOI *et al.*, 2018).

A entrada desses “novos” xenobióticos mediante a ação humana, seja ela direta ou indireta, em ambientes marinhos e, por conseguinte seguindo-se em prejuízos a qualidade da água, a saúde humana e à biota associada é configurado como poluição marinha (JÚNIOR *et al.*, 2009; WILHELMSSON *et al.*, 2013).

As zonas costeiras ao redor do mundo são conhecidas por abrigarem grandes metrópoles, e por isso são os locais onde encontramos adensamentos urbanos, frequentemente erguidos sem qualquer tipo de planejamento. Desse modo, essas regiões são mais susceptíveis aos impactos ambientais referentes às atividades antrópicas inerentes aos centros urbanos que elas abrangem (DIAS *et al.*, 2013).

O Brasil não se mostra diferente de outros países no que se refere à ocupação da sua zona costeira. Com dimensões continentais de cerca de 7.400 Km de extensão, a região costeira brasileira (IBGE, 2011) está sujeita à expansão urbana e a atividades econômicas, de diversas naturezas, o que por sua vez conduz essas áreas a condição de vulnerabilidade ambiental.

As atividades antrópicas praticadas nas regiões costeiras têm como resultado a produção de rejeitos líquidos denominados de efluentes, podendo eles ser de origem doméstica, hospitalar ou industrial. Tais efluentes, que naturalmente apresentam uma composição complexa de contaminantes (KIBRIA *et al.*, 2016; VIKAS, DWARAKISH, 2015), são liberados no meio ambiente aquático, seja após terem passado por tratamento ou não.

O aumento populacional, não restrito apenas às regiões costeiras, fomentou nas últimas décadas o crescente consumo de fármacos e produtos de cuidado pessoal (FPCP) e, indiretamente de outros compostos inseridos na manufatura de diversos itens, entre eles os plásticos. Atrelado a isso, o desenvolvimento da indústria cosmética, farmacêutica, agroquímica e química também promoveu, e ainda promove, a síntese de novos compostos de uso diário (STARLING *et al.*, 2019).

As abordagens dos estudos acerca da poluição de matrizes aquáticas costeiras têm como objetivo a determinação de compostos, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), pesticidas, bifenilas policloradas (PCBs), metais pesados, entre outros (TOMIYASU *et al.*, 2006; WITT, 2002; BAKAN, ARIMAN, 2004). Por ser um método adotado há anos, já foram elaboradas diretrizes que regulam tais contaminantes no meio ambiente. Entretanto, novas diretrizes precisam ser estabelecidas para os “novos” compostos que veem sendo encontrados, principalmente os denominados de contaminantes emergentes (CE).

A USEPA (2008) em vez de usar o termo CE, chama-os de Contaminantes de Preocupação Emergente (CPE), os quais incluem fármacos, poluentes orgânicos resistentes, nanomateriais, desreguladores endócrinos (DE) e produtos de cuidado pessoal. Todos esses já vêm sendo encontrados em concentrações traços em águas superficiais, mas que são suficientes para ocasionar alterações sobre a reprodução de organismos não-alvo. A USEPA (2008) também afirma que embora atualmente essas substâncias não estejam inseridas nas rotinas de monitoramento ambiental elas podem ser fortes candidatas a se tornarem alvos de legislações, sendo assim estabelecidos limites máximos permissíveis à manutenção da qualidade do meio ambiente.

Os CE compreendem um grupo de compostos sintéticos e naturais de caráter orgânico que são consumidos diariamente pela população, tais como fármacos de uso humano ou veterinário, plastificantes, retardantes de chama e os produtos de higiene pessoal (LAPWORTH *et al.*, 2012; RODRIGUEZ-NARVAEZ *et al.*, 2017; TAHERAN *et al.*, 2018). Por terem seu consumo ininterrupto pela sociedade, haja visto que se tornaram indispensáveis para o seu bem estar, os CE se tornaram objeto de preocupação ambiental (TAHERAN *et al.*,

2018; WILKINSON *et al.*, 2017). Estudos começaram a indicar a presença destes compostos, numa faixa de concentração de ng.L^{-1} a $\mu\text{g.L}^{-1}$, em matrizes ambientais e em efluentes de estações de tratamento de esgoto (EBELE, ABDALLAH, HARRAD, 2017; LÓPEZ-SERNA, PETROVIC, BARCELÓ, 2012; PEREIRA *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2016), indicando que o desenho dessas estações não previa a presença dos CE, e portanto a tecnologia empregada não era suficiente para eliminar tais compostos.

A detecção de CE no meio ambiente, mesmo em baixas concentrações, despertou nos pesquisadores a preocupação sobre as implicações que esses compostos como, por exemplo, os fármacos, poderiam ocasionar aos organismos aquáticos não-alvo (FLINT *et al.*, 2012; TAHERAN *et al.*, 2018).

Os fármacos são compostos que foram sintetizados para atuar em vias metabólicas do corpo humano (FENT, WESTON, CAMINADA, 2006), ou seja, são moléculas biologicamente ativas. Contudo, processos metabólicos similares são encontrados em organismos de grupos taxonômicos diversos, o que pressupõe que os fármacos interagem com eles e que poderiam ocasionar algum tipo de efeito, seja ele de magnitude crônica ou mesmo aguda (GUNNARSSON *et al.* 2008).

Outros CE, como os plastificantes, são considerados de risco ao meio ambiente, pois têm a capacidade de alterar a interação entre os hormônios naturais e seus respectivos receptores em organismos não-alvo (MONNERET, 2017) conduzindo os organismos à alterações em sua homeostase. Esse modo de ação é uma característica inerente de compostos denominados de desreguladores endócrinos (MONNERET, 2017; PLANELLO, MARTÍNEZ-GUITARTE, MARCILLO, 2008).

Os CE podem representar potencial risco para os ambientes aquáticos, que são seu sorvedouro final, portanto faz se necessário procurar meios para prevenir ou mitigar tais riscos. Entretanto, conduzir um estudo de risco para CE requer a disponibilidade de dados a respeito do sua presença e do seu efeito na biota, o que na maioria das vezes se mostra limitado ou mesmo inexistente (RICHARDSON, KIMURA, 2017).

As análises de risco são ferramentas oportunas para averiguar se as atividades antrópicas, ou os seus resultados, podem gerar algum tipo de perturbação no meio ambiente. As avaliações de risco são conduzidas com base nas exposições de organismos pré-selecionados, e nos efeitos de algum tipo estressor (agente químico, físico ou biológico) sobre organismos (VAN-LEEUVEN, 2003). Sendo assim, é por intermédio dos resultados das avaliações de risco que se pode identificar ou prever alguma potencial ameaça que um agente

estressor possa representar ao meio ambiente, e assim auxiliar no balizamento de decisões dos órgãos ambientais (USEPA, 1992).

Os primeiros estudos de avaliação ambiental indicaram que peixes estavam sofrendo feminização por consequência da exposição a substâncias de ação estrogênica, como os alquilfenóis (HARRIES *et al.*, 1997; JOBLING *et al.*, 1998) o que fez com que a preocupação com essa categoria de contaminantes aumentasse. Desta forma, as avaliações de risco envolvendo esses compostos passaram a ser fundamentais, em vista do perigo que tais substâncias representam à biota e a sua marcante presença em amostras ambientais (FROEHNER *et al.*, 2012; LEI *et al.*, 2009; ZUO, ZHANG, DENG, 2006).

Assim sendo, se faz necessário compreender o risco ambiental dos CE em ambientes costeiros, por se tratarem do destino final dessas substâncias. O presente estudo buscou avaliar o risco ambiental que três CE (17 α -etinilestradiol, ácido acetilsalicílico e bisfenol A) representam para estuários da região metropolitana de Fortaleza – CE, com base nos seus efeitos tóxicos sobre organismos modelos e na sua mensuração em compartimentos ambientais.

REVISÃO DE LITERATURA

Zonas costeiras

As zonas costeiras compreendem as regiões limítrofes entre as massas oceânicas e os continentes e têm como característica inerente a intensa interação e dinamismo entre os seus elementos, que por sua vez são geradores de constantes alterações morfológicas em suas feições (BARROS, 2017). Por naturalmente oferecerem serviços ecossistêmicos, essas regiões historicamente têm sido priorizadas para o estabelecimento e desenvolvimento da sociedade humana, haja vista que as principais metrópoles mundiais encontram-se em zonas costeiras ou mesmo próximo a elas (ANDRÉS, BARRAGÁN, SCHERER, 2018; BARROS, 2017).

Na América Latina e no Caribe as regiões costeiras foram fortemente ocupadas pelo homem, de tal modo que os conglomerados urbanos foram se expandindo sem o devido ordenamento, e historicamente tem sido percebido um aumento do adensamento populacional nessas áreas (ANDRÉS, BARRAGÁN, SCHERER, 2018). No Brasil é observado o mesmo padrão de assentamento da população, onde os principais centros urbanos, que juntos abrigam cerca de 30% da população do país, estão situados ao longo dos 7.367 km de extensão da zona costeira brasileira (IBGE, 2011).

Por serem áreas que naturalmente são consideradas passíveis de interferência antrópica, as regiões costeiras, bem como os ecossistemas que a compõem, vêm sofrendo forte pressão e redução da qualidade ambiental como reflexo direto da sua acentuada urbanização (ANDRÉS, BARRAGÁN, SCHERER, 2018; BARROS, 2017; SMALL, NICHOLLS, 2003).

Entre os ecossistemas integrantes das zonas costeiras estão os estuários que são caracterizados por serem regiões de transição entre o rio e o mar e que são susceptíveis à influência direta do regime de marés. A definição mais aceita para estas áreas foi elaborada por Pritchard (1967) que definiu os estuários como sendo um corpo de água costeiro semifechado que apresenta ligação direta com os oceanos, onde a água do mar é diluída pela água doce, oriunda da drenagem terrestre.

Segundo NOAA (2018) os estuários podem ser divididos quanto a sua geomorfologia, hidrodinâmica e salinidade. Contudo, é a classificação com base na salinidade que se mostra mais determinante, tendo em conta que esse fator vai sendo alterado à montante do rio, de tal modo que é estabelecido um gradiente de salinidade, que influencia diretamente no padrão de circulação das águas. Além disso, a variação da salinidade permite estabelecer a formação de

zonas de implantação de espécies, em consonância com as adaptações fisiológicas de cada uma delas. Tal classificação permitiu compreender os padrões de funcionamento dessas áreas, e assim fornecer elementos que corroborassem na construção de medidas protetivas dos estuários (BULGER *et al.*, 1993).

Os estuários, dentro do mosaico de ecossistemas que é a zona costeira, são unidades de grande relevância. Seu destaque está associado ao fato de tais regiões terem grande biodiversidade de fauna e flora, servirem de área de reprodução e alimentação para um grande número de espécies de peixes e invertebrados (incluindo espécies de interesse comercial), exibirem alta produtividade primária, transportarem nutrientes e por terem a capacidade de resiliência frente às oscilações ambientais (CAI, 2011; MIRANDA, CASTRO, KJERFVE, 2002; NOAA, 2017; RAY, McCORMICK-RAY, 2013). Além disso, eles funcionam como filtro natural do *runoff* das áreas costeiras e como barreira ou zona de amortização, impedindo que os reflexos dos eventos climáticos oceânicos se propaguem continente adentro (COELHO; HAVENS, 2015; NOAA, 2017; RAY, McCORMICK-RAY, 2013).

Os estuários têm como característica inerente a capacidade de resiliência frente a alterações naturais de parâmetros físico-químicos (NOAA, 2017). Por estarem localizadas em regiões em que a presença humana é intensa e por vezes desordenada, as zonas estuarinas sofrem diferentes formas de uso pelo homem e, por conseguinte herdam os frutos indesejados dessas atividades (COELHO, 2015).

Não são apenas as regiões costeiras que contribuem para a degradação dos estuários, mas também os centros urbanos situados no interior do continente. Por ser o ponto final das bacias de drenagem, os estuários recebem os despejos das cidades rio acima ou mesmo de bacias hídricas poluídas (MENG, LIU, 2010). Portanto, pode se afirmar que o *status* ambiental dos ecossistemas estuarinos está associado à qualidade da água e sedimentos procedentes de regiões continentais internas.

Os estuários apresentam um comportamento paradoxal, pois ao mesmo tempo em que são resilientes, eles se mostram frágeis frente à interposição da sociedade humana e suas atividades (DAVANSO *et al.* 2013; NILIN *et al.* 2013; NILIN *et al.* 2007). A depender do grau de intervenção antrópica a capacidade de resiliência é sobrepujada, e o estuário é levado a uma condição em que o seu retorno à condição ambiental inicial se torna muito difícil ou mesmo inviável (KARYDIS, 2009).

Portanto, por serem ecossistemas de grande importância ecológica, social e estarem sujeitos a mudanças contínuas, particularmente as de origem humana, faz se necessário que os estuários sejam objeto de preocupação constante da sociedade e da comunidade científica.

Estuários da zona metropolitana de Fortaleza

Estuário do rio Cocó

O estuário do rio Cocó está situado na porção oriental do município de Fortaleza e é delimitado pelos bairros Aerolândia, Jardim das Oliveiras, Salinas, Alto da Balança, São João do Tauape, Cocó, Cidade 2000, Edson Queiroz, Manoel Dias Branco, Praia do Futuro e Sabiaguaba (FREIRES *et al.*, 2014; LEAL, 2009). Esse estuário está inserido no Parque Estadual do Cocó que foi criado através do decreto de nº 22.253, de 05 de setembro de 1989, e que só teve seus limites legalmente estabelecidos no ano de 2017. Mediante essa delimitação, houve aumento na área do parque, que antes tinha 1.155,2 ha e passou a ter 1.571 ha sendo, portanto inserido no quadro das unidades de conservação de proteção integral (CEARÁ, 2017), que são amparadas por leis mais restritivas e protetivas no que diz respeito ao seu uso.

O rio Cocó, que também dá nome ao respectivo estuário, nasce no município de Pacatuba (CE), na serra da Aratanha, sendo inicialmente denominado de riacho Pacatuba. Após passar pelos municípios de Pacatuba e Maracanaú o riacho Pacatuba chega a Fortaleza, onde recebe aporte hídrico do riacho Alegrete sendo a partir daí denominado de rio Cocó. Com aproximadamente 50 km de percurso, sendo 25 km percorridos sobre influência direta da cidade de Fortaleza, o rio Cocó termina desaguando no oceano Atlântico entre as praias do Caça e Pesca e Sabiaguaba (FREIRES *et al.*, 2014; TEIXEIRA *et al.*, 2013). Tanto a bacia formada pelo rio Cocó quanto a bacia do rio Ceará são de fundamental importância ambiental (por serem abrigo de fauna e flora diversa) e econômica (servirem de fonte de renda para população ribeirinha e atração turística) para a população da região metropolitana de Fortaleza – RMF.

O estuário formado pelo rio Cocó corresponde a uma região de planície fluvio-marinha que apresenta indícios da influência da dinâmica das marés, pelo menos por duas vezes ao dia, sendo isso verificado mediante a flutuação da salinidade do sedimento e da coluna d'água diariamente. Essa região estuarina tem a extensão de 13 km de distância partindo da foz do rio a montante, tendo como limite a ponte da rodovia da BR-116, localizada no bairro da Aerolândia (TEIXEIRA *et al.*, 2013). Nesse percurso as feições fisiográficas observadas são de matas ciliares, composta por vegetação do tipo *Laguncularia racemosa* (mangue branco), *Rhizophora mangle* (mangue vermelho), *Avicennia shaueriana* (mangue preto) e *Conocarpus erecta*, regiões de salinas e dunas fixas e móveis (RIOS, 2009;

SEMA, 2016). A fauna abrigada pelo mangue do rio Cocó é heterogênea e composta por peixes, moluscos, aves e crustáceos, como siris, camarões e caranguejos (RIOS, 2009; SEMA, 2016).

A cidade de Fortaleza, no decorrer dos últimos anos, tem apresentado um crescimento acentuado sendo visível pelo aumento do número de habitantes e adensamento demográfico. No ano de 2010 a população era de 2.452.185 pessoas, e para 2017 o IBGE estimou o número em 2.627.482 habitantes (IBGE, 2016). Em meio a esse crescimento, os bairros que compõem as administrações regionais V e VI, por onde rio Cocó passa, concentram juntos mais de um milhão de habitantes e correspondem às regionais em que o índice de acesso a serviço de esgotamento sanitário é desigual, como pode ser observado no bairro Castelão onde o índice de cobertura não ultrapassa 1% e no bairro Manoel Dias Branco em que índice chega a atingir 100% (CAGECE, 2016; IBGE, 2016).

Uma vez que o sistema de coleta e tratamento dos dejetos domiciliares e industriais é precário e deficiente, sejam eles líquidos ou sólidos, o meio ambiente acaba por receber integralmente essa carga de nutrientes e outros componentes. No caso do rio Cocó, assim como tantos outros rios que cortam grandes metrópoles no Brasil, os corpos hídricos acabam sendo utilizados como destino final para o despejo de dejetos e dos efluentes produzidos pelos domicílios e estabelecimentos comerciais situados às suas margens (BARBOSA *et al.*, 2012; LEAL, 2009; SILVA *et al.*, 2015).

A ocupação das margens do rio Cocó, em particular na porção do seu estuário, foi efetuada de maneira irregular e sem qualquer tipo de ordenamento por parte do estado (SILVA *et al.*, 2015), levando à supressão parcial ou integral da mata ciliar original em boa parte do estuário. A região do estuário situado próximo aos bairros da Aerolândia, Jardins das Oliveiras e São João do Tauapé reúne uma população de menor poder aquisitivo, índice de escolaridade baixo e acesso a saneamento básico deficitário. Embora algumas melhorias tenham sido feitas através da remoção de famílias de áreas de riscos e urbanização de algumas localidades, a ocupação urbana irregular e a falta de serviços de esgotamentos sanitários são fatores que impactam diretamente o estuário do rio Cocó. À jusante, nos bairros do Cocó, Luciano Cavalcante e Edson Queiroz a população residente já apresenta índice de escolaridade e poder aquisitivo mais altos e o acesso ao esgotamento sanitário é maior (FREIRES *et al.*, 2016; FREIRES *et al.*, 2014). Contudo, são observados despejos de efluentes no rio mediante ligações clandestinas de esgoto e fontes difusas relacionadas com a drenagem urbana.

Além de receberem o despejo de efluentes *in natura*, as regiões próximas ao estuário do rio Cocó sofrem com o aumento da especulação imobiliária. Em virtude da beleza cênica que o estuário proporciona, é crescente o número de empreendimentos imobiliários e empresariais, como shoppings, e até mesmo repartições ou obras públicas (executadas pelo próprio estado que tem como dever inerente impedir alterações na região estuarina), que de algum modo alteram a dinâmica do estuário e, portanto, levam a impactos ambientais.

Estudos realizados no estuário do Cocó já indicam pressão antrópica a qual o local vem sendo submetido. Duaví *et al.* (2015) ao analisar amostras de sedimento da região de estuário, de mangue e de um ponto afastado da zona urbana do rio Cocó conseguiram detectar a presença dos pesticidas (domissanitários) cipermetrina e malationa, substâncias encontradas na formulação de produtos empregados no controle de pragas urbanas. Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos também foram identificados no sedimento do mesmo estuário corroborando com a tese de que o presente ecossistema vem sendo degradado pela inserção de poluentes oriundos da atividade humana (CAVALCANTE *et al.* 2009).

Portanto, fica evidente a pressão que o estuário do rio Cocó vem sofrendo em virtude do descarte de efluentes sem tratamento prévio nos corpos hídricos e da especulação imobiliária que suprime a vegetação nativa para a construção das edificações e que assim modifica as feições naturais do estuário.

Estuário do rio Pacoti

O rio Pacoti nasce no maciço de Baturité (1.114 m acima do nível do mar), região do sertão central cearense, na cidade de nome homônimo que fica distante 118 km do município de Fortaleza. Com sua nascente na localidade de Pernambucozinho, o rio Pacoti, quando chega ao município de Redenção, recebe aporte hídrico do riacho Cana Bravo, sendo então também denominado de Rio Acarape. Nos seus 150 km de extensão o rio Pacoti passa por 11 municípios (as cidades de Guaramiranga, Pacoti, Redenção, Acarape, Guaiúba, Pacajus, Horizonte, Itaitinga, Eusébio, Aquiraz e Fortaleza), indo desaguar na porção leste do litoral cearense junto ao oceano Atlântico (BARRA *et al.*, 2014).

Inserido na bacia hidrográfica da região metropolitana de Fortaleza o rio Pacoti junto dos açudes Riachão e Gavião formam o relevante complexo Pacoti-Riachão-Gavião responsável por parte do abastecimento da RMF (CAGECE, 2016). Uma vez observada a importância do rio Pacoti para o fornecimento de água à RMF, o governo do estado do Ceará no intuito de proteger esse recurso hídrico, criou o corredor ecológico do rio Pacoti através do

decreto de nº 25.777 de 15 de Fevereiro de 2000 (CEARÁ, 2000b). A unidade criada fica entre os municípios de Aquiraz e Redenção e funciona como ligação entre a área de proteção ambiental (APA) da serra de Baturité e a APA do estuário do rio Pacoti (CEARÁ, 2000a; SEMA, 2017); ou seja, o percurso do rio encontra-se em um mosaico de áreas protegidas.

Nos municípios que compõem a bacia do rio Pacoti, vive uma população estimada de 3.021.248 habitantes (para o ano de 2017, segundo o IBGE). Embora congreguem em torno de 33% da população do estado, essas cidades ainda têm o serviço de esgotamento sanitário deficitário. Itaitinga e Pacajus, por exemplo, estão entre as cidades da bacia do Pacoti que têm o índice de esgotamento sanitário inferior a 10%, ao passo que Fortaleza e Guaramiranga apresentam índices acima de 70% (IBGE, 2016). Ainda segundo o IBGE (2016) nos outros 7 municípios os índices de esgotamento sanitário variam entre 13,6% e 46,2%. Portanto, fica evidente que mesmo sendo considerado prioritário para o abastecimento da RMF, o rio Pacoti percorre cidades que têm potencial para ocasionar a sua contaminação mediante o descarte de esgoto não tratado. A contaminação do rio Pacoti foi evidenciada no estudo de Pimentel *et al.* (2016) no qual peixes machos da espécie *Sphoeroides testudines* coletados em pontos distintos do curso do rio apresentaram alterações endócrinas (presença da proteína vitelogenina, exclusiva de fêmeas) correlacionadas com a presença de desreguladores endócrinos no sedimento.

Ainda em 15 de Fevereiro do ano de 2000 mediante o decreto de nº 25.778 foi criada a APA do rio Pacoti onde está inserido o estuário que recebe o mesmo nome (CEARÁ, 2000a). A APA abrange uma área de aproximadamente 2.915 ha, desde a foz do rio Pacoti (na confluência dos municípios de Fortaleza, Eusébio e Aquiraz) até a ponte “velha” da rodovia estadual CE-040, no município de Aquiraz (CEARÁ, 2000a). Ainda dentro dos limites da APA, especificamente no baixo curso do rio é encontrada a zona estuarina do rio Pacoti com uma área de 158 ha (SEMA, 2017). Trata-se de um estuário de composição florística comum a esse ecossistema, com a presença de *Rhizophora mangle* (mangue vermelho), *Avicennia schaueriana* (mangue preto), *A. germinans* (siribeira), *Laguncularia racemosa* (mangue branco) e *Conocarpus erectus*, porém na porção superior do estuário são encontrados na mata ciliar as espécies de *Copernicia prunifera* (carnaúba), *Cronton sonderianus* (marmeleiro) entre outros (AVILA, 2005; SOUZA, SAMPAIO, 2013).

Mesmo estando dentro de uma APA, onde o uso e ocupação do meio são controlados ou mesmo proibidos por leis, o estuário do rio Pacoti vem sendo submetido a pressões antrópicas que interferem diretamente na qualidade da água do rio e por consequência na tênue dinâmica que é inerente a esse ecossistema (NASCIMENTO; CARVALHO, 2003).

Tais intervenções são resultados do uso e ocupação do solo de modo indevido, da instalação de indústrias próximas ao recurso hídrico, e do acelerado crescimento das cidades que fazem limite com a APA sem que haja uma estrutura eficiente de rede de coleta e de tratamento de esgoto (GORAYEB, SILVA, MEIRELES, 2005).

Ao longo do curso do estuário, em particular nos municípios do Eusébio e Aquiraz, são observadas regiões em que houve a supressão da vegetação de mangue original possivelmente para utilização como combustível (fabricação de carvão) ou para a construção de imóveis. Essa descaracterização física do estuário mediante a retirada da vegetação tem formado clareiras, o que altera a composição florística natural, acelera o processo de assoreamento do rio e impacta a fauna e flora local (BARBOSA *et al.*, 2016).

Para além de alterações físicas já foram constatadas também modificações em parâmetros da qualidade da água, estabelecida pela legislação brasileira, em virtude de poluição hídrica. Nos últimos anos as cidades de Aquiraz e Eusébio apresentaram crescimento intenso com o aumento do número de residências, empreendimentos turísticos e indústrias, que por vezes são instaladas próximas ao rio Pacoti. Em consequência de um serviço de esgotamento deficitário nessas cidades os efluentes domiciliares e industriais são liberados no corpo hídrico, na maioria dos casos sem o devido tratamento, havendo a inserção de nutrientes inorgânicos, matéria orgânica, metais e outros compostos na coluna d'água como verificado por estudos realizados na área (FIUZA; LEHUGEUR; QUEIROZ, 2010; PIMENTEL *et al.*, 2016; SANTANA; COSTA-LOTUFO; ABESSA, 2015).

Portanto, é evidente que o crescimento observado nas cidades que margeiam o estuário do rio Pacoti, sem um planejamento adequado no que diz respeito à captação e tratamento dos resíduos líquidos gerados por elas, tem conduzido à redução da saúde ambiental desse ecossistema. Tal redução do *status* ambiental do estuário interfere na biota associada ou mesmo na saúde humana dos indivíduos que de algum modo fazem uso desse recurso hídrico.

Estuário do rio Ceará

Nascendo na serra de Maranguape, o rio Ceará pertencente à bacia hidrográfica da região metropolitana de Fortaleza, percorre cerca de 60 km de extensão até desaguar na região oeste do litoral cearense, sendo sua foz localizada entre as cidades de Fortaleza e Caucaia. Antes disso, ele passa pelas cidades de Maranguape, Maracanaú, Caucaia e Fortaleza, fazendo com que sua área de drenagem tenha aproximadamente 600 km² (SEMACE, 2005).

Em 29 de março do ano de 1999, por meio do decreto 25.413, foi criada a APA do estuário do rio Ceará, abrangendo uma área de 2.744,89 ha e aproximadamente 24 km², situada entre os municípios de Caucaia e Fortaleza. A justificativa para a criação da APA nessa região está alicerçada na presença do mangue que intrinsecamente apresenta valor ecológico e alta fragilidade ambiental, além de servir como atrativo para o turismo ecológico/sustentável.

A composição florística da APA do rio Ceará é marcada pelas espécies de *Rhizophora mangle*, *A. schaueriana*, *A. germinans*, *L. racemosa* e *C. erectus*. A fauna por sua vez é caracterizada pela presença de diversas espécies de moluscos, crustáceos, peixes, aves e mamíferos que utilizam o mangue como ambiente de reprodução ou alimentação.

Apesar da criação da APA, ainda pode ser observada grande influência de atividades antrópicas na região, em particular na porção referente ao município de Fortaleza. A porção da APA que faz limite com Fortaleza é marcada por alta densidade demográfica, saneamento básico deficitário e a presença de um estaleiro ainda ativo.

As ações efetuadas dentro da APA do rio Ceará, no município de Caucaia, estão principalmente relacionadas com a população ribeirinha dos bairros de Iparana, Parque Lebon, Barra do Ceará e Vila Velha. É importante salientar ainda, a presença da comunidade indígena dos Tapebas (município de Caucaia) no entorno da área. Sendo assim, as atividades praticadas nessa região incluem agricultura de subsistência, pesca artesanal, e retirada de lenha para a produção de carvão, além da navegação turística ao longo do estuário e atracação de embarcações de pequeno porte para reparos.

O principal carreador de poluentes para o rio Ceará e, por conseguinte para o estuário, é o rio Maranguapinho (principal afluente do rio Ceará) que recebe os efluentes oriundos do distrito industrial do município de Maracanaú, o qual abriga cerca de 100 empresas das mais variadas atividades. Além disso, ainda existe o despejo de esgoto doméstico das comunidades ribeirinhas, resultado da ocupação desordenada e ausência de atuação do estado (NILIN, 2012).

Os estudos sobre a condição da qualidade ambiental envolvendo o estuário do rio Ceará ainda são escassos. O que a literatura nos disponibiliza são trabalhos referentes a toxicidade crônica e aguda da água e sedimento, uso de biomarcadores em organismos sentinelas, bioacumulação de metais em organismos filtradores e detecção de pesticidas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (CAVALCANTE *et al.*, 2009; DAVANSO *et al.*, 2013; DUAVÍ *et al.*, 2015; NILIN *et al.*, 2013; RIOS *et al.*, 2016; VAISMAN *et al.*, 2005). No trabalho de Cavalcante *et al.* (2009) os níveis de hidrocarbonetos no sedimento foram

superiores aos encontrados em grandes cidades industrializadas, indicando o impacto que esse ecossistema vem sofrendo.

Portanto, em face da importância ecológica inerente ao mangue bem como de sua relevância social para comunidade circunvizinha faz-se necessário estudos referente à qualidade ambiental desse estuário.

Contaminantes emergentes

O aumento da expectativa de vida da população humana é uma situação enfrentada pela a maioria dos países em desenvolvimento ou desenvolvidos, com implicações sobre a distribuição etária e o aumento da frequência das doenças crônicas, que são controladas por meio da administração de fármacos. A progressiva ascensão do número de idosos requer o uso de serviços de saúde e, por conseguinte o consumo de medicamentos, haja vista tratar se de uma parcela da população que convive correntemente com doenças crônicas (STARLING *et al.*, 2019; TAMBLYN, 1996).

O consumo de produtos e utensílios do cotidiano também fomenta diretamente o consumo de substâncias pertencentes aos CE. Alguns produtos têm na sua composição a presença desses compostos, tais como os plastificantes ou outros aditivos, que passaram a ser recentemente desenvolvidos e da mesma forma introduzidos no ambiente (HOUTMAN, 2010).

Os corpos hídricos situados próximos aos adensamentos urbanos têm sua qualidade ambiental afetada devido à contaminação por poluentes tradicionais e pelos CE. Essa classe de contaminantes recentemente despertou a preocupação com os seus possíveis impactos na vida aquática, terrestre e até na saúde humana, pois têm sido detectadas no ambiente. Além disso, são persistentes ou pseudo-persistentes (aporte contínuo), podem causar efeitos biológicos mesmo em concentrações baixas (níveis traço) e ainda não possuem regulamentação legal ou níveis máximos permitidos. Os CE são um grupo de poluentes que abriga uma variedade de compostos orgânicos e de origem sintética que têm se mostrado frequentemente presentes nas matrizes ambientais. Nesse grupo de poluentes encontramos os fármacos, de uso humano ou veterinário, produtos de cuidado e consumo pessoal, desreguladores endócrinos, nanomateriais, drogas ilícitas, retardantes de chama, entre outros (GOGOI *et al.*, 2018; RODRIGUEZ-NARVAEZ *et al.* 2017). Outra definição menciona que os CE são compostos, de proveniência sintética ou natural, ou microrganismos, que uma vez

no ambiente podem causar ou serem potenciais agentes promotores de prejuízos à vida selvagem ou mesmo à saúde humana (UNESCO, 2018; USGS, 2017).

Recentemente, as pesquisas científicas e alguns órgãos legisladores ambientais pelo mundo têm demonstrado atenção à questão dos CE no meio ambiente. Em uma breve consulta na base de dados *Science Direct* utilizando as palavras chave contaminantes emergentes (“*Emerging contaminants*”) é possível notar que houve um crescimento expressivo nas duas últimas décadas, em particular entre os anos de 2010 e 2018, de estudos que compreendem os CE (Figura 1).

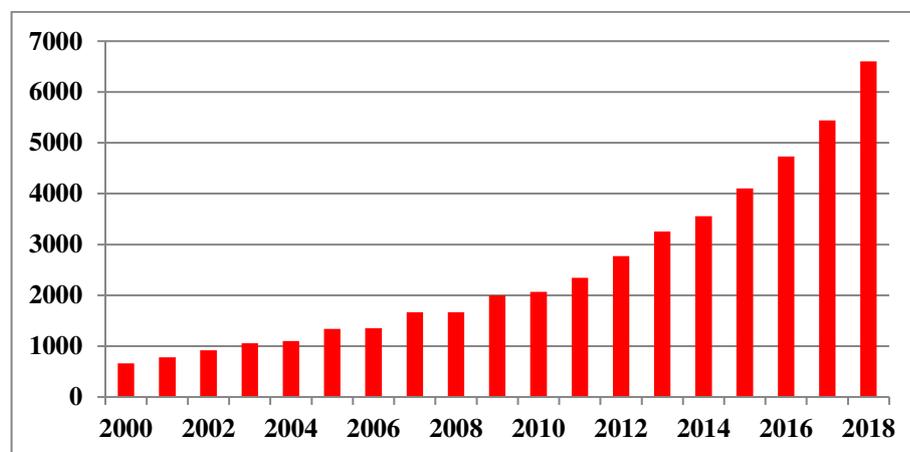


Figura 1 – Evolução do número de pesquisas sobre contaminantes emergentes tendo como referência a base de dados *Science direct*.

Embora o nome “emergentes” dê a ideia de que os contaminantes pertencentes a esse grupo sejam “novos” no ambiente, eles na verdade já vinham sendo consumidos cotidianamente pela sociedade. Sendo assim, desde que seu uso iniciou, tais compostos começaram a ser lançados no ambiente, iniciando assim a contaminação por CE (WILKINSSON *et al.*, 2017). Dessa maneira, esses compostos já se encontravam sendo liberados e disseminados pelas matrizes ambientais, e só não haviam sido detectados na ocasião, uma vez que não havia instrumental sensível o suficiente (RICHARDSON, KIMURA, 2017) ou inexistia uma percepção acerca de sua presença no ambiente.

Após serem consumidos, seja através de produtos que contenham CE na sua composição ou pelo seu uso direto, em ambientes domésticos ou industriais, tais compostos têm como destino as estações de tratamento de esgoto (ETE) (DÍAZ-CRUZ *et al.*, 2009) ou o ambiente, no caso das áreas sem estruturas de saneamento.

A entrada dos CE no meio ambiente pode ser intermediada por processos como os de deposição atmosférica, drenagem urbana ou lixiviação de compostos utilizados

intensivamente na pecuária ou agricultura, que conseguem alcançar rios e águas subterrâneas. Entretanto, os esgotos domésticos (tratados ou não) e as drenagens urbanas se mostram como o principal acesso pelo qual os CPE conseguem atingir as matrizes ambientais (MACHADO *et al.*, 2016; PETRIE *et al.*, 2015).

Nas estações de tratamento de esgoto (ETE) os procedimentos adotados consistem inicialmente na separação dos sólidos grosseiros mediante a passagem por gradeamento e sedimentação (caixa de areia), chamado de tratamento preliminar; logo em seguida a segunda etapa promove a degradação de compostos orgânicos em condições de presença ou ausência de oxigênio (lagoas anaeróbias e aeróbias); e a terceira etapa consiste na remoção de agentes patogênicos mediante o uso de ozônio ou cloro (GOGOI *et al.*, 2018). Contudo, as ETE normalmente não dispõem de tratamento terciário específico (adição de cloro e ozônio) para remoção de compostos químicos.

Mesmo apresentando todas essas etapas de tratamento as ETE nem sempre se mostram efetivas no que condiz a remoção de CE do esgoto. De modo geral, a tecnologia empregada nas ETE prioriza a remoção ou atenuação de compostos nitrogenados ou fosfatados, patógenos e demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sendo desatendidos outros compostos, como os CPE (GOGOI *et al.*, 2018; TAHERAN *et al.*, 2018).

Sendo assim, as ETE acabam sendo pouco efetivas na remoção e/ou degradação dos CPE (ANUMOL *et al.*, 2016; GANI *et al.*, 2016; SUBEDI *et al.*, 2015) e dessa maneira elas se tornam fontes pontuais de liberação desses contaminantes para o meio ambiente (Figura 2).

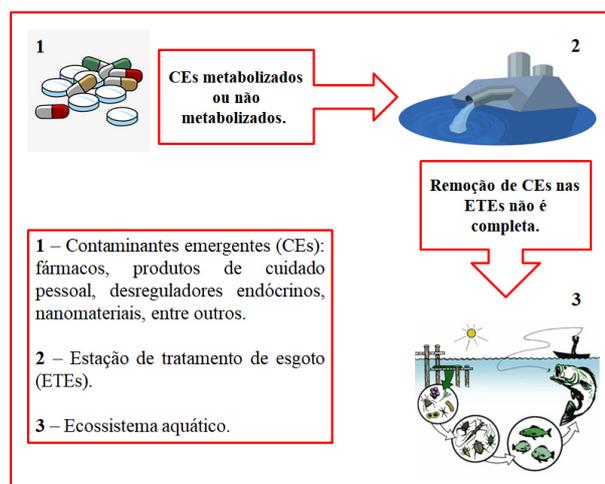


Figura 2 – Esquema da principal via de entrada dos contaminantes emergentes em ecossistemas aquáticos. (Fonte: Autor)

Novas tecnologias de tratamento de esgoto estão sendo desenvolvidas. Contudo, essas técnicas por vezes apresentam taxas de remoção baixas, ou produzem subprodutos tóxicos ou até cancerígenos, como é o caso do nitrosodimetilamina resultante da reação do antibiótico azitromicina com o cloro (RICHARDSON, KIMURA, 2017).

O desenvolvimento dos métodos químicos analíticos têm tornado possível identificar os CE em saídas de ETE e em amostras ambientais aquáticas (LÓPEZ-SERNA, PETROVIC, BARCELÓ, 2012; PEREIRA *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2015) e em sedimento (OMAR *et al.*, 2018; PUSCEDDU *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2018) em concentrações baixas, ou seja, na faixa de $\mu\text{g.L}^{-1}$ a ng.L^{-1} .

O conhecimento sobre efeitos dos CE em organismos aquáticos não-alvo ainda é uma lacuna que precisa ser preenchida. A numerosa quantidade de CE existentes e a contínua fabricação de novos produtos colabora com a dificuldade do fornecimento de dados sobre seus efeitos, o que por sua vez dificulta o estabelecimento de padrões de qualidade ou o gerenciamento de riscos para ambientes aquáticos (MACHADO *et al.*, 2016; RICHARDSON, KIMURA, 2017). Além disso, a liberação de novas substâncias, por meio dos órgãos reguladores, sem o devido conhecimento acerca do seu destino e efeito no meio ambiente reforça o hiato de compreensão dos CE.

Portanto, mensurar as concentrações de CE nas mais variadas matrizes ambientais e fornecer dados sobre seus efeitos são abordagens essenciais para garantir a minimização dos riscos à saúde ambiental e humana.

Fármacos no meio ambiente

Os fármacos correspondem à principal substância de um medicamento (princípio ativo), e que geram efeito terapêutico. Por apresentarem tais peculiaridades essas substâncias são classificadas de acordo com o seu propósito terapêutico ou com sua atividade biológica específica (KÜMMERER, 2008).

O envelhecimento da população mundial e a tendência de concentração em aglomerados urbanos, singularmente nos países denominados de mercados de fármacos (Brasil, Rússia, China, Índia e Indonésia), estimula o consumo de produtos farmacêuticos (MEZZELANI *et al.*, 2018). Simultaneamente ao seu consumo, atenção especial tem de ser dada a esses compostos em relação ao seu destino no meio ambiente.

A preocupação referente aos fármacos no ambiente está vinculada ao fato dessas substâncias serem comercializadas e consumidas diariamente em quantidades expressivas

(BOECKEL *et al.*, 2014), serem persistentes e por serem biologicamente ativas (FENT, WESTON, CAMINADA, 2006; TAYLOR, SENAC, 2014). Além disso, as primeiras incursões de pesquisas sobre a interação de fármacos com organismos não-alvo indicavam que mesmo em concentrações baixas efeitos já poderiam ser observados (MEZZELANI *et al.*, 2018).

A persistência dos fármacos no meio ambiente acontece em virtude das suas características inerentes, como a volatilidade, pKa, logK_{ow}, entre outros, o que os tornam agentes de potencial risco para a biota aquática (COURTIER *et al.*, 2018; FENT, WESTON, CAMINADA, 2006). Já a sua atividade biológica, aspecto também inerente, ocorre devido eles terem sido concebidos para gerar efeitos, em baixas concentrações, em vias ou processos metabólicos de sistemas biológicos humanos ou de animais domésticos (FENT, WESTON, CAMINADA, 2006; TAYLOR, SENAC, 2014). Como muitas vias metabólicas são conservadas e estão presentes na maioria dos organismos, espera-se, portanto, que organismos não alvo sejam afetados pelos fármacos lançados no ambiente.

A reunião de todas essas características torna os fármacos potenciais candidatos a gerar impactos ambientais e por essa razão é que eles são considerados CE de grande preocupação ambiental (MEZZELANI *et al.*, 2018). Como são constantemente despejados nas matrizes ambientais aquáticas, através dos efluentes de ETE, quanto como resíduos sólidos, quando dispostos no lixo comum, os organismos aquáticos não-alvo podem sofrer algum tipo de efeito, mesmo expostos a concentrações traços (BOXALL, 2018; KUSTER, ADLER, 2014). Com base nisso, esforços têm sido feitos no sentido de monitorar e identificar os efeitos de alguns fármacos para que assim possam ser futuramente submetidos a algum tipo de legislação (KUSTER, ADLER, 2014).

Entre as classes de fármacos existentes podemos citar os hormônios e os anti-inflamatórios não esteroides (AINE), tendo como principais representantes o 17 α -etinilestradiol (EE2) e o ácido acetilsalicílico (AAS), respectivamente, devido ao seu grande consumo e presença no meio ambiente (GUMBI *et al.*, 2017; SAEED *et al.*, 2017).

O EE2 é um hormônio esteroide sintético derivado do hormônio natural denominado de estradiol (E2) e é usado na formulação das pílulas contraceptivas (inibidores da ovulação), em terapias de reposição hormonal e como aditivo na alimentação animal (ARIS, SHAMSUDDIN, PRAVEENA, 2014).

As características de ser um composto recalcitrante e de ser facilmente biodisponível quando administrado em seres humanos torna o EE2 um excelente fármaco. Contudo, essas mesmas características possibilitam que o EE2 transponha as ETE sem que sofra qualquer

tipo de alteração e que assim consiga atingir as matrizes ambientais (ARIS, SHAMSUDDIN, PRAVEENA, 2014).

Nos seres humanos o EE2 age sobre os receptores de estrógeno de modo mais intenso que os hormônios naturais, indicando assim ser um potente composto estrogênico. Mesmo padrão é observado em estudos realizados com peixes, indicando o espectro de ação que esse hormônio apresenta (COLMAN *et al.*, 2009).

Por sua vez, o ácido acetilsalicílico (AAS), popularmente conhecido como aspirina, é um AINE pertencente à classe dos salicilatos. Trata-se de um fármaco amplamente utilizado como analgésico, antipirético e antitrombótico (LANAS *et al.*, 2011). Uma vez que atinja matrizes aquáticas, o AAS tem a capacidade de alterar o crescimento e o padrão de reprodução de organismos não-alvo (MARQUES, ABRANTES, GONÇALVES, 2004).

Desreguladores endócrinos no meio ambiente

Os DE são caracterizados pela sociedade mundial de endocrinologia como substâncias que influenciam processos inter-relacionados, de maneira direta ou indireta, ao sistema endócrino (ZOELLER *et al.*, 2012). Já a USEPA afirma que os DE são compostos sintéticos e exógenos que alteram a biossíntese, liberação e ação dos hormônios naturais nos tecidos alvos, portanto uma definição que denota perturbação (USEPA, 2011).

O sistema endócrino é considerado um sistema integrador, em qualquer organismo, e tem como funções, regular, estimular ou inibir processos metabólicos, garantir o desenvolvimento do sistema reprodutor e regular mudanças de estágios de vida mediante exposições rigorosamente controladas aos hormônios (BHANDARI *et al.*, 2015; FUHRMAN *et al.*, 2015).

A primeira vez que os DE foram objeto de apreciação foi em 1991 em uma conferência sobre produtos químicos que estavam resultando em alterações no desenvolvimento sexual. Logo em seguida, um livro intitulado de “*Our stolen future*” foi publicado abordando as possíveis consequências da exposição aos DE para o homem e para vida selvagem (FUHRMAN *et al.*, 2015). A partir daí o tema tem se destacado em pesquisas acadêmicas e nas discussões de agências ambientais.

Os DE são um subgrupo dos CPE, e diferentemente dos demais poluentes eles são heterogêneos em relação a sua estrutura química, portanto tornando difícil sua identificação com base nesse aspecto (ESTRADA *et al.*, 2018; DIAMANTI-KANDARAKIS *et al.*, 2009).

A sua origem também é diversificada, podendo proceder de produtos agrícolas, industriais, aditivos plásticos e produtos de uso pessoal (ESTRADA *et al.*, 2018).

A rota de entrada dos DE no meio ambiente é semelhante à dos CE, ou seja, por meio de operações industriais, uso de insumos na aquicultura e na agropecuária, descarte irregular de produtos manufaturados e pelas ETE, que não apresentam eficiência satisfatória na remoção e/ou degradação desses compostos (MONNERET, 2017). Além disso, os DE, como os estrogênios esteroides, que são excretados pelo corpo humano na forma de compostos inativados (conjugados) são passíveis de sofrer alterações por meio de bactérias (reação de glucuronidação) de águas superficiais que os tornam aptos a agir sobre o sistema endócrino (KABIR, RAHMAN, RAHMAN, 2015; YING *et al.*, 2002).

Os estudos fornecem dados da onipresença dos DE nas mais diversas matrizes ambientais (LI *et al.*, 2013; SELVARAJ *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2014), o que torna o ambiente uma potencial fonte de exposição (KABIR, RAHMAN, RAHMAN, 2015). E essa disseminação é reflexo não só do seu uso mas também das suas características de alta estabilidade, baixa degradabilidade, elevado tempo de meia vida no ambiente e persistência (ESTRADA *et al.*, 2018; KABIR, RAHMAN, RAHMAN, 2015), o que os tornam ponto de preocupação essencial.

Entre os DE podemos destacar o bisfenol A (BPA), um composto manufaturado e que é amplamente produzido. O bisfenol A (BPA), (2,2-bis(4-hidroxifenil) um difenol, é um composto usados na fabricação de utensílios domésticos de plástico, selantes dentários e no revestimento de embalagens de metal empregadas no armazenamento de alimentos e de água (ROCHESTER, 2013; SEACHRIST *et al.*, 2016).

Em alguns países como Canadá e Dinamarca e em alguns estados dos Estados Unidos da América a fabricação e comercialização do BPA é proibida. No Brasil a medida de controle adotada para o uso de BPA foi restrita apenas ao não emprego dessa substância na fabricação de produtos destinados ao uso em recém-nascidos (OTERO, CARVALHO, 2014).

Embora com algumas restrições de comercialização no mundo o BPA ainda é produzido e consumido, por conseguinte a sua inserção no meio ambiente também é contínua (STAPLES *et al.*, 2002). Um dos modos de ação do BPA em sistemas biológicos é através da simulação de hormônios esteroides, alterando a produção e a sinalização hormonal, diminuindo a produção diária e a motilidade de espermatozoides, culminando na baixa fertilidade e induzindo a feminização (ESTRADA *et al.*, 2018; MANFO *et al.*, 2014; PLANELLO, MARTÍNEZ-GUITARTE, MARCILLO, 2008).

Avaliação de risco no ambiente

A avaliação de risco ambiental consiste em um meio de determinar a probabilidade de um composto químico ocasionar algum tipo de interferência em organismos, populações ou comunidades. Portanto, trata-se de uma abordagem onde o resultado do perigo da exposição leva em consideração incertezas (HONKELA *et al.*, 2014). Para Kolluru (1996) o risco traduz-se na probabilidade de um evento seguido da perda ou acometimento da funcionalidade de um sistema em decorrência de alterações dos seus componentes.

O risco pode ser analisado como a junção de três vertentes: poluente, exposição e receptores. Portanto, com base nessa concepção podemos afirmar que a única maneira de eliminar totalmente o risco é através da supressão do poluente do meio ambiente ou evitar a exposição direta ao mesmo (VIANA, 2010), algo que para muitos CPE é muito difícil, senão impossível, de acontecer. Frente a essa situação, o que resta ser feito é procurar estabelecer concentrações seguras de CPE que resultem em risco ambiental mínimo (aceitável) para as comunidades expostas.

No meio ambiente a avaliação de risco busca mensurar as possíveis consequências ecológicas (redução da biodiversidade, perda de recursos ou instabilidade do ecossistema) que a exposição a um composto químico durante determinado período de tempo pode gerar (KOLLURU, BROOKS, 1998). Portanto, esse tipo de avaliação se mostra como uma ferramenta propícia para o manejo e proteção de ecossistemas sujeitos à interferência de xenobióticos. No caso dos ambientes aquáticos esse tipo de avaliação se torna mais importante em decorrência da constante entrada de poluentes, tornando a biota associada alvo de exposição contínua.

Para os CPE, em particular os produtos farmacêuticos, procedimentos para avaliação de risco ecológico têm sido desenvolvidos e aplicados. Desde 2006 a União Europeia exige que os novos fármacos lançados no mercado apresentem dados sobre avaliação de risco ambiental (COURTIER *et al.*, 2018), procedimento esse adotado até como forma de conscientizar os consumidores sobre as consequências do descarte inadequado.

A avaliação de risco ecológico para fármacos usado pela União Europeia propõe uma abordagem integrada usando dados químicos e ecotoxicológicos. Para tanto, as características físico-químicas do composto são levadas em consideração, para que assim possa ser feita a sua estimativa ou mensuração em amostras do ambiente. Os dados de ecotoxicidade são obtidos através de bioensaios padronizados com organismos modelos representativos da teia trófica (EMEA, 2006). Ao final todos esses dados são agrupados para gerar um resultado que

considere a exposição (pela presença de fontes e pelas propriedades da substância e sua interação com o meio) e os efeitos ecológicos (pelos dados de toxicidade), de modo a expressar a probabilidade de risco que o composto analisado pode representar para o ambiente.

Embora se mostre como uma ferramenta promissora, a avaliação de risco têm algumas limitações, relacionadas com o baixo número de espécies avaliadas nos bioensaios, em relação a toda a biota presente em um ecossistema, e as dificuldades em simular efeitos causados por múltiplos estressores ao mesmo tempo e por períodos de exposição longos.

Além disso, ainda existe uma lacuna a ser preenchida quando se fala em dados e efeitos dos CPE. São poucos os dados ecotoxicológicos disponíveis na literatura sobre tais compostos, haja vista que esse tema ainda é recente quando comparado com outros poluentes, o que compromete a execução de uma avaliação de risco adequada, subestimando os riscos (RICHARDSON, KIMURA, 2017). Porém, mesmo com algumas limitações, a avaliação de risco é uma ferramenta importante para auxiliar na proteção, em especial, dos ecossistemas aquáticos uma vez que são os sorvedouros finais de muitos poluentes, incluindo os CPE. Nesse sentido, sua utilização deve ser reforçada, assim como um aumento do número de espécies usadas, de forma a melhor representar os níveis tróficos e as comunidades aquáticas locais.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Determinar o risco ecológico dos contaminantes emergentes 17 α -etinilestradiol, ácido acetilsalicílico e bisfenol A em três estuários urbanizados na região metropolitana de Fortaleza.

Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos agudos dos contaminantes analisados nos microcrustáceos *Artemia* sp. e *Mysidopsis juniae*;
- Determinar o efeito dos contaminantes estudados no desenvolvimento embrio-larval do ouriço do mar *Echinometra lucunter*;
- Mensurar os efeitos agudos e crônicos (prole total e taxa de fertilidade) dos contaminantes emergentes selecionados no copépodo *Nitokra* sp.;
- Desenvolver um método para a determinação dos compostos 17 α -etinilestradiol, ácido acetilsalicílico, bisfenol A e cafeína em amostras de água;
- Mensurar os níveis de 17 α -etinilestradiol, ácido acetilsalicílico, bisfenol A e cafeína em amostras ambientais de água;
- Calcular o risco ecológico dos contaminantes 17 α -etinilestradiol, ácido acetilsalicílico, bisfenol A e cafeína para compartimentos aquáticos de três estuários da região metropolitana de Fortaleza, litoral do estado do Ceará.

REFERÊNCIAS

- ANDRÉS, M.; BARRAGÁN, J.M.; SCHERER, M. Urban centres and coastal zone definition: Which area should we manage? **Land Use Policy**, Cadiz, v. 71, p. 121-128. 2018.
- ALAM, S.M.M.; FARHA, M.N.; ZAMAN, A.K.B. An appraisal of arsenic and pesticide toxicity for economically terminal people: a snap shot of north-western part of Bangladesh. **J. Sci. Res.**, Bangladesh, v. 7, n. 3, p. 159 -165, 2015.
- ANUMOL, T.; VIJAYANANDAN, A.; PARK, M.; PHILIP, L.; SNYDER, S.A. Occurrence and fate of emerging trace organic chemicals in wastewater plants in Chennai, India. **Environ. Int.**, Tucsom, v. 93, p. 33-42, 2016.
- ARIS, A.Z.; SHAMSUDDIN, A.S.; PRAVEENA, S.M. Occurrence of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. **Environ. Int**, Selangor, v. 69, p. 104-119, 2014.
- ÁVILA, F.J.C. **Modelo de conservação da área de proteção ambiental do baixo rio Pacoti, Ceará**. 2005. 170 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – PRODEMA, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.
- BAKAN, G.; ARIMAN, S. Persistent organochlorine residues in sediments along the coast of mid-Black Sea region of Turkey. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 1031 – 1039, 2004.
- BARBOSA, B.C.; JÚNIOR, F.W.A.; SILVA, L.S.; PESSOA, K.A.R.; SILVA, G.M.M. Avaliação da qualidade da água de um trecho do rio Cocó sob possível influência do lixão desativado do Jangurussu Fortaleza/CE. **Revista Conexões**, Fortaleza, v. 6, n. 3, p. 26-40, nov. 2012.
- BARBOSA, L.N.; LIMA, V.G.F.; FARIAS, J.F.; SILVA, E.V. Evolução espaço-temporal da vegetação de mangue no estuário do rio Pacoti/Ceará. **Revista Geonorte**, Manaus, v. 7, n. 26, p. 144-159. 2016.
- BARRA, O.A.O.L.; SILVA, N.S.; LIMA, D.B.; VASCONCELOS, F.P. Caracterização geoambiental e os conflitos existentes na sub-bacia hidrográfica do baixo Pacoti, Ceará – Brasil. **Casa da Geografia de Sobral**, Sobral, v. 16, p. 66 – 83, 2014.
- BARROS, F.M.L. Integrated coastal vulnerability assessment: A methodology for coastal cities management integrating socioeconomic, physical and environmental dimensions - Case study of Região dos Lagos, Rio de Janeiro, Brazil. **Ocean & Coastal Management**, Rio de Janeiro, v. 149, p. 1-11. 2017.
- BHANDARI, R.K.; DEEM, S.L.; HOLLIDAY, D.K.; JANDEGIAN, C.M.; KASSOTIS, C.D.; NAGEL, S.C.; TILLITT, D.E.; SALL, F.S.V.; ROSENFELD, C.S. Effects on the environmental estrogenic contaminants bisphenol A and 17 α -ethynil estradiol on sexual development and adult behaviors in aquatic wildlife species. **Gen. Comp. Endocrinol.**, Missouri, v. 214, p. 195-219, 2015.

BOECKEL, T.P.V., GANDRA, S., ASHOK, A., CAUDRON, Q., GRENFELL, B.T., LEVIN, S.A., LAXMINARAYAN, R. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. **Lancet Infect. Dis.**, Princeton, v. 14, p. 742-750, 2014.

BOXALL, A.B.A. Pharmaceuticals in the environment and human health. In: **Health care and environmental contamination**. 1. ed. New York: Elsevier, 2018. cap. 7, p. 123-136.

BULGER, A.J.; HAYDEN, B.P.; MONACO, M.E.; NELSON, D.M.; McCORMICK-RAY, M.G. Biology-based estuarine salinity zones derived from a multivariate analysis. **Estuaries**, v. 16, p. 311-322, 1993.

CAGECE – Companhia de Água e Esgoto do Ceará. **Saneamento Básico: um compromisso de todos por mais qualidade de vida**. 2. Ed. Fortaleza: Governo do estado do Ceará, 2016. 44 p.

CAI, W. Estuarine and coastal ocean carbon paradox: CO₂ sinks or sites of terrestrial carbon incineration? **Annu. Rev. Marine. Sci.**, Athens, v. 3, 123-145, 2011.

CAVALCANTE, R.N.; SOUSA, F.W.; NASCIMENTO, R.F.; SILVEIRA, E.R. The impact of urbanization on tropical mangrove (Fortaleza, Brazil): evidence from PAH distribution in sediments. *J Environ Managa.*, v. 91, p. 328-335, 2009.

CEARÁ. Decreto nº 25.778, de 15 de Fevereiro de 2000. Regulamenta no âmbito estadual a criação da Área de Proteção Ambiental do Rio Pacoti (APA do Rio Pacoti), área situada entre os municípios de Fortaleza, Aquiraz e Eusébio. **Diário Oficial do Estado do Ceará**, Poder Executivo, Fortaleza, CE, 17 fev 2000. Seção X, p. Y.

CEARÁ. Decreto nº 27.777, de 15 de Fevereiro de 2000. Fica declarada CORREDOR ECOLÓGICO DO RIO PACOTI a faixa marginal de ambas as margens do Rio Pacoti ao longo do trecho da ponte velha da CE-040 até a cota 600 da Serra de Baturité, ligando as APAs do Rio Pacoti e da Serra de Baturité, abrangendo os municípios de Aquiraz, Itaitinga, Pacatuba, Horizonte, Pacajus, Acarape e Redenção. **Diário Oficial do Estado do Ceará**, Poder Executivo, Fortaleza, CE, 17 fev 2000.

CEARÁ. Decreto nº 32.248, de 07 de Junho de 2017. Regulamenta no âmbito estadual a criação da unidade de conservação estadual do grupo de proteção integral, denominada Parque Estadual do Cocó, no município de Fortaleza, e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado do Ceará**, Poder Executivo, Fortaleza, CE, 8 jun 2017.

COELHO, R.M.P.; HAVENS, K. **Crise nas águas: educação, ciência e governança, juntas, evitando conflitos gerados por escassez e perda da qualidade das águas**. 1. ed. Belo Horizonte: Recóleo, 2015. 156p

COLMAN, J.R.; BALDWIN, D.; JOHNSON, L.L.; SCHOLZ, N.L. Effects of the synthetic estrogen 17 α -ethynylestradiol, on aggression and courtship behavior in male zebrafish (*Danio rerio*). **Aquat. Toxicol.**, v. 91, p. 346-354, 2009.

COURTIER, A.; CADIÈRE, A.; ROIG, B. Human pharmaceuticals: why and how to reduce their presence in the environment. **Curr. Opin. Green Sustain. Chem.**, Nîmes, v. 15, p. 77-82, 2018.

DAVANSO, M.B.; MOREIRA, L.B.; PIMENTEL, M.F.; COSTA-LOTUFO, L.V.; ABESSA, D.M.S. Biomarkers in mangrove root crab *Goniopsis cruentata* for evaluating quality of tropical estuaries. **Marine Environmental Research**, Fortaleza, v. 91, p. 80-88. 2013.

DIAMENTI-KANDARAKIS, E.; BOURGUIGNON, J.P.; GIUDICE, L.C.; HAUSER, R.; PRINS, G.S.; SOTO, A.M.; ZOELLER, R.T.; GORE, A.C. Endocrine disrupting chemicals: an endocrine society scientific statement. **Endocr. Rev.**, Athens, v. 30, p. 293-342, 2009.

DIAS, J.A.; CEARRETA, A.; ISLA, F.I.; MAHIQUES, M.M. Anthropogenic impacts on Iberoamerican coastal areas: Historical processes, present challenges, and consequences for coastal zone management. **Ocean Coast. Manage.**, Faro, v. 77, p. 80-88, 2013.

DÍAZ-CRUZ, M.S.; GARCÍA-GALÁN, M.J.; GUERRA, P.; JELIC, A.; POSTIGO, C.; ELJARRAT, E.; FARRÉ, M.; ALDA, M.J.L.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Analysis of selected emerging contaminants in sewage sludge. **Trends. Analyt. Chem.**, Barcelona, v. 28, p. 1263-1275, 2009.

DUAVÍ, W.C.; GAMA, A.F.; MORAIS, P.C.V.; OLIVEIRA, A.M.B.; NASCIMENTO, R.F.; CAVALCANTE, R.M. Contaminação de ambientes aquáticos por “agrotóxicos urbanos”: o caso do rio Cocó e Ceará, Fortaleza – Ceará, Brasil. **Quim Nova**, v. 38, p. 622-630, 2015.

EBELE, A.J., ABDALLAH, M.A., HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, Birmingham, v. 3, p. 1-16, 2017.

EMA – European Medicines Evaluation Agency. 2006. European agency for the evaluation of medicinal products. Committee for medicinal products for human use (CHMP). **Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use**. Ref. EMA/CRMP/SWP/4447/00. London, UK.

ESTRADA, C.B.; ALANIS, M.J.R.; GUTIÉRREZ, B.D.M.; IQBAL, H.M.N.; KANNAN, S.; SALDÍVAR, R.P. Emergent contaminants: endocrine disruptors and their laccase-assisted degradation – a review. **Sci. Total Environ.**, Monterrey, v. 612, p. 1516-1531, 2018.

FENT, K., WESTON, A.A., CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquat. Toxicol.**, Muttentz, v. 76, p. 122-159, 2006.

FIUZA, A.B.J.Q.; LEHUGEUR, L.G.O.; QUEIROZ, B.J. Análise ambiental do estado de conservação do baixo curso do rio Pacoti – Ceará. **Arquivo de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 18-29. 2010.

FLINT, S., MARKLE, T., THOMPSON, S., WALLACE, E. Bisphenol A exposure, effects and policy: a wildlife perspective. **J. Environ. Manage.**, Saint Paul, v. 104, p. 19-34, 2012.

FREIRES, E.V.; GOMES, D.D.M.; DUARTE, C.R.; SABADIA, J.A.B.; SOUTO, M.V.C. Análise sócioambiental do entorno do estuário do rio Cocó – Fortaleza/Ceará. **REGET**, Santa Maria, v. 18, n. 14, p. 1487-1511, dez. 2014.

FREIRES, E.V.; GOMES, D.D.M.; SABADIA, J.A.B.; DUARTE, C.R.; SOUTO, M.V.S. Indicadores dos impactos da urbanização no leito do estuário do rio Cocó-Fortaleza/Ceará. **OKARA: geografia em debate**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 650-668. 2016.

FROEHNER, S.; MACHADO, K.S.; STEFEN, E.; BLEININGER, T.; DA ROSA, E.C.; MARTINS, C.D.C. Occurrence of selected estrogens in mangrove sediments. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 64, p. 75-79, 2012.

FUHRMAN, V.F.; TAL, A.; ARNON, S. Why endocrine disrupting chemicals (EDCs) challenge traditional risk assessment and how to respond. **J. Hazard. Mater.**, Berseba, v. 286, p. 589-611, 2015.

GANI, K.M.; RAJPAL, A.; KAZMI, A.A. Contamination level of four priority phthalates in North Indian wastewater treatment plants and their fate in sequencing batch reactor systems. **Environ Sci Process Impacts.**, San Diego, v. X, p. X-X, 2016.

GOGOI, A.; MAZUMDER, P.; TYAGI, V.K.; CHAMINDA, G.G.T.; AN, A.K.; KUMAR, M. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: a review. **Groundwater for Sustainable Development**, Assam, v. 6, p. 169 – 180, 2018.

GORAYEB, A.; SILVA, E.V.; MEIRELES, A.J.A. Impactos ambientais e propostas de manejo sustentável para a planície flúvio-marinha do rio Pacoti – Fortaleza/Ceará. **Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 17, n. 33, p. 143-152. 2005.

GUMBI, B.P.; MOODLEY, B.; BIRUNGI, G.; NDUNGU, P.G. Detection and quantification of acidic drug residues in South African surface water using gas chromatography-mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 168, p. 1042-1050, 2017.

GUNNARSSON, L., JAUHAINEN, A., KRISTIANSSON, E., NERMAN, O., LARSSON, D.G.J. Evolutionary conservation of human drug targets in organisms used for environmental risk assessment. **Environ. Sci. Technol.**, Gotemburgo, v. 42, p. 5807-5813, 2008.

HARRIES, J.E.; SHEAHAN, D.A.; JOBLING, S.; MATTHIESSEN, P.; NEALL, M.; SUMPTER, J.P.; TAYLOR, T.; ZAMAN, N. Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 16, p. 534-542, 1997.

HONKELA, N.; TOIKKA, A.; HUKKINEN, J.; HONKELA, T. Coming to grips with scientific ignorance in the governance of endocrine disrupting chemicals and nanoparticles. **Environ. Sci. Policy**, Helsinki, v. 38, p. 154-163, 2014.

HOUTMAN, C.J. Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe. **J Integr Environ Sci.**, Haarlem, v. 7, p. 271-295, 2010.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2011. **Atlas geográfico das zonas costeiras e oceânicas do Brasil**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv55263.pdf>> Acesso em 21 set 2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Brasil em síntese**, 2016. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ce/fortaleza/panorama>>. Acesso em: 07 abril de 2018.

JOBLING, S.; NOLAN, M.; TYLER, C.R.; BRIGHTY, G.; SUMPTER, J.P. Widespread sexual disruption in wild fish. **Environ. Sci. Technol.**, v. 32, p. 2498-2506, 1998.

JUNIOR, A.N.M.; MORAES, R.B.C.; MAURAT, M.C. Poluição Marinha. In: *Biologia Marinha*. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009. cap. 21, p. 505-528.

KABIR, E.R.; RAHMAN, M.S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, Bangladesh, v. 40, p. 241-258, 2015.

KARYDIS, M. Eutrophication assessment of coastal water based on indicators: a literature review. **Global NEST Journal**, Mytilini, v. 11, n. 4, p. 373-390. 2009.

KIBRIA, G., HOSSAIN, M.M., MALLICK, D., LAU, T.C., WU, R. Monitoring of metal pollution in waterways across Bangladesh and ecological and public health implications of pollution. **Chemosphere**, Melbourne, v. 165, p. 1-9, 2016.

KOLLURU, R. Risk assessment and management: a unified approach. In: **Risk assessment and management handbook: for environmental, health and safety professional**. 2. ed. Boston: McGraw Hill, 1996. cap. 1.

KOLLURU, R.; BROOKS, D.G. Evaluación de riesgos integrada y administración estratégica. In: **Manual de evaluación y administración de riesgos**. 2. ed. Boston: McGraw Hill, 1998.

KÜMMERER, K. Pharmaceuticals in the environment – a brief summary. In: **Pharmaceuticals in the environment**. 3. ed. Berlin: Springer, 2008. cap. 1, p. 3-22.

KUSTER, A.; ADLER, N. Pharmaceuticals in the environment: scientific evidence of risks and its regulation. **Phil. Trans. R. Soc. B**, Dessau-Roßlau, v. 369, p. 1-8, 2014.

LANAS, A.; MCCARTHY, D.; VOELKER, M.; BRUECKNER, A.; SENN, S.; BARON, J.A. Short-term acetylsalicylic acid (aspirin) use for pain, fever, or colds – gastrointestinal adverse effects: a meta-analysis of randomized clinical trials. **Drugs R D.**, v. 11, p. 277-288, 2011.

LAPWORTH, D.J., BARAN, N., STUART, M.E., WARD, R.S. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. **Environ. Pollut.**, Wallingford, v. 163, p. 287-303, 2012.

LEAL, J.R.L.V. **Estudo da evolução do rio Cocó para determinação de sua capacidade de suporte e proposta de recuperação**. 2009. 221 f. Tese (Doutorado em Geociências) – CTG, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

LEI, B.; HUANG, S.; ZHOU, Y.; WANG, D.; WANG, Z. Levels of six estrogens in water and sediment from three rivers in Tiajin area, China. **Chemosphere**, v. 76, p. 36-42, 2009.

LI, J.; FU, J.; ZHANG, H.; LI, Z.; MA, Y.; WU, M.; LIU, X. Spatial and seasonal variations and occurrences and concentrations of endocrine disrupting chemicals in unconfined and confined aquifers recharged by reclaimed water: a field study along the Chaobai river, Beijing. **Sci. Total Environ.**, v. 451, p. 162-168, 2013.

LÓPEZ-SERNA, R., PETROVIC, M., BARCELÓ, D. Direct analysis of pharmaceuticals, their metabolites and transformation products in environmental waters using on-line TurboFlow chromatography–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, Barcelona, v. 1252, p. 115-129, 2012.

MACHADO, K.C.; GRASSI, M.T.; VIDAL, C.; PESCARA, I.C.; JARDIM, W.F.; FERNANDES, A.N.; SODRÉ, F.F.; ALMEIDA, F.V.; SANTANA, J.S.; CANELA, M.C.; NUNES, C.R.O.; BICHINHO, K.M.; SEVERO, F.J.R. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. **Sci. Total Environ.**, Curitiba, v. 572, p. 138-146, 2016.

MANFO, F.P.; JUBENDRADASS, R.; NANTIA, E.A.; MOUNDIPA, P.F.; MATHUR, P.P. Adverse effects of bisphenol A on male reproductive function. *Rev Environ Contam Toxicol.*, Buea, v. 228, p. 57-82, 2014.

MARQUES, C.R.; ABRANTES, N.; GONÇALVES, F. Life-history traits of standard and autochthonous cladocerans: II. Acute and chronic effects of Acetylsalicylic acid metabolites. **Environ Toxicol.**, v. 19, p. 527-540, 2004.

MENG, W.; LIU L. On approaches of estuarine ecosystems health studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Beijing, v. 86, p. 313-316. 2010.

MEZZELANI, M.; GORBI, S.; REGOLI, F. Pharmaceuticals in the aquatic environments: evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms. **Mar. Environ. Res., Ancona**, v.140, p. 41-60, 2018.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M.; KJERFVE, B. **Princípios de oceanografia física de estuários**. 1. ed. São Paulo: EdUSP, 2002. 413p.

MONNERET, C. What is an endocrine disruptor? **C. R. Biologies**, Paris, v. 340, p. 403-405, 2017.

NASCIMENTO, F.R.; CARVALHO, O. Gerenciamento ambiental em unidades de conservação: bacia hidrográfica como estudo de caso. **Geografia**, Londrina, v. 12, n. 2, p. 111-130. 2003.

NILIN, J.; PIMENTEL, M.F.; COSTA-LOTUFO, L.V.; LOTUFO, T.M.C. Water toxicity assessment of the Ceara river estuary (Brazil). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, Fortaleza, v. 2, n. 2, p. 1-7. 2007.

NILIN, J. Biomarcadores em estudos ambientais: a vigília dos bivalves na ria de Aveiro (Portugal) e no rio Ceará (Brasil). 2012. 154 f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais) – Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

NILIN, J.; MOREIRA, L.B.; AGUIAR, J.E.; MARINS, R.; ABESSA, D.M.S.; LOTUFO, T.M.C.; COSTA-LOTUFO, L.V. Sediment quality assessment in a tropical estuary: the case of Ceara river, northeastern Brazil. **Marine Environment Research**, Fortaleza, v. 91, p. 89-96. 2013.

NOAA – National Oceanic and Atmospheric Administration. **Estuaries: natural disturbances to estuaries**, 2017. Disponível em: <https://oceanservice.noaa.gov/education/kits/estuaries/estuaries08_natdisturb.html>. Acesso em: 21 junho de 2018.

NOAA – National Oceanic and Atmospheric Administration. **Estuaries: what is an estuary?**, 2018. Disponível em: <https://oceanservice.noaa.gov/education/kits/estuaries/estuaries01_what.html>. Acesso em: 23 junho de 2018.

OMAR, T.F.T.; ARIS, A.Z.; YUSOFF, F.M.; MUSTAFA, S. Occurrence, distribution and source of emerging contaminants in tropical coastal sediments of anthropogenically impacted Klang river estuary, Malaysia. **Mar. Pollut. Bull.**, Selangor, v. 131, p. 284-293, 2018.

OTERO, C. S.; CARVALHO, M. S. Bisfenol A e o efeito da substância no desenvolvimento humano: a violação oculta dos direitos da personalidade na transparência e resistência do plástico. **Publica Direito**, v., p. 1-21, 2014.

PEREIRA, A.M.P.T., SILVA, L.J.G., LARANJEIRO, C.S.M., MEISEL, L.M., LINO, C.M., PENA, A. Human pharmaceuticals in Portuguese rivers: The impact of water scarcity in the environmental risk. **Sci. Total Environ.**, Coimbra, v. 609, p. 1182-1191, 2017.

PEREIRA, C.D.S., MARANHO, L.A., CORTEZ, F.S., PUSCEDDU, F.H., SANTOS, A.R., RIBEIRO, D.A., CESAR, A., GUIMARÃES, L.L. Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazilian coastal zone. **Sci. Total Environ.**, Santos, v. 549, p. 148-154, 2016.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Res.**, Bath, v. 72, p. 3-27, 2015.

PHILIP, J.M.; ARAVIND, U.K.; ARAVINDAKUMAR, C.T. Emerging contaminants in Indian environmental matrices – a review. **Chemosphere**, Kerala, v. 190, p. 307 – 326, 2018.

PIMENTEL, M.F.; DAMASCENO, E.P.; JIMENEZ, P.C.; ARAÚJO, P.F.R.; BEZERRA, M.F.; MORAIS, P.C.V.; CAVALCANTE, R.M.; LOUREIRO, S.; LOTUFO, L.V.C. Endocrine disruption in *Sphaeroides testudines* tissues and sediments highlights contamination in a northeastern Brazilian estuary. **Environ Monit Assess.**, Fortaleza, v. 188, p. 298 – 310, 2016.

PLANELLÓ, R, MARTÍNEZ-GUITARTE, J.L., MORCILLO, G. The endocrine disruptor bisphenol A increases the expression of HSP70 and ecdysone receptor genes in the aquatic larvae of *Chironomus riparius*. **Chemosphere**, Madrid, v. 71, p. 1870-187, 2008.

PRITCHARD, D.W. What is an estuary: physical viewpoint. In: **Estuaries**. 1. ed. Washington, DC: American Association for the Advancement of Science Publication, 1967.

PURNOMO, A.S.; MORI, T.; KAMEI, I.; KONDO, R. Basic studies and applications on bioremediation of DDT: a review. **Int. Biodeterior. Biodegradation**, Surabaya, v. 65, p. 921 – 930, 2011.

PUSCEDDU, F.H.; CHOUERI, R.B.; PEREIRA, C.D.S.; CORTEZ, F.S.; SANTOS, D.R.A.; MORENO, B.B.; SANTOS, A.R.; ROGERO, J.R.; CESAR, A. Environmental risk assessment of triclosan and ibuprofen in marine sediments using individual and sub-individual endpoints. **Environ. Pollut.**, Santos, v. 232, p. 274-283, 2018.

RAY, G.C.; McCORMICK-RAY, J. Estuarine Ecosystems. In: **Encyclopedia of Biodiversity**. 2. ed. New Jersey: Elsevier, 2013. cap. 306. p.579-591.

RICHARDSON, S.D.; KIMURA, S.Y. Emerging environmental contaminants: challenges facing our next generation and potential engineering solutions. **Environmental Technology & Innovation**, Columbia, v. 8, p. 40-56, 2017.

RIOS, D.A.M. **Ecosistema de manguezal do rio Cocó – Fortaleza/CE: análise dos aspectos socioambientais**. 2009. 97 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Gestão Ambiental) – PPGTGA, Instituto Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

RIOS, J.H.L.; MARINS, R.V.; OLIVEIRA, K.F.; LACERDA, L.D. Long-term (2002-2015) changes in mercury contamination in NE Brazil depicted by the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). **Bull Environ Contam Toxicol.**, Fortaleza, v. 97, p. 474-479, 2016.

ROCHESTER, J.R. Bisphenol A and human health: a review of the literature. **Reprod. Toxicol.**, Paonia, v. 42, p. 132-155, 2013.

RODRIGUEZ-NARVAEZ, O.M., PERALTA-HERNANDEZ, J.M., GOONETILLEKE, A., BANDALA, E.R. Treatment technologies for emerging contaminants in water: a review. **Chem. Eng. J.**, Guanajuato, v. 323, p. 361-380, 2017.

SAEED T.; AL-JANDAL, N.; ABUSAM, A.; TAQI, H.; AL-KHABBAZ, A.; ZAFAR, J. Source and levels of endocrine disrupting compounds (EDCs) in Kuwait's coastal areas. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 118, p.407-412, 2017.

SANTANA, L.M.B.M.; COSTA-LOTUFO, L.V.; ABESSA, D.M.S. A contaminação antrópica e seus efeitos em três estuários do litoral do Ceará, Nordeste do Brasil – revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p. 93-115. 2015.

SANTOS, D.M.; BURUAEM, L.; GOLÇALVES, R.M.; WILLIAMS, M.; ABESSA, D.M.S.; KOOKANA, R.; MARCHI, M.R.R. Multiresidue determination and predicted risk assessment

of contaminants of emerging concern in marine sediments from the vicinities of submarine sewage outfalls. **Mar. Pollut. Bull.**, Araraquara, v. 129, p. 299-307, 2018.

SAUVÉ, S.; DESROSIERS, M. A review of what is an emerging contaminant. **Chem. Cent. J.**, Montreal, v. 8, p. 1 – 7, 2014.

SEACHRIST, D.D., BONK, K.W., HO, S., PRINS, G.S., SOTO, A.M., KERI, R.A. A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. **Reprod. Toxicol.**, Cleveland, v. 59, p. 167-182, 2016.

SELVARAJ, K.K.; SHANMUGAM, G.; SAMPATH, S.; LARSSON, D.G.J.; RAMASWAMY, B.R. GC-MS determination of bisphenol A and alkylphenol ethoxylates in river water from India and their ecotoxicological risk assessment. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, Tamil Nadu, v. 99, p. 13-20, 2014.

SEMA – Secretaria Estadual do Meio Ambiente. **Cocó – um guia para desfrutar das belezas**. Fortaleza, 2016. 15 p.

SEMA – Secretaria Estadual do Meio Ambiente. **APA do Rio Pacoti**, 2017. Disponível em: <<http://www.sema.ce.gov.br/attachments/article/45954/APA%20do%20Rio%20Pacoti.pdf>>. Acesso em: 27 abril de 2018.

SILVA, K.T.; SILVA, C.P.; LEMOS, J.O.; JÚNIOR, A.O.S.B. Do semiárido ao litoral: Cocó, o maior rio urbano do Ceará. In: Workshop Internacional sobre Água no Semiárido Brasileiro, 2., 2015, Campina Grande. **Anais Workshop Internacional sobre Água no Semiárido Brasileiro**. Campina Grande: Realize, 2015. p. 1-8.

SMALL, C.; NICHOLLS, R.J. A global analysis of human settlement in coastal zones. **Journal of Coastal Research**, Columbia, v. 19, n. 3, p. 584-599. 2003.

SOUZA, M.M.A.; SAMPAIO, E.V.S.B. Estrutura dos mangues em áreas pouco antropizadas e em regeneração no rio Pacoti, CE. **Caderno de Cultura e Ciências**, Crato, v. 12, n. 2, p. 32-43. 2013.

STAPLES, C.A., WOODBURN, K., CASPERS, N., HALL, A.T., KLECKA, G.M. A weight of evidence approach to aquatic hazard assessment of bisphenol A. **Hum. Ecol. Risk Assess.**, v. 8, p. 1083-1105, 2002.

STARLING, M.C.V.M.; AMORIM, C.C.; LEÃO, M.M.D. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. **J. Hazard. Mater.**, Belo Horizonte, v. 372, p. 17 – 36, 2019.

SUBEDI, B.; BALAKRISHNA, K.; SINHA, R.K.; YAMASHITA, N.; BALASUBRAMANIAN, V.G.; KANNAN, K. Mass loading and removal of pharmaceuticals and personal care products, including psychoactive and illicit drugs and artificial sweeteners, in five sewage treatment plants in India. **Chemosphere**, New York, v. 167, p. 429-437, 2015.

TAHERAN, M.; NAGHDI, M.; BRAR, S.K.; VERMA, M.; SURAMPALLI, R.Y. Emerging contaminants: here today, there tomorrow! **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, Québec, v. 10, p. 122 – 126, 2018.

- TAMBLYN, R. Medication use in seniors: challenges and solutions. **Therapie**, v. 51, p. 269-282, 1996.
- TAYLOR, D.; SENAC, T. Human pharmaceutical products in the environment – the “problem” in perspective. **Chemosphere**, v. 115, p. 95-99, 2014.
- TEIXEIRA, C.P.B.; XIMENES, D.R.B.; SOUSA, H.P.; SOUTO, M.V.S.; SABADIA, J.A.B. Análise multitemporal do manguezal do estuário do rio Cocó e seus entornos, no município de Fortaleza/CE por meio dos produtos de sensoriamento remoto. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 16., 2013, Foz do Iguaçu. **Anais Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**. Foz do Iguaçu: INPE, 2013. p. 6495-6501.
- TOMIYASU, T.; MATSUYAMA, A.; EGUCHI, T.; FUCHIGAMI, Y.; OKI, K.; HORVAT, M.; RAJAR, R.; AKAGI, H. Spatial variations of mercury in sediment of Minamata Bay, Japan. *Science of the Total Environment*, v. 368, p. 283 – 290, 2006.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 1992. United States Environmental Protection Agency. **Framework for ecological risk assessment**. Washington, DC EPA/630/R-92/001.41p.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. 2011. EPA’s Endocrine Disruptor **Screening program should establish management controls to ensure more timely results**. Washington, DC EPA. 30p.
- UNESCO, 2018 <https://en.unesco.org/emergingpollutants?language=fr>
- USGS, 2017. **Contaminants of Emerging Concern in the Environment. Environmental Health - Toxic Substances Hydrology Program**. U.S. Geological Survey.
- VAISMAN, A.G.; MARINS, R.V.; LACERDA, L.D. Characterization of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, as a biomonitor for mercury in tropical estuarine systems, Northeast Brazil. *Bull Environ Contam Toxicol.*, Fortaleza, v. 74, p. 582-588, 2005.
- VAN-LEEUEWEN, K. **Technical guidance document on risk assessment**. Ispra, 2003. 328 p.
- VIANA, D.B. Avaliação de risco ambiental em áreas contaminadas: uma proposta metodológica. 2010. 152 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia em Planejamento Energético) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
- VIKAS, M., DWARAKISH, G.S. Coastal Pollution: a review. **Aquat. Pr.**, Mangalore v. 4, p. 381-388, 2015.
- WILHELMSSON, D.; THOMPSON, R.C.; HOLMSTRÖM, K.; LINDÉN, O.; ERIKSSON-HÄGG, H. Marine Pollution. In: **Managing Ocean Environments in a Changing Climate**. 1. ed. City: Elsevier, 2013. cap. 6, p. 127-169.

WILKINSON, J.; HOODA, P.S.; BARKER, J.; BARTON, S.; SWINDEN, J. Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: an overarching review of the field. **Environ. Pollut.**, v. 231, p. 954 – 970, 2017.

WITT, G. Occurrence and transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water bodies of the Baltic Sea. **Marine Chemistry**, v. 79, p. 49 – 66, 2002.

YANG, J.; LI, H.; RAN, Y.; CHAN, K. Distribution and bioconcentration of endocrine disrupting chemicals in surface water and fish bile of the Pearl river delta, south China. **Chemosphere**, Guangzhou, v. 107, p. 439-446, 2014.

YING, G.; KOOKANA, R.S.; RU, Y.J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environ. Int.**, Adelaide, v. 28, p. 545-551, 2002.

ZHANG, Q.; YING, G.; PAN, C.; LIU, Y.; ZHAO, J. Comprehensive evaluation of antibiotic emission and fate in the river basin of China: source analysis, multimedia modeling and linkage to bacterial resistance. **Environ. Sci. Technol.**, Guangzhou, v. 49, p. 6772-6788, 2015.

ZOELLER, R.T.; BROWN, T.R.; DOAN, L.L.; GORE, A.C.; SHAKKEBAEK, N.E.; SOTO, A.M.; WOODRUFF, T.J.; SAAL, F.S.V. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the endocrine society. **Endocrinology**, Amherst, v. 153, p. 4097-4110, 2012.

ZUO, Y.; ZHANG, K.; DENG, Y. Occurrence and photochemical degradation of 17 α -ethinylestradiol in Acushnet river estuary. **Chemosphere**, v. 63, p. 1583-1590, 2006.

CAPÍTULO I

Toxicidade de três contaminantes emergentes em organismos marinhos não-alvo

Toxicity of three emerging contaminants to non-target marine organisms

Allyson Q. da Silva^a, Denis Moledo de Souza Abessa^{b*}

^aInstituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Universidade Federal do Ceará, Av. da Abolição, 3207, Bairro Meireles, CEP 60165-081- Fortaleza-Ceará-Brasil.

^bNúcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática (NEPEA), Campus Experimental do Litoral Paulista (UNESP), Praça Infante Dom Henrique s/n, Parque Bitaru, 11330-90, São Vicente, SP, Brasil.

Os dados do capítulo 1 foram publicados na revista “Environmental Science and Pollution Research” sobre o título de “Toxicity of three emerging contaminants to non-target marine organisms”. DOI: doi.org/10.1007/s11356-019-05151-9

RESUMO

As áreas costeiras são continuamente impactadas por atividades antrópicas, pois abrigam grandes conglomerados urbanos. Os efluentes urbanos, direta ou indiretamente, acabam atingindo o ambiente marinho, liberando um grande número de poluentes que incluem os chamados contaminantes de interesse emergente (CIE), uma vez que as estações de tratamento convencionais não são eficazes na remoção desses compostos dos efluentes. Essas substâncias incluem hormônios, produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, nanopartículas, biocidas, entre outros. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade dos compostos 17 α -etinilestradiol (EE2), ácido acetilsalicílico (AAS) e bisfenol-A (BPA) em dois crustáceos marinhos e um equinoderma, avaliando os seguintes parâmetros: sobrevivência (*Artemia* sp. e *Mysidopsis juniae*) e desenvolvimento embrionário (*Echinometra lucunter*). Os valores de CL_{50} calculados nos testes de toxicidade aguda mostraram que os compostos foram mais tóxicos para *M. juniae* do que para *Artemia* sp. Entre os três contaminantes, o EE2 foi o mais tóxico ($CL_{50-48h} = 18,4 \pm 2,7 \text{ mg.L}^{-1}$ para *Artemia* sp.; $CL_{50-96h} = 0,36 \pm 0,07 \text{ mg.L}^{-1}$ para *M. juniae*). Os três compostos testados afetaram significativamente o desenvolvimento embrionário do ouriço-do-mar em todas as concentrações testadas, incluindo concentrações ecologicamente relevantes, indicando o risco potencial que esses contaminantes podem apresentar para a biota marinha.

Palavras-chave: AAS; BPA; EE2; toxicidade aguda; toxicidade crônica.

ABSTRACT

Coastal areas are continually impacted by anthropic activities, because they shelter large urban conglomerates. Urban effluents, directly or indirectly end up reaching the marine environment, releasing a large number of pollutants which include the so-called contaminants of emerging concern (CECs), since the conventional treatment plants are not effective in removing these compounds from the effluents. These substances include hormones, pharmaceuticals and personal care products, nanoparticles, biocides, among others. The aim of this study was to evaluate the toxicity of the 17 α -ethinylestradiol (EE2), acetylsalicylic acid (ASA) and bisphenol-A (BPA) to two marine crustaceans and one echinoderm, evaluating the following parameters: survival (*Artemia* sp. and *Mysidopsis juniae*), embryolarval development (*Echinometra lucunter*). The LC₅₀ values calculated in the acute toxicity tests showed that the compounds were more toxic to *M. juniae* than to the *Artemia* sp. Among the three contaminants, EE2 was the most toxic (LC_{50-48h} = 18.4 \pm 2.7 mg.L⁻¹ to *Artemia* sp.; LC_{50-96h} = 0.36 \pm 0.07 mg.L⁻¹ to *M. juniae*). The three tested compounds affected significantly the embryonic development of the sea urchin in all tested concentrations, including ecologically relevant concentrations, indicating the potential risk that these contaminants may present to the marine biota.

Key-words: ASA; BPA; EE2; acute toxicity; chronic toxicity.

1.1 Introdução

As áreas costeiras abrigam grandes centros urbanos e, portanto, consistem em regiões que concentram a maior parte da população mundial, bem como suas atividades relacionadas (SMALL, NICHOLLS, 2003; SMITH, 2011). Todas as atividades antrópicas realizadas nessas regiões resultam na produção e liberação de resíduos, como efluentes industriais, hospitalares ou domésticos, que acabam atingindo o meio aquático. Esses efluentes antrópicos apresentam uma infinidade de contaminantes associados, como metais pesados, amônia, sulfatos, hidrocarbonetos, óleos e graxas, detergentes, antiincrustrantes, biocidas (KIBRIA *et al.*, 2016; VIKAS, DWARAKISH, 2015; WILHELMSSON *et al.*, 2013) entre outros compostos.

Entre os vários contaminantes presentes no esgoto e efluentes urbanos, os chamados contaminantes de preocupação emergente (CPE) têm recebido grande atenção da comunidade científica nos últimos anos (ALMEIDA *et al.*, 2014; GONZÁLES-PÉREZ, SARMA, NANDINI, 2016; NIETO *et al.*, 2017; WILKINSON *et al.*, 2017). De acordo com a USEPA (2008) os CPE consistem em substâncias químicas que não possuem padrão regulatório, que foram recentemente encontrados em matrizes ambientais e, que potencialmente, em concentrações ambientalmente relevantes podem vir a causar efeitos deletérios na vida aquática.

Os CPE incluem vários tipos de substâncias, como poluentes orgânicos persistentes (POP), nanomateriais, produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP), medicamentos veterinários, pesticidas organoclorados, hormônios, entre outros. Parte desses produtos químicos é encontrada na composição de produtos utilizados diariamente pela população, como pasta dental, detergentes, produtos farmacêuticos, utensílios de plástico e retardadores de chama (KUSTER *et al.*, 2008; LAPWORTH *et al.*, 2012; PAL *et al.*, 2010; RODRIGUEZ-NARVAEZ *et al.*, 2017).

Como mencionado, os CPE não são frequentemente submetidos à regulamentação ou monitoramento por órgãos ambientais (BARCELÓ, 2003). No entanto, a recente melhoria nos métodos químicos analíticos tornou possível identificar e quantificar essas substâncias em amostras ambientais aquáticas em concentrações baixas, na faixa de ng.L^{-1} a $\mu\text{g.L}^{-1}$ (EBELE, ABDALLAH, HARRAD, 2017; LÓPEZ-SERNA, PETROVIC, BARCELÓ, 2012; PEREIRA *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2017). Estudos relatam a presença de CPE em uma grande porcentagem de amostras de efluentes domésticos tratados, águas subterrâneas, águas

superficiais e em organismos (DU *et al.*, 2014; KOLPIN *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2018; VIDAL-DORSCH *et al.*, 2012).

A preocupação com os CPE deve-se as suas implicações para os organismos aquáticos não-alvo (organismos que não deveriam ser afetados pelos CPE, em seu uso específico) e por conseguinte ao risco aos ecossistemas aquáticos. De modo geral, alguns CPE são conhecidos por sua capacidade de interferir no sistema endócrino (i.e., podem ser agentes desreguladores do sistema endócrino) de animais aquáticos e, assim, prejudicar alguns processos metabólicos, como reprodução, crescimento, comportamento ou desenvolvimento embrionário, ou mesmo de ocasionar efeitos não associados com a desregulação endócrina (FENT, WESTON CAMINADA, 2006; FLINT *et al.*, 2012; KÜMMERER, 2009; LI, 2014). Assim, os CPE têm o potencial de causar efeitos adversos em organismos não-alvo expostos de maneira crônica ou aguda (CORTEZ *et al.*, 2012; LANGE *et al.*, 2006; NUNES, CARVALHO, GUILHERMINO, 2005; PASCOE, KARNTANUT, MÜLLER, 2003), porém dados referentes aos efeitos ecotoxicológicos dos CPE ainda são escassos.

Os PFHP são a principal preocupação, não só por apresentarem altas taxas de consumo diário em todo o mundo (BOECKEL *et al.*, 2014; BONES, THOMAS, PAULL, 2007), mas também porque são projetados para gerar efeitos em vias ou processos metabólicos de seres humanos (FENT, WESTON, CAMINADA, 2006). Alguns desses mecanismos afetados estão também presentes em uma ampla gama de grupos taxonômicos (GUNNARSSON *et al.*, 2008), porque uma série de alvos são evolutivamente conservados em muitos organismos aquático, como os vertebrados (BERNINGER, BROOKS, 2010). No entanto, em invertebrados aquáticos, os PFHP podem afetar outros processos metabólicos, gerando efeitos desconhecidos para esses organismos.

Os PFHP são comumente encontrados em esgotos e águas drenagem urbana, e alguns compostos não são totalmente removidos em estações convencionais de tratamento de esgoto (DAI *et al.*, 2014; YUAN *et al.*, 2013); além disso, constituem um problema mais complexo nos países em desenvolvimento, onde o sistema de coleta e tratamento de esgoto é precário ou inexistente (KULLENBERG, 1999; PEREIRA *et al.*, 2016). Dentre os PFHP mais relevantes o 17 α -etinilestradiol (EE2) e o ácido acetilsalicílico (ASA) são proeminentes devido ao seu alto consumo e ocorrência no ambiente (GUMBI *et al.*, 2017; KOLPIN *et al.*, 2002; NANNOU, KOSMA, ALBANIS, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2009; SAEED *et al.*, 2017; STUMPF *et al.*, 1999; TERNES, 1998; VIDAL-DORSCH *et al.*, 2012). O EE2 é um componente das pílulas anticoncepcionais, tem sido frequentemente detectado nas ETE (DU *et al.*, 2014; HANNAH *et al.*, 2009; VIDAL-DORSCH *et al.*, 2012); esse composto atua no

sistema endócrino de organismos não-alvo, ocasionalmente revertendo o sexo (imposex ou intersex) como observado em peixes expostos a concentrações ambientalmente relevantes (PAIVA, SOUZA, VAN-HAADEL, 2011). Em amostras ambientais aquáticas, o EE2 já foi detectado na faixa entre 3,01 – 34 ng.L⁻¹ (ARIS, SHAMSUDDIN, PRAVEENA, 2014). Em humanos, o AAS é amplamente utilizado como antipirético para reduzir a febre e prevenir ataques cardíacos (LANAS *et al.*, 2011), mas em organismos que não seriam expostos a esta substância em condições normais, AAS afeta as taxas de crescimento e reprodução (MARQUES, ABRANTES, GONÇALVES, 2004). A concentração de AAS em amostras de águas superficiais atinge 660 ng.L⁻¹ (PHILIP, ARAVIND, ARAVINDAKUMAR, 2018).

Por sua vez, o bisfenol A (BPA) é um composto utilizado na fabricação de utensílios domésticos de plástico ou no revestimento de embalagens metálicas utilizadas para armazenar alimentos (ROCHESTER, 2013; SEACHRIST *et al.*, 2016); este composto também é encontrado disseminado no meio ambiente em todo o mundo (BASHEER, LEE, TAN, 2004; BELFROID, VELZEN, HORST, 2002; KOLPIN *et al.*, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2009). Nos últimos anos, a produção e o consumo de BPA têm aumentado. O volume de consumo global de BPA, estimado em 7,7 milhões de toneladas em 2015, deverá atingir 10,6 milhões de toneladas até 2022, a uma taxa de crescimento anual de 4,8% entre 2016 e 2022 (INDUSTRY EXPERTS, 2016). Conseqüentemente, espera-se que a entrada de BPA no ambiente siga a tendência exibida pela sua taxa de consumo. No ambiente aquático, o BPA encontra-se na faixa de 140 – 12.000 ng.L⁻¹ (WILKINSON *et al.*, 2017). Devido à preocupação com a saúde humana, a aplicação e o uso de plásticos a base de BPA em produtos e alimentos estão sendo revisados, e seu uso em mamadeiras é proibido no Canadá, União Europeia, Brasil e Estados Unidos (FDA, 2014; EUROPEAN COMMISSION, 2011; GOVERNMENT OF CANADA, 2016). Além disso, a Agência Europeia de Produtos Químicos (ECHA) adicionou o BPA em 2017 à lista de substâncias candidatas que requerem grande atenção (LEHMLER *et al.*, 2018).

Um de seus modos de ação em sistemas biológicos é através da mimetização de hormônios esteroidais; assim, o BPA atua como um desregulador endócrino (PLANELLO, MARTÍNEZ-GUITARTE, MARCILLO, 2008). Em humanos, particularmente em mulheres, a exposição ao BPA está associada à síndrome do ovário policístico, hiperplasia do endométrio e abortos recorrentes (VANDENBERG *et al.*, 2007).

Apesar da maior quantidade de dados analíticos sobre a presença dos CPE no meio ambiente, estudos avaliando os seus possíveis efeitos ecotoxicológicos em organismos aquáticos ainda são escassos e relativamente limitados (CLEUVERS, 2004; WEBB, 2001), especialmente em relação às espécies tropicais. A falta de informações robustas sobre a

toxicidade dos CPE dificulta a estimativa dos riscos associados a essas substâncias, dificultando o estabelecimento de mecanismos regulatórios para lidar com a contaminação ambiental associada a eles.

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos tóxicos de três CPE (o hormônio EE2, o fármaco AAS e o BPA), em organismos marinhos, e assim fornecer informações adicionais para estimar os riscos ambientais relativos aos respectivos compostos.

1.2 Materiais e métodos

1.2.1 Reagentes

Os reagentes 17 α -etinilestradiol (EE2, esteroide, CAS nº 57-63-6 e grau de pureza >98%), bisfenol-A (BPA, difenol, CAS nº 80-05-7 e grau de pureza >99%) e ácido acetilsalicílico (AAS, anti-inflamatório não esteroide, CAS nº 50-78-2 e pureza >99%) foram obtidos da empresa Sigma Aldrich. Os solventes acetona e dimetilsulfóxido (DMSO) foram obtidos da empresa Dinâmica Química Contemporânea LTDA. EE2 e AAS foram dissolvidos em acetona para assim obter soluções estoques distintas, enquanto o BPA foi dissolvido em DMSO. Para acetona e DMSO, a concentração máxima de solvente utilizadas nas soluções teste foi 0,05%. Para cada experimento novas soluções estoque foram preparadas anteriormente devido às características dos compostos (Tabela 1). As concentrações-teste consistiram em concentrações nominais.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas dos compostos analisados.

Composto	FM	PM	LogK _{ow}	pKa	Solubilidade em água	T(1/2) em água
17 α -etinilestradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,41 g.mol ⁻¹ ^a	3,67 ^a	10,4 ^b	11,3 mg.L ⁻¹ em 27 °C ^a	17 dias ^c
Bisfenol-A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,29 g.mol ⁻¹ ^a	3,32 ^a	9,6 ^a	300 mg.L ⁻¹ em 25 °C ^a	4 dias ^d
Ácido acetilsalicílico	C ₉ H ₈ O ₄	180,15 g.mol ⁻¹ ^a	1,19 ^a	3,49 ^a	4600 mg.L ⁻¹ em 25 °C ^a	6.2 dias ^a

FM: fórmula molecular; PM: peso molecular.

^aPubChem (2018)

^bHamid e Eskicioglu (2012)

^cAtkinson *et al.* (2011)

^dKang e Kondo (2005)

1.2.2 Bioensaios de toxicidade

1.2.2.1 Teste de toxicidade aguda com *Artemia* sp.

Artemia sp. (Arthropoda: Branquiopoda) (Figura 3) são microcrustáceos que estão amplamente distribuídos em habitat aquáticos de salinidade baixa ou alta, portanto são animais que conseguem sobreviver a um amplo espectro de salinidade. Normalmente são organismos que conseguem se reproduzir de modo partenogenético, ou seja, na ausência de machos, gerando assim cistos que ao eclodirem liberam náuplios (VEIGA, VITAL, 2002).



Fig. 3 – Microcrustáceo *Artemia* sp. utilizado nos bioensaios de toxicidade aguda.

Cistos de *Artemia* sp., adquiridos em estabelecimento comercial de produtos de aquários, foram submetidos a tratamento a fim de obter náuplios estágio II (48 h) para o teste de toxicidade. Para tanto, inicialmente os cistos foram hidratados em água destilada por no mínimo uma hora em aeração constante. Após isso, o excesso de água destilada foi retirado e foram adicionados 100 ml de hipoclorito de sódio sendo então submetida à constante agitação em um béquer, até os cistos atingirem a cor alaranjada. Logo em seguida, os cistos foram lavados em água corrente e acondicionados em água do mar (salinidade 35) por 48 h sobre aeração constante.

O teste de toxicidade aguda consistiu na exposição de 10 náuplios de *Artemia* sp. estágio II, em triplicata em placas de multicavidade de 24 poços durante 48 h, nas concentrações dos contaminantes analisados sem que houvesse renovação da solução (teste estático). As concentrações utilizadas nos experimentos foram: EE2 (5,0; 12,5; 25; 50 e 100 mg.L⁻¹), BPA (6,25; 12,5; 25; 50 e 100 mg.L⁻¹) e AAS (250; 275; 300; 325 e 350 mg.L⁻¹). As concentrações foram estabelecidas mediante experimentos prévios.

Os experimentos foram mantidos em condições controladas de temperatura (24 ± 2 °C) e luminosidade (12h claro: 12h escuro). A cada 24 horas de exposição eram feitas observações em cada réplica, contabilizando o número de organismos mortos mediante a sua imobilidade por mais de 10 segundos. Os bioensaios incluíram um controle com água do mar filtrada (salinidade 35) e controle solvente (acetona ou DMSO). Para cada composto foram realizados três experimentos para obtenção do valor da CL_{50} média. A validação dos experimentos foi feita com base na sensibilidade de *Artemia* sp. a substância de referência dodecil sulfato de sódio (SDS). Os requisitos para os bioensaios agudos com *Artemia* sp. foram sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2 – Resumo das condições necessárias para teste de toxicidade aguda com *Artemia* sp..

Teste de toxicidade aguda com <i>Artemia</i> sp.	
Tipo de teste	Estático
Recipiente teste	Placa de multicavidade de 24 poços
Volume final	2,5 ml
Água de diluição	Água do mar filtrada (0,45 μ m)
Idade dos organismos	48 horas
Nº de organismos/réplica	10 organismos
Nº de réplicas/concentração	3
Temperatura de incubação	24 ± 2 °C
Fotoperíodo	12 h claro: 12 h escuro
Período de exposição	48 horas
Endpoint	Mortalidade

1.2.2.2 Teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae*

O misidáceo *Mysidopsis juniae* (Arthropoda: Malacostraca) (Figura 4) é um microcrustáceo utilizado em estudos ecotoxicológicos no Brasil, pois é uma espécie nativa, que se mostra sensível a diversas substâncias tóxicas (ARAGÃO, ARAÚJO, 2006). Esse microcrustáceo mantém-se sobre o fundo aquático e se alimenta de outros microcrustáceos, fitoplâncton (através de filtração) e até material em decomposição (DOMINGUES, BERTOLETTI, 2006). Na teia alimentar, esses organismos desempenham importante papel uma vez que servem de alimento para os mais variados níveis tróficos, sendo assim um ponto de ligação entre os estratos tróficos basais e mais elevados (MEES *et al.*, 1994).



Fig. 4 – Microcrustáceo *Mysidopsis juniae* utilizado nos bioensaio de toxicidade aguda (Fonte: Acervo pessoal).

Os misidáceos (microcrustáceos) foram cultivados em condições controladas, em aquários com água do mar filtrada (0,8 µm) obedecendo à quantidade de 45 fêmeas e 15 machos (proporção 3:1). Os parâmetros abióticos do cultivo seguiram as condições: salinidade (35 ±2), fotoperíodo (12 h luz: 12 h escuro), temperatura (24 ±2 °C), oxigênio dissolvido (OD) acima de 4 mg.L⁻¹ de saturação e aeração constante e suave. Os organismos eram alimentados diariamente com náuplios (72 h de idade) de *Artemia* sp. (*ad libitum*) enriquecidos com óleo de peixe e de fígado de bacalhau. A cada sete dias eram separados os misidáceos adultos dos filhotes, estes últimos sendo usados para experimentos de toxicidade aguda ou para a criação de novos cultivos.

O teste de toxicidade aguda para *M. juniae* foi feito de acordo com protocolo estabelecido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (ABNT, 2011). Para tanto, dez juvenis (6 – 8 dias de idade) de *M. juniae* foram expostos em triplicata por 96 horas aos contaminantes. As concentrações utilizadas nos experimentos foram: EE2 (0,039; 0,078; 0,156; 0,312 e 0,625 mg.L⁻¹), BPA (0,312; 0,625; 1,25; 2,5 e 5 mg.L⁻¹) e AAS (50, 100, 150, 200 e 250 mg.L⁻¹). As concentrações foram estabelecidas mediante experimentos prévios.

Os experimentos foram mantidos em condições controladas de fotoperíodo (12 h luz: 12 h escuro), temperatura (24 ±2 °C) e alimentados diariamente com náuplios de *Artemia* sp. (48 h). A cada 24 horas as réplicas de cada concentração eram observadas e os organismos mortos eram contabilizados e removidos. Todos os bioensaios incluíram um controle com água do mar filtrada (salinidade 35) e um controle solvente (acetona ou DMSO). No início e no fim do período de exposição foram mensurados os parâmetros físico-químicos pH, OD e salinidade. Para cada composto foram realizados três experimentos permitindo o cálculo do valor da CL₅₀ média. A validação dos experimentos foi feita com base na sensibilidade de *M. juniae* a substância de referência sulfato de zinco heptahidratado (ZnSO₄.7 H₂O). Os requisitos para os testes de toxicidade aguda com *M. juniae* foram sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resumo das condições necessárias para o teste de toxicidade aguda com *M. juniae*.

Teste de toxicidade aguda com <i>M. juniae</i>	
Tipo de teste	Estático
Recipiente teste	Béqueres 400 ml
Volume final	300 ml
Água de diluição	Água do mar filtrada (0,45 µm)
Idade dos organismos	6 – 8 dias
Nº de organismos/réplica	10 organismos
Nº de réplicas/concentração	4
Temperatura de incubação	24 ±2 °C
Fotoperíodo	12 h claro: 12 h escuro
Período de exposição	96 horas
Endpoint	Mortalidade

1.2.2.3 Teste de toxicidade crônica com *Echinometra lucunter*

Echinometra lucunter (Echinodermata: Echinoidea) (Figura 5) é um ouriço mar comum na costa brasileira, em particular em paredões rochosos situados entre Pernambuco e Santa Catarina, e apresenta grande capacidade bioerosiva (RATHBUN, 1879; TOMMASI, 1957). É um organismo que se alimenta de pequenos animais e algas e serve de alimento para outros animais, inclusive o homem (BARNES, RUPPERT, FOX, 2005). Seu corpo é formado por uma carapaça de carbonato cálcio onde são encontrados espinhos fundidos a ela, o que o configura como agente causador de ferimentos graves.



Fig. 5 – Ouriço do mar *Echinometra lucunter* utilizado nos bioensaios de toxicidade crônica. À esquerda ouriço do mar macho liberando espermatozoides pelos gonóporos. (Fonte: Acervo pessoal).

O teste crônico de embriotoxicidade foi realizado com o ouriço do mar da espécie *E. lucunter* seguindo o protocolo estabelecido pela ABNT (2012). Os ouriços foram coletados em costões rochosos da ilha das Palmas (área de referência), localizada na baía de Santos (SP), acondicionados em caixas térmicas, cobertos com algas (*Ulva* sp.) para que as condições de temperatura fossem mantidas e conduzidos para o laboratório. Em laboratório os ouriços do mar foram acondicionados em tanques com água do mar (salinidade 35), temperatura (25 ± 2 °C) e OD acima de 4 mg.L^{-1} de saturação.

Para a obtenção das larvas foi necessário fazer fertilização *in vitro* mediante a aquisição de gametas. Os gametas dos ouriços foram obtidos por estimulação química pela administração de Cloreto de Potássio (KCl) a 0,5 M com injeções na região da cavidade peritoneal do animal. Os óvulos (coloração amarelo alaranjada) foram coletados apoiando a região aboral das fêmeas em um béquer com água de diluição e logo em seguida foram visualizados em microscópio óptico para avaliar sua viabilidade com base no seu formato. Os espermatozoides (coloração branca) foram coletados com uma pipeta de Pasteur de vidro de ponta fina diretamente dos gonóporos, e acondicionados em um béquer, sem água de diluição, o qual permaneceu envolto em gelo até o momento da fertilização.

A fertilização foi realizada com adição de 1 ml solução de espermatozoides à suspensão de óvulos, em condição de agitação suave e a temperatura ambiente. Depois de 15 min de agitação, 3 alíquotas da solução de fertilização foram analisadas em uma câmara de Sedwick-Rafter, para contagem e cálculo da porcentagem de óvulos fertilizados (acima de 80%) baseado na observação da membrana de fertilização. Logo em seguida, foi mensurada a quantidade de óvulos presentes nessa solução, através de média aritmética, e o volume que deveria ser transferido para os tubos de ensaios, onde os experimentos foram efetuados, contendo cada um deles 10 ml da solução teste.

Uma vez que se obteve um valor mínimo de 80% de fecundação, os embriões (30 embriões/ml) foram expostos, em quadruplicata, aos contaminantes por um período de 36 horas. As concentrações usadas nos experimentos foram: EE2 e BPA (1,56; 3,12; 6,25; 12,5; 25 e $50 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e AAS (4,68; 9,37; 18,75; 37,5; 75 e $150 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$). As concentrações foram estabelecidas mediante experimentos prévios.

Os experimentos foram mantidos em uma câmara incubadora B.O.D. em condições controladas de fotoperíodo (16 h luz: 8 h escuro) e temperatura (24 ± 2 °C). Todos os bioensaios incluíram um controle com água do mar reconstituída (salinidade 35) e um controle solvente (acetona ou DMSO). Depois de 36 horas de exposição, as amostras foram

fixadas com formol tamponado com bórax para posterior contagem em câmara de Sedgwick-Rafter.

Os resultados foram expressos em porcentagem de larvas com desenvolvimento embrio-larval normal (larva pluteus) (Figura 15), e para tanto foram contabilizadas as 100 primeiras larvas na câmara de contagem. Todas as formas que diferem das larvas normais foram consideradas afetadas, como aquelas que apresentaram deformações morfológicas ou atraso no seu desenvolvimento (ovos não desenvolvidos, blástula, gástrula, prisma e plúteo jovem). Essas anormalidades são mostradas na figura 6 (PERINA *et al.*, 2001). Para cada composto foram efetuados três experimentos. Os requisitos para os bioensaios crônicos com *E. lucunter* estão sumarizados na Tabela 4.

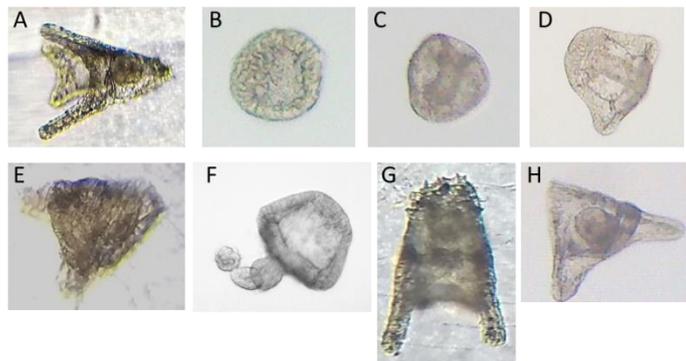


Fig. 6 – Formas embrionárias de *E. lucunter*, mostrando uma larva pluteus normal (A), larva com desenvolvimento retardado, como blástula (B), gástrula (C), prisma (D), embrião jovem (E) e larvas malformadas (F,G e H) larvae (F, G and H). (Fotos B, C, D, F e H - cortesia do Dr. Fernando Perina).

Tabela 4 – Resumo das condições necessárias para o teste de toxicidade crônica com *E. lucunter*.

Teste de toxicidade crônica com <i>E. lucunter</i>	
Tipo de teste	Estático
Recipiente teste	Tubo de ensaio de 20 ml
Volume final	10 ml
Água de diluição	Água reconstituída
Idade dos organismos	Embriões com 2h a partir da fecundação
Nº de organismos/réplica	300 embriões
Nº de réplicas/concentração	4
Temperatura de incubação	24 ±2 °C
Fotoperíodo	16 h claro: 8 h escuro
Período de exposição	36 horas
Endpoint	Desenvolvimento embriolarval

1.2.2.4 Teste de toxicidade crônica com *Nitocra* sp.

Os copépodos *Nitocra* sp. (Arthropoda: Maxillopoda) (Figura 7) são organismos de hábito bentônico, portanto estão associados ao sedimento de onde obtém o seu alimento, e são encontrados no litoral do Brasil (REID, 1998). Os copépodos usados no presente estudo foram cultivados em erlenmeyers preenchidos com 800 ml água do mar a uma salinidade de 17 e mantidos em câmara incubadora B.O.D. em condições controladas de temperatura (25 ± 2 °C) e fotoperíodo (16 h luz: 8 h escuro). Esses organismos foram coletados do sedimento lamoso de uma zona entre maré situada no complexo estuarino lagunar de Cananéia, região litorânea do estado de São Paulo. Os organismos eram alimentados a cada 48 h com um mistura preparada com fermento biológico e ração de peixe. A cada três meses era feita a replicação do cultivo, mediante a separação de fêmeas ovadas com o auxílio de uma peneira (malha 125 μ m) e a sua inoculação em um novo cultivo.



Fig. 7 – Copépodo *Nitocra* sp. utilizado nos bioensaios de toxicidade crônica. (Fonte: goo.gl/FTgWtd).

O teste crônico com *Nitocra* sp. usou como *endpoint* a taxa de fecundidade. Fêmeas foram expostas a sedimento contaminado com cada um dos contaminantes analisados seguindo método descrito por Lotufo e Abessa (2002). Os experimentos foram realizados através da exposição de fêmeas, em quadruplicata, ao sedimento contaminado por um período de 10 dias. Os sedimentos contaminados (5 g) foram dispostos em frascos de vidro junto com 10 ml de água de diluição (salinidade 17) e junto deles também foi adicionada uma solução de levedura e água (100 μ l/réplica) para servir de alimento as fêmeas.

As concentrações usadas nos experimentos foram: EE2 e BPA (3,12; 6,25; 12,5; 25 e 50 μ g.g⁻¹) e AAS (9,37; 18,75; 37,5; 75 e 150 μ g.g⁻¹). As concentrações foram estabelecidas mediante experimentos prévios. Os testes foram mantidos em câmara incubadora B.O.D. em condições de temperatura (25 ± 2 °C) e fotoperíodo (16 h luz: 8 h escuro) controlados e sem

aeração. Todos os bioensaios incluíram controle com sedimento não contaminado e um controle com sedimento contaminado com solvente (acetona ou DMSO).

No início e no fim do período de exposição foram mensurados os parâmetros físico-químicos. Ao final dos 10 dias de exposição às amostras foram fixadas com formalina 10% e coradas com rosa de bengala. Cada uma das réplicas foram passadas em uma peneira (0,45 µm) e o material que ficava retido nela era observado e triado em microscópio estereoscópico com o auxílio de agulhas e espátulas, tendo como finalidade a separação do material sedimentar, das fêmeas, náuplios e copepoditos (Figura 8). Os resultados foram expressos como sobrevivência, prole (náuplios + copepoditos) e taxa de fecundidade (náuplios + copepoditos/fêmea). A validação dos experimentos foi feito com base na exposição de organismos do cultivo (sem sedimento) a substância de referência Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$). Os requisitos para os bioensaios crônicos com *Nitocra* sp. foram sumarizados na tabela 5.



Fig. 8 – Copéodo *Nitocra* sp. (A – náuplio; B – copepodito; C – fêmea) (Fonte: NEPEA).

Tabela 5 – Resumo das condições necessárias para teste de toxicidade crônica com *Nitocra* sp..

Teste de toxicidade crônica com <i>Nitocra</i> sp.	
Tipo de teste	Estático
Recipiente teste	Frascos de vidro
Volume final	10 ml
Água de diluição	Água reconstituída
Idade dos organismos	Fêmeas adultas e ovadas
Nº de organismos/réplica	5 fêmeas
Nº de réplicas/concentração	4
Temperatura de incubação	25 ±2 °C
Fotoperíodo	16 h claro: 8 h escuro
Período de exposição	10 dias
Endpoint	Fecundidade

A contaminação do sedimento foi feita de acordo com o método usado por Maranhão *et al.* (2015). Inicialmente amostra de sedimento foi coletado na praia do Engenho D'Água, no município de Ilha Bela, região litorânea do estado de São Paulo, considerado um ponto de referência. Em laboratório o sedimento foi pesado e seco em estufa (70 °C) por 24 horas com o objetivo de remover a fauna associada. Logo em seguida, o sedimento foi novamente pesado e a quantidade de água perdida pela evaporação foi respondida com água do mar com salinidade 17. A contaminação do sedimento (spiking) se deu pela adição dos contaminantes, na quantidade necessária para atingir as concentrações previamente estabelecidas, seguido da homogeneização feita em béqueres por 30 minutos usando bastões de vidro. Depois desse procedimento, os sedimentos contaminados foram acondicionados a 4 °C em ausência de luz durante 7 dias, a fim de atingir o equilíbrio.

1.3 Análise de dados

Os dados de mortalidade para *Artemia* sp. e *M. juniae* foram utilizados para calcular os valores de CL₅₀ (expressos pelas respectivas médias ± desvios padrão) dos compostos utilizando uma equação sigmoidal (logística 3 parâmetros) com o auxílio do programa Sigma Plot 10.0. Os dados dos testes de toxicidade crônica foram submetidos inicialmente ao teste de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e analisados por meio de desvio padrão. Em seguida, os dados crônicos foram submetidos a uma ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$), para identificar diferenças entre as concentrações dos compostos e controle. Com base nos cálculos, também foi possível estimar a menor concentração de efeito observado (CEO) e concentração de efeito não observado (CENO). Os resultados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 5.

O risco ambiental para os compostos EE2, AAS e BPA foi calculado de acordo com a European Medicine Agency (EMEA, 2006). O protocolo determina o cálculo do valor do quociente de risco (QR) ou coeficiente de risco (CR) com base na razão das concentrações ambientais medidas – CAM (neste caso, água e sedimento), de acordo com as informações da literatura e do PNEC (*Predicted No Effect Concentration*) derivada dos experimentos de toxicidade realizados com os contaminantes analisados no presente estudo. O PNEC corresponde ao CENO corrigido por um fator de avaliação, que é selecionado de acordo com os dados disponíveis; no caso de toxicidade aguda, pode-se usar a CL₅₀ mais baixa ou a EC₅₀ em vez da CENO (UNEP / IPCS, 1999; EUROPEAN COMMISSION, 2003). Ainda de acordo com o INEP / IPCS (1999) e European Commission (2003) o fator de avaliação para

toxicidade aguda é de 1000, enquanto que para dados de toxicidade crônica é de 50, respectivamente. No teste de embriotoxicidade, como as CENO não foram calculáveis, foi utilizada a concentração de inibição a 10% dos organismos (IC_{10}), que está próxima do índice de bioequivalência para os embriões de *E. lucunter* (0,11 - ver ABNT, 2012); estimativas foram feitas pelo método Probit. Abordagens clássicas têm proposto que, se $QR \leq 1$ não há risco ambiental iminente, enquanto valores maiores que 1 indicam risco (STRAUB, 2002), mas para este estudo adotamos os critérios de classificação mais conservadores, propostos por Blair *et al.* (2013). Segundo esses autores, há riscos baixos quando $QR < 0,1$, riscos médios para QR entre 0,1 e 1 ($0,1 < QR < 1$) e riscos altos quando os valores de QR estão acima de 1 ($QR \geq 1$).

1.4. Resultados

1.4.1 Bioensaios de toxicidade aguda

O potencial tóxico agudo dos três compostos foi analisado em dois modelos biológicos experimentais, os dois microcrustáceos *Artemia* sp. e *M. juniae*. Para ambos os organismos, o EE2 foi o composto mais tóxico, seguido por BPA e AAS (Tabela 6). Como esperado, houve aumento da toxicidade de todos os compostos testados em *Artemia* sp. conforme o tempo de exposição foi avançando.

Tabela 6 – Valores calculados de CL_{50} para o 17 α -etinilestradiol (EE2), bisfenol-A (BPA) e ácido acetilsalicílico (ASA) em *Artemia* sp. e *Mysidopsis juniae*. Os dados correspondem à média \pm desvio padrão. (n = 3) Os resultados são expressos em $mg.L^{-1}$.

Organismos	Expressão	Compostos		
		EE2	BPA	AAS
<i>Artemia</i> sp.	CL_{50-24h}	51,2 \pm 10,3	74,7 \pm 28,6	333,8 \pm 8,0
	CL_{50-48h}	18,4 \pm 2,7	59,4 \pm 14,7	305,1 \pm 16,6
<i>M. juniae</i>	CL_{50-96h}	0,36 \pm 0,07	1,00 \pm 0,01	190,2 \pm 20,9

1.4.2. Bioensaios de embriotoxicidade

Os dados de embriotoxicidade revelaram que todas as concentrações testadas para os três compostos tiveram um efeito significativo no desenvolvimento embrio-larval do *E. lucunter*, e que mesmo as concentrações mais baixas afetaram mais de 50% dos embriões expostos. Devido a esse padrão de resposta, foi impossível calcular a CE_{50} para os compostos.

As CENO para EE2 e BPA para *E. lucunter* não puderam ser calculadas, pois mais de 50% dos organismos foram afetados nas concentrações mais baixas testadas ($1,56 \mu\text{g.L}^{-1}$), enquanto para AAS o valor do CENO ficou abaixo de $4,68 \mu\text{g.L}^{-1}$. Similarmente, os CEO para EE2, AAS e BPA também não foram possíveis de ser determinados (Figura 9).

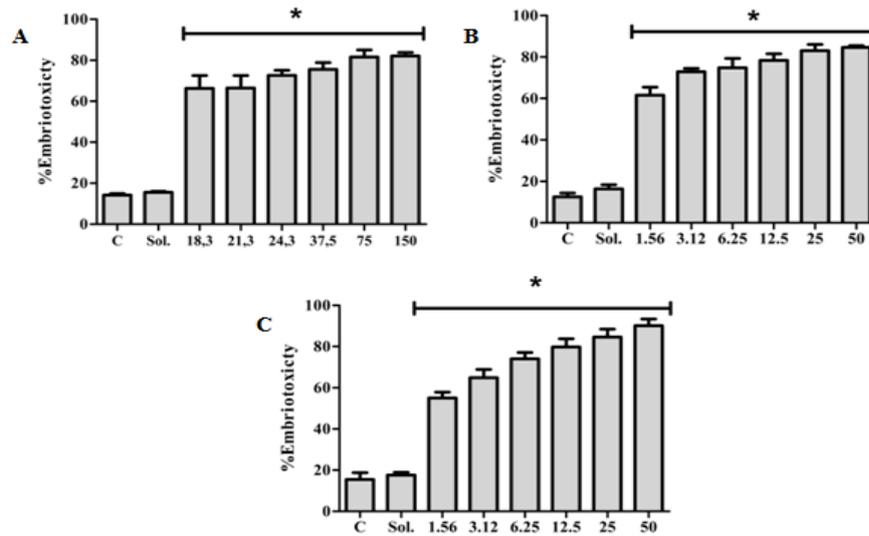


Fig. 9 – Desenvolvimento embrio-larval do ouriço do mar *E. lucunter* exposto aos compostos analisados (A – AAS, B – BPA e C – EE2). As concentrações usadas foram expressas em $\mu\text{g.L}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$).

1.4.3. Bioensaios de fecundidade

Os três compostos analisados mostraram não afetar de modo significativo a sobrevivência do copepoda *Nitocra* sp. (Figura 10). No entanto, quando foi analisado o *endpoint* prole total (náuplios + copepoditos) diferenças significativas foram observadas para os organismos expostos as concentrações de $150 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $50 \mu\text{g.g}^{-1}$ de AAS e BPA, respectivamente (Figura 11).

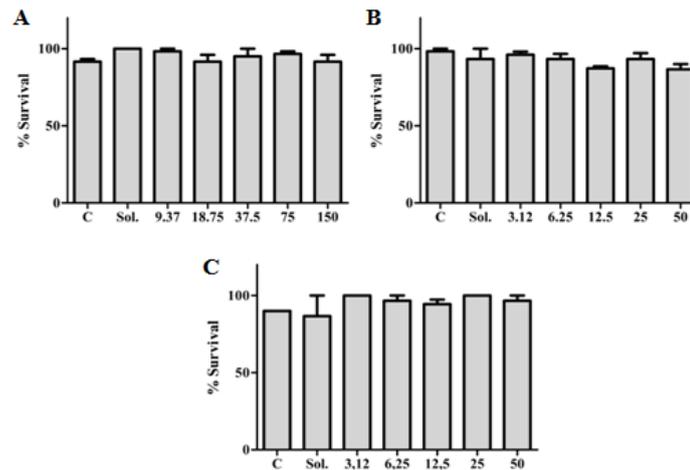


Fig. 10 – Porcentagem de sobrevivência do copépodo *Nitocra* sp. exposto a sedimento contaminado (A – AAS, B – BPA e C – EE2). As concentrações utilizadas foram expressas em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$).

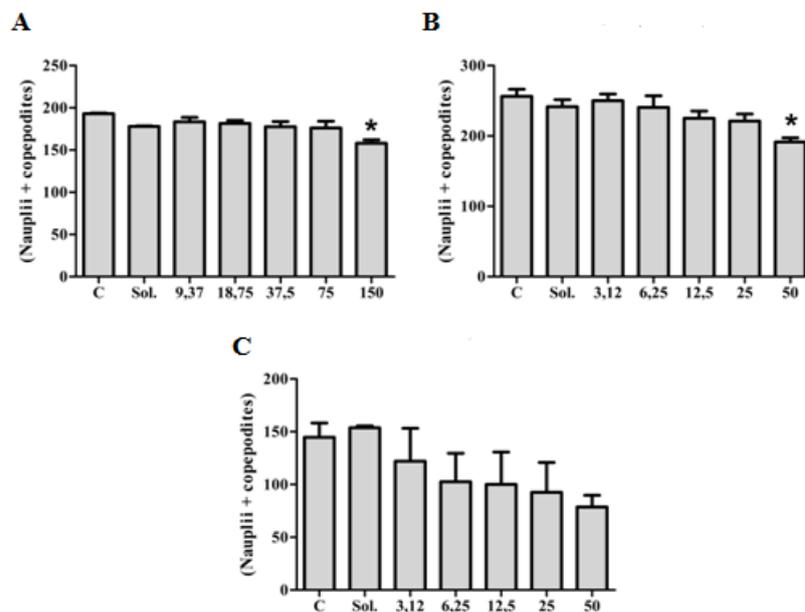


Fig. 11 – Número total da prole de *Nitocra* sp. exposta a sedimento contaminado (A – AAS, B – BPA e C – EE2). As concentrações utilizadas foram expressas em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$).

A tabela 7 apresenta os dados de toxicidade crônica para os copépodos. Os compostos AAS e BPA mostraram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre a taxa de fecundidade de *Nitocra* sp. nas concentrações de $150 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente, portanto sendo essas as CEO para os compostos citados. Os valores de CENO para AAS e BPA foram estimados em $75 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ e $25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Embora tenha sido observada uma tendência em sua diminuição, não foi observado efeito significativo do EE2 na taxa de fertilidade do copépodo, impossibilitando a determinação dos valores de CEO e CENO.

Tabela 7 – Taxa de fertilidade de fêmeas de *Nitocra* sp. expostas a sedimento contaminado. As concentrações utilizadas foram expressas em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. (*) Indica diferença significativa ($p < 0,05$).

Composto	Concentração	Taxa de fertilidade (prole total/fêmea)	Composto	Concentração	Taxa de fertilidade (prole total/fêmea)	Composto	Concentração	Taxa de fertilidade (prole total/fêmea)
AAS	C	43.38 \pm 2.42	BPA	C	53.30 \pm 0.85	EE2	C	32.70 \pm 5.18
	Sol.	35.00 \pm 1.21		Sol.	53.57 \pm 7.88		Sol.	34.80 \pm 4.01
	9.37	35.50 \pm 2.39		3.12	52.65 \pm 5.61		3.12	24.45 \pm 10.76
	18.75	40.71 \pm 3.08		6.25	49.83 \pm 2.95		6.25	21.46 \pm 8.52
	37.5	38.21 \pm 5.33		12.5	50.63 \pm 1.85		12.5	22.13 \pm 11.15
	75	36.02 \pm 2.99		25	47.13 \pm 0.98		25	18.16 \pm 9.15
	150	34.81 \pm 4.04*		50	42.97 \pm 3.26*		50	17.19 \pm 2.80

C – Controle
Sol – Solvente

1.4.4. Risco ambiental

Os valores de QR para os compostos analisados são mostrados na Tabela 8. Em ambos os modelos experimentais em que a sobrevivência foi utilizada como *endpoint* e no bioensaio do efeito dos xenobióticos sobre a fecundidade dos copépodos, foi possível observar que os compostos analisados não representam um risco ambiental iminente (risco ambiental baixo). Por outro lado, para o desenvolvimento embrio-larval de *E. lucunter*, os valores de QR mostraram alto risco para os compostos o AAS, EE2 e o BPA.

Tabela 8 – Valores estimados de PNEC (*Predicted no-effect concentration*) e QR (Coeficiente de risco) dos compostos 17 α -etinilestradiol (EE2), bisfenol-A (BPA) e ácido acetilsalicílico (AAS) para os bioensaios de toxicidade aguda e crônica.

Composto	<i>Artemia</i> sp.		<i>M. juniae</i>		<i>E. lucunter</i>		<i>Nitocra</i> sp.	
	PNEC*	QR	PNEC*	QR	PNEC**	QR	PNEC	QR
EE2 ⁽¹⁾	51,2 (24h)	4,88x10 ⁻⁶	360	6,94x10 ⁻⁴	0,28	0,99	-	-
	18,4 (48h)	1,35x10 ⁻⁵						
BPA ⁽²⁾	74,6 (24h)	1,00x10 ⁻³	1,0	7,68x10 ⁻²	0,013	6,14	500	0,01
	59,3 (48h)	1,00x10 ⁻³						
AAS ⁽³⁾	333,790 (24h)	5,00x10 ⁻²	190,17	8,04x10 ⁻²	0,66	25,76	1.500	0,01
	305,090 (48h)	5,00x10 ⁻²						

1.4 Discussão

Os resultados obtidos dos organismos teste sugerem que os compostos EE2 e BPA são mais tóxicos que o AAS, que apresenta valores de CL(E)50 sempre acima de 150 mg.L⁻¹ e os valores de CEO nas maiores concentrações testadas. Padrão semelhante foi observado em dados coletados na literatura para animais aquáticos. Organismos aquáticos, tais como dáfrias, misidáceos, anfípodas e embriões de ouriços expostos ao EE2 e BPA apresentaram efeitos agudos ou crônicos em concentrações que não excederam 5 mg.L⁻¹ (ANDERSEN *et al.*, 2001; BREITHOLTZ, BENGTTSSON 2001; BRENNAN *et al.*, 2006; CASTRO *et al.*, 2014; HIRANO *et al.*, 2004; LUNA, PLAUTZ, SALICE, 2015; MARANHO *et al.*, 2015; MARCIAL, HAGIWARA, SNELL, 2003; ÖZLEN, HATICE, 2008), enquanto com o AAS os efeitos foram observados em concentrações acima de 80 mg.L⁻¹ (CLEUVERS, 2004; GARCÍA, GARCÍA-ENCINA, IRUSTA-MATAR, 2015; MARQUES, ABRANTES, GONÇALVES, 2004).

Os valores de CL₅₀ de EE2, BPA e AAS para *M. juniae* foram de 0,36, 1,0 e 190,1 mg.L⁻¹, respectivamente; enquanto para *Artemia* sp. os valores de CL_{50-48h} foram 18,4, 59,3 e 305,08 mg.L⁻¹, respectivamente. Em outros estudos, o EE2 causou efeitos agudos em copépodos marinhos, onde os valores de CL₅₀ variaram entre 0,51 mg.L⁻¹ (BREITHOLTZ, BENGTTSSON, 2001) e 1,1 mg.L⁻¹ (ANDERSEN *et al.*, 2001); e para cladóceros de água doce com CE₅₀ de 1,63 mg.L⁻¹ (CASTRO *et al.*, 2014). A literatura relata que o BPA causa efeitos agudos a crustáceos, como os copépodes marinhos *Acartia tonsa* e *Tigriopus japonicus* com CL₅₀ de 4,2 mg.L⁻¹ e 4,32 mg.L⁻¹, respectivamente (ANDERSEN *et al.*, 2001; MARCIAL, HAGIWARA, SNELL, 2003), no misidáceo *Americammysis bahia* (CL₅₀ = 1,03 mg.L⁻¹) e ao cladóceros de água doce *Daphnia magna* (CE₅₀ variando de 7,75 mg.L⁻¹ a 12,8 mg.L⁻¹ (BRENNAN *et al.*, 2006; HIRANO *et al.*, 2004).

Por outro lado, os testes de toxicidade revelaram que o ouriço-do-mar *E. lucunter* foi sensível a todos os compostos analisados. Os testes de embriotoxicidade com embriões de ouriço-do-mar mostraram que todas as concentrações afetaram o desenvolvimento embrionário, portanto a CE₅₀ para os três compostos analisados não pôde ser calculada, haja vista que ela ficou abaixo da menor concentração testada. Para outras espécies de ouriço-do-mar, como *Paracentrotus lividus* e *Strongylocentrotus purpuratus*, a CE₅₀ permaneceu na faixa de 226,5 – 710 µg.L⁻¹ para BPA, enquanto que para EE2 a CE₅₀ foi de 30,3 µg.L⁻¹ (BOSNJAK *et al.*, 2014; ÖZLEM, HATICE, 2008; ROEPK *et al.*, 2005).

Embora não tenha sido observado risco ambiental, nos bioensaios com copépodos, o AAS e o BPA mostraram capacidade de interferir na taxa de fecundidade do *Nitocra* sp., sendo o BPA o compostos mais tóxico. O BPA já é um composto conhecido por ter a capacidade de alterar padrões reprodutivos de invertebrados (JEMEC *et al.*, 2012), essa competência está vinculada ao fato do BPA conseguir modificar o hormônio ecdisteroide através de ação antagonica ou mesmo inibindo sua atividade (DINAN *et al.*, 2001; MU *et al.*, 2005). Quanto ao AAS, o seu modo de ação se dá através da inativação irreversível da enzima ciclooxigenase (COX) responsável pela síntese de prostaglandinas (PG) (BATEMAN, 2012; SANDILANDS, BATEMAN, 2016). Em invertebrados aquáticos, as prostaglandinas são sintetizadas por um mecanismo semelhante aos vertebrados, portanto mediadas pela enzima COX (ROWLEY *et al.*, 2005), e elas estão envolvidas em várias vias metabólicas, incluindo aquela que regula a reprodução desses organismos através do desenvolvimento do ovário e ovulação (STANLEY-SAMUELSON, 1987; ROWLEY *et al.*, 2005; VRABLIK, WATTS, 2013). Assim, a exposição de invertebrados aquáticos aos inibidores de COX, como o AAS, pode levar a irregularidades na sua reprodução.

EE2 e BPA são classificados como desreguladores endócrinos químicos – DEQ (CALIMAN, GAVRILESCU, 2009; GORE *et al.*, 2014), porque eles agem em diversos receptores biológicos envolvidos com o sistema endócrino dos animais expostos a eles (CANESI, FABRI, 2015; LEE *et al.*, 2013; MATHEWS, TWOMEY, ZACHAREWSKI, 2001; MATSUSHIMA *et al.*, 2007; MORIYAMA *et al.*, 2002; SARGIS *et al.*, 2010; VOGELER *et al.*, 2016).

Nos invertebrados, o sistema endócrino, através da mediação de hormônios, atua em alvos específicos que regulam funções biológicas como crescimento, desenvolvimento larval, reprodução e ecdise (FLINT *et al.*, 2012; KABIR, RAHMAN, RAHMAN, 2015). Portanto, a presença de receptores nucleares em invertebrados aquáticos torna esses animais suscetíveis à ação de desreguladores endócrinos, estejam eles imitando ou obstruindo os receptores de hormônios endógenos. Entretanto, estudos sobre os mecanismos específicos pelos quais o sistema endócrino pode ser interrompido são escassos (MAZUROVÁ *et al.*, 2008). Existem estudos mostrando que o EE2 pode causar uma série de efeitos em peixes e invertebrados aquáticos, como feminização e alterações no crescimento, na razão sexual (aumento da proporção de organismos do sexo feminino), número total da prole, entre outros (RODRÍGUEZ, MEDESANI, FINGERMAN, 2007; VANDENBERGH *et al.*, 2003).

Segundo RODRÍGUEZ, MEDESANI e FINGERMAN (2007) a desregulação endócrina pode ocorrer devido a mudanças na secreção do hormônio; ou na interferência da

interação hormônio-receptor, ou mesmo modificando o metabolismo dos hormônios circulantes. Em crustáceos, EE2 pode afetar a muda, devido à alteração na produção de hormônios pelo órgão-X (CHAN *et al.*, 2003; RODRIGUEZ *et al.*, 2007) e sua liberação pela glândula do seio (RODRÍGUEZ, MEDESANI, FINGERMAN, 2007), e também por prejudicar a produção de metil farnesato, que tem a função de hormônio juvenil neste grupo taxonômico (LAUFER *et al.*, 1987). Além disso, o desenvolvimento embrionário de invertebrados é severamente alterado pelo EE2, pois é um estágio submetido a muitas alterações metabólicas mediadas por hormônios e, portanto, suscetíveis à ação de xenobióticos (mesmo em concentrações baixas) que possam mimetizá-los (FLINT *et al.*, 2012; ROEPKE, SNYDER, CHEER, 2005).

Por sua vez, o BPA foi relatado como causador da desestabilização das membranas lisossômicas em hemócitos de mexilhões (CANESI *et al.*, 2004) e por produzir efeitos na fosforilação de componentes de sinalização relacionados ao sistema imune (CANESI *et al.*, 2005). Segundo Canesi e Fabri (2015), efeitos significativos do BPA também foram observados na glândula digestiva de mexilhões. Nesses organismos, o BPA afetou as 17 β -hidroxiesteróides desidrogenases (17 β -HSDs), que consistem em enzimas multifuncionais envolvidas no metabolismo de esteróides, ácidos graxos, retinóides e ácido biliar (ZHANG *et al.*, 2014).

Além disso, o BPA apresenta uma variedade de efeitos em organismos aquáticos, tais como atividade antiecdiesteroidal em *D. magna* (MU *et al.*, 2005), inibição da maturação de oócitos, redução de ovários e testículos de adultos, apoptose e alterações no comportamento do peixe *Danio rerio* (BAMBINO, CHU, 2017), alteração na razão sexual de anfípodos, redução do crescimento populacional do verme *Lumbriculus variegatus* (LADEWIG *et al.*, 2006) e efeitos espermatóxicos e embriotóxicos no ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* (ÖZLEM, HATICE, 2008). Outros efeitos do BPA foram relatados em níveis bioquímicos (CANESI, FABRI, 2015; ZHANG *et al.*, 2014), de desenvolvimento (FLINT *et al.*, 2012) e moleculares (LIU *et al.*, 2011), atingindo a letalidade (HIRANO *et al.*, 2004). Nesse sentido, os resultados obtidos em nosso estudo estão dentro dos relatados pela literatura, e incluíram letalidade e inibição do desenvolvimento embrionário.

Por outro lado, existem poucos estudos sobre os mecanismos envolvidos com a toxicidade do AAS, no entanto, a literatura relata que este composto (e/ou seus produtos metabólicos) pode induzir estresse oxidativo e dano ao DNA em crustáceos aquáticos (GOMEZ-OLIVÁN *et al.*, 2014) e afetar a reprodução dos cladóceros (MARQUES, ABRANTES, GONÇALVES, 2004).

As propriedades físico-químicas dos contaminantes estudados contribuem para sua capacidade de gerar efeitos tóxicos. AAS é um ácido orgânico, portanto a relação de seu valor de pKa associado ao pH da água do mar promove o aumento de sua forma não ionizada, assim como sua biodisponibilidade (LI *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2014). Os valores de log Kow do EE2 e do BPA podem ter contribuído para a alta toxicidade desses compostos quando comparados ao AAS, nos testes de toxicidade aguda. O alto valor de log Kow indica a capacidade do composto de atravessar a membrana plasmática das células e, assim, gerar efeitos no sistema biológico (KASIM *et al.*, 2004; LIN, SANDLER, 1999). Em geral, substâncias facilmente permeáveis através da membrana plasmática apresentam valores de log Kow entre 2 e 5, assim aqueles com valor abaixo de 2, como o AAS, são menos lipofílicos e portanto, serão mais dificilmente absorvidas pela membrana celular. Por outro lado, os valores mais altos de log Kow de EE2 e BPA (3,67 e 3,32 respectivamente), sugerem que eles são mais facilmente absorvidos e, portanto, maior toxicidade pode ser esperada.

Embora os efeitos agudos de AAS, BPA e EE2 não devam ocorrer no ambiente porque os valores de CL₅₀ estão na faixa de mg.L⁻¹, os efeitos crônicos são prováveis de ocorrer no ambiente aquático, já que as concentrações de efeito estão na faixa de µg.L⁻¹. As concentrações limiares de AAS, BPA e EE2 que causaram efeitos crônicos em embriões de ouriço-do-mar estavam dentro das faixas de concentrações ambientais encontradas ao redor do mundo. O BPA foi detectado em amostras ambientais aquáticas, em regiões estuarinas ou em rios, em concentrações variando de 1,7 µg.L⁻¹ a 28,6 µg.L⁻¹ (BASHEER, LEE, TAN, 2004; BELFROID, VELZEN, HORST, 2002; KOLPIN *et al.*, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2009), enquanto nos sedimentos fluviais estes valores podem chegar a 30,7 µg.g⁻¹ (FU, LI, GAO, 2007). O EE2 foi encontrado no ambiente em concentrações que variaram de 0,1 µg.L⁻¹ a 0,8 µg.L⁻¹ (KOLPIN *et al.*, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2009; SAEED *et al.*, 2017), assim concentrações próximas à menor concentração testada em ouriço-do-mar que causou toxicidade aos embriões expostos. Portanto, evidencia-se que a presença de BPA e EE2 nos ecossistemas marinhos pode levar a riscos ecológicos.

As ameaças dos CPE estudados são mais bem representadas pelos valores de CR, que foram estimados com base nas PNEC e CAM para cada composto e representam seus riscos ambientais individuais (SOLOMON *et al.*, 1996). Quando as toxicidades agudas obtidas para *Artemia* sp. e *M. juniae* são considerados (isto é, mortalidades), os valores de CR obtidos para EE2, AAS e BPA foram inferiores a 1, sugerindo que não representariam risco para organismos não alvo da coluna de água, com base em efeitos letais. No entanto, o teste de embriotoxicidade mostrou que os três compostos analisados podem gerar efeitos adversos nos

organismos marinhos em concentrações ambientalmente relevantes. Assim, é possível que os efeitos crônicos possam prever melhor os riscos ecológicos para a biota marinha devido ao EE2, AAS e BPA; mais estudos com mais espécies e considerando outros níveis ou organização biológica são necessários para melhor determinar os efeitos e riscos relacionados com essas substâncias (KIM *et al.*, 2007). De fato, devido ao seu modo de ação, não seria esperado que EE2, AAS e BPA causassem efeitos letais, produzindo toxicidade aguda apenas em altas concentrações. Por outro lado, como esses compostos atuam sobre processos metabólicos e sítios ativos (por sua ação como medicamento), seus principais efeitos tendem a ser subletais, afetando principalmente o desenvolvimento e a reprodução, mesmo em baixas concentrações.

Em estudos de monitoramento ambiental conduzidos na comunidade europeia, compostos como diclofenaco, 17 β -estradiol (E2) e EE2 foram incluídos na categoria de substâncias que precisam ser monitoradas constantemente devido ao risco que representam para o ambiente aquático (CE, 2013). O BPA mostra ser um composto que necessita de atenção, uma vez que já foram relatados riscos ambientais em regiões que receberam esgoto doméstico sem serem adequadamente tratados (JIN *et al.*, 2013) ou em águas superficiais (GUO *et al.*, 2015). Nosso estudo corrobora essa preocupação sobre os compostos estudados, pois os riscos foram detectados quando se consideram os efeitos subletais. Assim, em regiões que recebem insumos de esgoto e drenagem urbana, a biota nativa pode estar em risco, uma vez que os organismos podem experimentar um conjunto de distúrbios bioquímicos e fisiológicos. Mais estudos ainda são necessários para explicar em detalhes como esses compostos, isolados ou combinados, afetam alvos fisiológicos, comportamentais, bioquímicos ou moleculares de organismos marinhos tropicais.

1.5 CONCLUSÃO

Neste estudo, para o parâmetro de sobrevivência, o EE2 foi o contaminante de preocupação emergente mais tóxico, seguido por BPA e AAS. O desenvolvimento embrionário larval do ouriço-do-mar *E. lucunter* foi afetado em todas as concentrações testadas para os três contaminantes analisados, ao passo que para a fertilidade do copépodo *Nitocra* sp. o BPA foi mais tóxico seguido pelo AAS. Sendo assim, riscos ambientais foram associados aos compostos testados, quando as concentrações ambientais são consideradas, juntamente com os efeitos crônicos.

REFERÊNCIAS

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2011. **ABNT/NBR 15308**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com misídeos (Crustacea). 25 pp.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2012. **ABNT/NBR 15350**. Ecotoxicologia aquática: Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com ouriço do mar (Echinodermata: Echinoidea). 21 pp.
- ALMEIDA, A.; CALISTO, V.; ESTEVES, V.I.; SCHNEIDER, R.J.; SOARES, A.M.V.M.; FIGUEIRA, E.; FREITAS, R. Presence of the pharmaceutical drug carbamazepine in coastal systems: effects on bivalves. **Aquat Toxicol.**, Aveiro, v. 156, p.74-87, 2014.
- ANDERSEN, H.R.; WOLLENBERGER, L.; HALLING-SORENSEN B.; KUSK, K.O. Development of copepod nauplii to copepodites – a parameter for chronic toxicity including endocrine disruption. **Environ Toxicol Chem.**, Lyngby, v. 20, p. 2821-2829, 2001.
- ARAGÃO, M.A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In: **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 1. ed. São Carlos: Rima, 2006. cap. 6, p. 103-147.
- ARIS, A.Z.; SHAMSUDDIN, A.S.; PRAVEENA, S.M. Occurrence of 17 α -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. **Environ. Int.**, Selangor, v. 69, p. 104-119, 2014.
- BAMBINO, K.; CHU, J. Zebrafish in toxicology and environmental health. **Curr Top Dev Biol**, v. 124, p.331–367, 2017.
- BARCELÓ, D. Emerging pollutants in water analysis. **Trends Anal Chem.**, Barcelona, v. 22, p.14-16, 2003.
- BARNES, D.R.; RUPPERT, E.E.; FOX, S.R. **Zoologia dos invertebrados**. Editora Roca, 7 ed. São Paulo: Roca, 2005
- BASHEER, C.; LEE, H.K.; TAN, K.S. Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol-A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore. **Mar Pollut Bull.**, Singapore, v. 48, p.1145-1167, 2004.
- BATEMAN, D.N., 2012. Non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Medicine**. 40, 140.
- BELFROID, A.; VELZEN, M.V.; HORST, B.V.D. Occurrence of bisphenol A in surface water and uptake in fish: evaluation of field measurement. **Chemosphere.**, Amsterdam, v. 49, p. 97-103, 2002.
- BERNINGER, J.P.; BROOKS, B.W. Leveraging mammalian pharmaceutical toxicology and pharmacology data to predict chronic fish responses to pharmaceuticals. **Toxicol Lett.**, Waco, v. 193, p. 69-78, 2010.

BLAIR, B.D.; CRAGO, J.P.; HEDMAN, C.J.; KLAPER, R.D. Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. **Chemosphere**, v. 93, p. 2116–2123, 2013.

BOECKEL, T.P.V.; GANDRA, S.; ASHOK, A.; CAUDRON, Q.; GRENFELL, B.T.; LEVIN, S.A.; LAXMINARAYAN, R. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. **Lancet Infect Dis.**, Princeton, v. 14, p.742-750, 2014.

BONES, J.; THOMAS, K.V.; PAULL, B. Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. **J Environ Monit.**, v. 9, p.701-707, 2007.

BOSNJAK, I.; BORRA, M.; IAMUNNO, F.; BENVENUTO, G.; UJEVIC, I.; BURSELIC, I.; ROJE-BUSATTO, R.; MLADINEO, I. Effect of bisphenol A on P-glycoprotein-mediated efflux and ultrastructure of the sea urchin embryo. **Aquat Toxicol.**, Zagreb, v. 156, p. 21-29, 2014.

BREITHOLTZ, M; BENGTSSON, B.E. Oestrogens have no hormonal effect on the development and reproduction of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. **Mar Pollut Bull.**, Stockholm, v. 42, p. 879-886, 2001.

BRENNAN, S.J.; BROUGHAM, C.A.; ROCHE, J.J.; FOGARTY, A.M. Multi-generational effects of four selected environmental oestrogens on *Daphnia magna*. **Chemosphere**, Athlone, v. 64, p. 49-55, 2006.

CALIMAN, F.A.; GAVRILESCU, M. Pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting agents in the environment – review. **Clean**, v. 37, p. 277-303, 2009.

CANESI, L.; LORUSSO, L.C.; CIACCI, C.; BETTI, M.; ZAMPINI, M.; GALLO, G. Environmental estrogens can affect the function of mussel hemocytes through rapid modulation of kinase pathways. **Gen Comp Endocrinol.**, Urbino, v. 138, p. 58–69, 2004.

CANESI, L.; BETTI, M.; LORUSSO, L.C.; CIACCI, C.; GALLO, G. ‘In vivo’ effects of Bisphenol A in *Mytilus hemocytes*: modulation of kinase-mediated signalling pathways. **Aquat Toxicol.**, Urbino, v. 71, p. 73–84, 2005.

CANESI, L.; FABBRI, E. Environmental effects of BPA: focus on aquatic species. **Dose Response**, Genova, v. 13, p. 1-14, 2015.

CASTRO, F.J.; SANTOS D.R.A.; BUONGERMINO, C.R.P.; CORTEZ, F.S.; PEREIRA, C.D.S.; CHOERI, R.B.; CESAR, A. Ecotoxicological assessment of four pharmaceuticals compounds through acute toxicity test. **O mundo da saúde**, São Paulo, v. 38, p. 51-55, 2014.

CE – Comissão Europeia. **Diretiva 2013/39/UE do parlamento europeu e do conselho que altera as Diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que respeita às substâncias prioritárias no domínio da política da água**, 2013. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:226:0001:0017:PT:PDF>>. Acessado em: 9 agosto de 2017.

- CHAN, S.M.; GU, P.L.; CHU, K.H.; TOBE, S.S. Crustacean neuropeptide genes of the CHH/MIH/GIH family: implications from molecular studies. **Gen Comp Endocrinol.**, Hong Kong, v. 134, p. 214–219, 2003.
- CLEUVERS, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. **Ecotoxicol Environ Saf.**, Aachen, v. 59, p. 309-315, 2004.
- CORTEZ, F.S.; PEREIRA, C.D.S.; SANTOS, A.R.; CESAR, A.; CHOUERI, R.B.; MARTINI, G.A.; BOHRER-MOREL, M.B. Biological effects of environmentally relevant concentrations of the pharmaceutical Triclosan in the marine mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758). **Environ Pollut.**, Santos, v. 168, p.145-150, 2012.
- DAI, G.; HUANG, J.; CHEN, W.; WANG, B.; YU, G.; DENG, S. Major pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in wastewater treatment plant and receiving water in Beijing, China, and associated ecological risk. **Bull Environ Contam Toxicol.**, Beijing, v. 92, p. 655-661, 2014.
- DINAN, L.; BOURNE, P.; WHITING, P.; DHADIALLA, T.S.; HUTCHINSON, T.H. Screening of environmental contaminants for ecdysteroid agonist and antagonist activity using the *Drosophila melanogaster* BII cell in vitro assay. **Environ. Toxicol. Chem.**, Exeter, v. 20, p. 2038-2046, 2001.
- DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI, E. Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismo Aquáticos. In: **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**. 1 ed. São Carlos: Rima, 2006. cap. 7, p. 153-184.
- DU, B.; PRICE, A.E.; SCOTT, W.C.; KISTOFKO, L.A.; RAMIREZ, A.J.; CHAMBLISS, K.; YELDERMAN, J.C.; BROOKS, B.W. Comparison of contaminants of emerging concern removal, discharge, and water quality hazards among centralized and on-site wastewater treatment system effluents receiving common wastewater influent. **Sci Total Environ.**, Waco, v. 466–467, p. 976-984, 2014.
- EBELE, A.J.; ABDALLAH, M.A.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, Birmingham, v. 3, p.1-16, 2017.
- EMEA – European Medicines Agency. Guideline on the environmental risk assessment of medical products for human use. Londres: Committee for medical products for human use, 2006. 12 p.
- EUROPEAN COMMISSION. **Technical guidance document on risk assessment. TGD Part II. Institute for health and consumer protection**, 2003. Disponível em: <<http://europa.eu.int>>. Acesso em: 3 agosto de 2015.
- EUROPEAN COMMISSION. **Bisphenol A: EU ban on baby bottles to enter into force tomorrow**, 2011. Disponível em: <http://europa.eu/rapid/pressrelease_IP-11-664_en.htm>. Acesso em: 9 janeiro de 2019.

FDA – Food and drug administration. **Bisphenol A (BPA): use in food contact application**, 2014. Disponível em: < <https://www.fda.gov/newsevents/publichealthfocus/ucm064437.htm>>. Acesso em: 9 janeiro de 2019.

FENT, K., WESTON, A.A., CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquat. Toxicol.**, Muttentz, v. 76, p. 122-159, 2006.

FLINT, S.; MARKLE, T.; THOMPSON, S.; WALLACE, E. Bisphenol A exposure, effects and policy: a wildlife perspective. **J Environ Manage.**, Saint Paul, v. 104, p.19-34, 2012.

FU, M.; LI, Z.; GAO, H. Distribution characteristics of nonylphenol in Jiaozhou Bay of Qingdao and its adjacent rivers. **Chemosphere.**, v. 69, p. 1009–1016, 2007.

GARCÍA, S.O.; GARCÍA-ENCINA, P.A.; IRUSTA-MATA, R. Dose-response behavior of the bacterium *Vibrio fischeri* exposed to pharmaceuticals and personal care products. **Ecotoxicology**, Valladolid, v. 25, p. 141-162, 2015.

GÓMEZ-OLIVÁN, L.M.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; ISLAS-FLORES, H.; GARCÍA-MEDINA, S.; SANJUAN-REYES, N. DNA damage and oxidative stress induced by acetylsalicylic acid in *Daphnia magna*. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.**, Toluca, v. 164, p. 21-26, 2014.

GONZÁLEZ-PÉREZ, B.K.; SARMA, S.S.S.; NANDINI, S. Effects of selected pharmaceuticals (ibuprofen and amoxicillin) on the demography of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* (Rotifera). **Egypt J Aquat Res.**, Cidade do México, v. 42, p.341-347, 2016.

GORE, A.C.; MARTIEN, K.M.; GAGNIDZE, K.; PFAFF, D. Implications of prenatal steroid perturbations for neurodevelopment, behavior and autism. **Endocrine Reviews**, v. 35, n. 6. p. 961-991, 2014.

GOVERNMENT OF CANADA. **Bisphenol A (BPA)**, 2016. Disponível em: < <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/home-garden-safety/bisphenol-bpa.html>>. Acesso em: 9 janeiro de 2019.

GUMBI, B.P.; MOODLEY, B.; BIRUNGI, G.; NDUNGU, P.G. Detection and quantification of acidic drug residues in South African surface water using gas chromatography-mass spectrometry. **Chemosphere**, Durban, v. 168, p. 1042-1050, 2017.

GUNNARSSON, L., JAUHAINEN, A., KRISTIANSSON, E., NERMAN, O., LARSSON, D.G.J. Evolutionary conservation of human drug targets in organisms used for environmental risk assessment. **Environ. Sci. Technol.**, Gotemburgo, v. 42, p. 5807-5813, 2008.

GUO, L.; LI, Z.; GAO, P.; HU, H.; GIBSON, M. Ecological risk assessment of bisphenol A in surface waters of China based on both traditional and reproductive endpoints. **Chemosphere.**, v. 139, p. 133–137, 2015.

HANNAH, R.; D'ACO, V.J.; ANDERSON, P.D.; BUZBY, M.E.; CALDWELL, D.J. CUNNINGHAM, V.L.; ERICSON, J.F.; JOHNSON, A.C.; PARKE, N.J.; SAMUELIAN,

J.H.; SUMPTER, J.P. Exposure assessment of 17 α -ethinylestradiol in surface waters of the United States and Europe. **Environ Toxicol Chem.**, v. 28, p.2725-2732, 2009.

HIRANO, M.; ISHIBASHI, H.; MATSUMURA, N.; NAGAO, Y.; WATANABE, N.; WATANABE, A.; ONIKURA, N.; KISHI, K.; ARIZONO, K. Acute toxicity responses of two crustaceans, *Americamysis bahia* and *Daphnia magna*, to endocrine disruptors. **J Health Sci.**, Kumamoto, v. 50, p. 97-100, 2004.

INDUSTRY EXPERTS. **Bisphenol A – a global market overview**, 2016. Disponível em: <<https://industry-experts.com/verticals/chemicalsand-materials/bisphenol-a-a-global-market-overview>> Acesso em: 11 janeiro de 2019.

JEMEC, A.; TISLER, T.; ERJAVEC, B.; PINTAR, A. Antioxidant responses and whole-organism changes in *Daphnia magna* acutely and chronically exposed to endocrine disruptor bisphenol A. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, Ljubljana, v. 86, p. 213-218, 2012.

JIN, S.; YANG, F.; XU, Y.; DAI, H.; LIU, W. Risk assessment of xenoestrogens in a typical domestic sewage—holding lake in China. **Chemosphere**, v. 93, p. 892–898, 2013.

KABIR, E.R.; RAHMAN, M.S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environ Toxicol Pharmacol.**, Bangladesh, v. 40, p.241-258, 2015.

KASIM, N.A.; WHITEHOUSE, M.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; LENNERNÄS, H.; HUSSAIN, A.S.; JUNGINGER, H.E.; STAVCHANNISKY, S.A.; MIDHA, K.K.; SHAH, V.P.; AMIDON, G.L. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Mol Pharm.**, Alexandria, v. 1, p.85-96, 2004.

KIBRIA, G.; HOSSAIN, M.M.; MALLICK, D.; LAU, T.C.; WU, R. Monitoring of metal pollution in waterways across Bangladesh and ecological and public health implications of pollution. **Chemosphere.**, Melbourne, v. 165, p.1-9, 2016.

KIM, Y.; CHOI, K.; JUNG, J.; PARK, S.; KIM, P.; PARK, J. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risk in Korea. **Environ Int.**, v. 33, p. 370–375, 2007.

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

KULLENBERG, G. Approaches to addressing the problems of pollution of the marine environment: an overview. **Ocean Coast Manag.**, Gzroi, v. 42, p.999-1018, 1999.

KÜMMERER, K. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. **J Environ Manage.**, Freiburg, v. 90, p.2354-2366, 2009.

KUSTER, M.; ALDA, M.J.L.; HERNANDO, M.D.; PETROVIC, M.; MARTÍN-ALONSO, J.; BARCELÓ, D. Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens, and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). **J Hydrol.**, Barcelona, v. 358, p.112-123, 2008.

LADWIG, D.V.; JUNGSMANN, D.; KÖHLER, H.R.; LICHT, O.; LUDWICHOWSKI, K.U.; SCHIRLING, M.; TRIEBSKORN, R.; NAGEL, R. Effects of bisphenol A on *Gammarus fossarum* and *Lumbriculus variegatus* in artificial indoor streams. **Toxicol Environ Chem**, v. 88, n. 4, p. 649–664, 2006.

LANAS, A.; MCCARTHY, D.; VOELKER, M.; BRUECKNER, A.; SENN, S.; BARON, J.A. Short-term acetylsalicylic acid (aspirin) use for pain, fever, or colds – gastrointestinal adverse effects: a meta-analysis of randomized clinical trials. **Drugs R D.**, v. 11, p. 277-288, 2011.

LANGE, H.J.D.; NOORDOVEN, W.; MURK, A.J.; LÜRLING, M.; PEETERS, E.T.H.M. Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. **Aquat Toxicol.**, Wageningen, v. 78, p. 209-216, 2006.

LAPWORTH, D.J.; BARAN, N.; STUART, M.E.; WARD, R.S. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. **Environ Pollut.**, Oxfordshire, v. 163, p.287-303, 2012.

LAUFER, H.; BORST, D.; BAKER, F.C.; CARRASCO, C.; SINKUS, M.; REUTER, C.C.; TSAI, L.W.; SCHOOLEY, D.A. Identification of a juvenile hormone-like compound in a crustacean. **Science**, Connecticut, v. 235, p. 202–205, 1987.

LEE, H.; JEUNG, E.; CHO, M.; KIM, T.; LEUNG, P.C.K.; CHOI, K. Molecular mechanism(s) of endocrine-disrupting chemicals and their potent oestrogenicity in diverse cells and tissues that express oestrogen receptors. **J. Cell. Mol. Med.**, v. 17, n. 1, p. 1-11, 2013.

LEHMLER, H.J.; LIU, B.; GADOGBE, M.; BAO, W. Exposure to bisphenol A, bisphenol F, and bisphenol S in U.S. adults and children: the national health and nutrition examination survey 2013-2014. **ACS Omega**, v. 3, p. 6523-6532, 2018.

LI, J.; ZHOU, B.; SHAO, J.; YANG, Q.; LIU, Y.; CAI, W. Influence of the presence of metals and surface-active compounds on the sorption of bisphenol A to sediment. **Chemosphere**, Shanghai, v. 68, p.1298-1303, 2007.

LI, W.C. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. **Environ Pollut.**, Hong Kong, v. 187, p.193-201, 2014.

LIN, S.T.; SANDELER, S.I. Prediction of octanol – water partition coefficients using a group contribution solvation model. **Ind Eng Chem Res.**, Newark, v. 38, p. 4081-4091, 1999.

LIU, Y.; TAM, N.F.; GUAN, Y.; YASOJIMA, M.; ZHOU, J.; GAO, B. Acute toxicity of nonylphenols and bisphenol A to the embryonic development of the abalone *Haliotis diversicolor* supertexta. **Ecotoxicology.**, Tsinghua, v. 20, p. 1233–1245, 2011.

LÓPEZ-SERNA, R.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Direct analysis of pharmaceuticals, their metabolites and transformation products in environmental waters using on-line TurboFlow chromatography–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **J Chromatogr A**, Barcelona, v. 1252, p.115-129, 2012.

LOTUFO, G. R., ABESSA, D. M. S. Testes de toxicidade com sedimentos total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos. In: **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**, São Paulo: Artes Gráficas e Indústria Ltda, 2002. cap. 13, 151-162.

LUNA, T.O.; PLAUTZ, S.C.; SALICE, C.J. Chronic effects of 17 α -ethinylestradiol, fluoxetine, and the mixture on individual and population-level end points in *Daphnia magna*. **Arch Environ Contam Toxicol.**, Texas, v. 68, p. 603-611, 2015.

MARANHO, L.A., GARRIDO-PÉREZ, M.C., DELVALLS, T.A., MARTÍN-DÍAZ, M.L. Suitability of standardized acute toxicity tests for marine sediment assessment: pharmaceutical contamination. **Water Air Soil Pollut.**, Cádiz, v. 226, p. 1-15, 2015.

MARCIAL, H.S.; HAGIWARA, A.; SNELL, T.W. Estrogenic compounds affect the development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicas*. **Environ Toxicol Chem.**, Nagasaki, v. 22, p. 3025-3030, 2003.

MARQUES, C.R.; ABRANTES, N.; GONÇALVES, F. Life-history traits of standard and autochthonous cladocerans: II. Acute and chronic effects of Acetylsalicylic acid metabolites. **Environ Toxicol.**, Aveiro, v. 19, p. 527-540, 2004.

MATHEWS. J.B.; TWOMEY, K.; ZACHAREWSKI, T.R. In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors α and β . **Chem Res Toxicol.**, v. 14, n. 2, p. 149-157, 2001.

MATSUSHIMA, A; KAKUTA, Y.; TERAMOTO, T.; KOSHIBA, T.; LIU, X. OKADA, H.; TOKUNAGA, T.; KAWABATA, S.; KIMURA, M.; SHIMOHIGASHI, Y. Structural evidence for endocrine disruptor bisphenol A binding to human nuclear receptor ERR γ . **J Biochem.** v. 142, n. 4, p. 517–524, 2007.

MAZUROVÁ, E.; HILSCHEROVÁ, K.; TRIEBSKORN, R.; KÖHLER, H.; MARŠÁLEK, B.; BLÁHA, L. Endocrine regulation of the reproduction in crustaceans: Identification of potential targets for toxicants and environmental contaminants. **Biologia**, Masaryk, v. 63, n. 2, p. 139—150, 2008.

MEES, J.; ABDULKERIM, Z.; AMERLYNCK, O. Life history, growth and production of *Neomysis integer* in the Westerschelde estuary (S.W. Netherlands). **Marine Ecology Progress Series.** n.109, p. 43-57, 1994.

MORIYAMA, K.; TAGAMI, T.; AKAMIZU, T.; USUI, T.; SAIJO, M.; KANAMOTO, N.; HATAYA, Y.; SHIMATSU, A.; KUZUYA, H.; NAKAO, K. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 11, p.5185–5190, 2002.

MU, X.; RIDER, C.V.; HWANG, G.S.; HOY, H.; LEBLANC, G.A. Covert signal disruption: anti-ecdysteroidal activity of bisphenol A involves cross talk between signaling pathways. *Environ. Toxicol. Chem.*, Raleigh, v. 24, p. 146-152, 2005.

NANNOU, C.I.; KOSMA, C.I.; ALBANIS, T.A. Occurrence of pharmaceuticals in surface waters: analytical method development and environmental risk assessment. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 95, n. 13, p. 1242-1262, 2014.

NIETO, E.; CORADA-FERNÁNDEZ, C.; HAMPEL, M.; LARA-MARTÍN, P.A.; SÁNCHEZ-ARGÜELLO, P.; BLASCO, J. Effects of exposure to pharmaceuticals (diclofenac and carbamazepine) spiked sediments in the midge, *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). *Sci Total Environ.*, Puerto Real, v. 609, p.715-723, 2017.

NUNES, B.; CARVALHO, F.; GUILHERMINO, L. Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmis chuii*. *Ecotoxicol Environ Saf.*, Porto, v. 61, p.413-419, 2005.

ÖZLEM, Ç.A.; HATICE, P. Effects of bisphenol A on the embryonic development of the sea urchin (*Paracentrotus lividus*). *Environ Toxicol Chem.*, Izmir, v. 23, p. 387-392, 2008.

PAIVA, F.V.; SOUZA, N.C.; VAN-HAANDEL, A.C. Identificação de compostos orgânicos e farmacêuticos em esgoto hospitalar utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 16, p.37-44, 2011.

PAL, A.; GIN, K.Y.; LIN, A.Y.; REINHARD, M. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Sci Total Environ.*, Singapore, v. 408, p.6062-6069, 2010.

PASCOE, D.; KARNTANUT, W.; MÜLLER, C.T. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*, Cardiff, v. 51, p.521-528, 2003.

PERINA, F.C.; ABESSA, D.M.S.; PINHO, G.L.L.; FILLMANN; G. Comparative toxicity of antifouling compounds on the development of sea urchin. *Ecotoxicology*, Rio Grande, v. 20, p. 1870-1880, 2011.

PHILIP, J.M.; ARAVIND, U.K.; ARAVINDAKUMAR, C.T. Emerging contaminants in Indian environmental matrices – a review. *Chemosphere*, Kerala, v. 190, p. 307-326, 2018.

PLANELLÓ, R, MARTÍNEZ-GUITARTE, J.L., MORCILLO, G. The endocrine disruptor bisphenol A increases the expression of HSP70 and ecdysone receptor genes in the aquatic larvae of *Chironomus riparius*. *Chemosphere*, Madrid, v. 71, p. 1870-187, 2008.

PEREIRA, C.D.S.; MARANHO, L.A.; CORTEZ, F.S.; PUSCEDDU, F.H.; SANTOS, A.R.; RIBEIRO, D.A.; CESAR, A.; GUIMARÃES, L.L. Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazilian coastal zone. *Sci Total Environ.*, Santos, v. 549, p.148-154, 2016.

PEREIRA, A.M.P.T.; SILVA, L.J.G.; LARANJEIRO, C.S.M.; MEISEL, L.M.; LINO, C.M.; PENA, A. Human pharmaceuticals in Portuguese rivers: The impact of water scarcity in the environmental risk. *Sci Total Environ.*, Coimbra, v. 609, p.1182-1191, 2017.

- RATHBUN, R. A list of the Brazilian Echinoderms with notes on their distribution. **Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Science**, [S.I.], v. 3, n. 5, p. 139-158, 1879.
- REID, J.W. Maxillopoda – Copepoda. Harpacticoida. In: **Catalogue of Crustacea of Brazil**. Rio de Janeiro: Série Livros, 1998. cap, p.75- 127.
- RIBEIRO, C.; TIRITAN, M.E.; ROCHA, E.; ROCHA, M.J. Seasonal and spatial distribution of several endocrine-disrupting compounds in the Douro river estuary, Portugal. **Arch Environ Contam Toxicol.**, Gandra, v. 56, p.1-11, 2009.
- ROCHESTER, J.R. Bisphenol A and human health: a review of the literature. **Reprod. Toxicol.**, Paonia, v. 42, p. 132-155, 2013.
- RODRÍGUEZ, E.M.; MEDESANI, D.A.; FINGERMAN, M. Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: A review. **Comp Biochem Physiol, Part A**, Buenos Aires, v. 146, p. 661–671, 2007.
- RODRIGUEZ-NARVAEZ, O.M.; PERALTA-HERNANDEZ, J.M.; GOONETILLEKE, A.; BANDALA, E.R. Treatment technologies for emerging contaminants in water: a review. **Chem Eng J.**, Guanajuato, v. 323, p.361-380, 2017.
- ROEPKE, T.A.; SNYDER, M.J. CHERR, G.N. Estradiol and endocrine disrupting compounds adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations. **Aquat Toxicol.**, Davis, v. 71, p. 155-173, 2005.
- ROWLEY, A.F.; VOGAN, C.L.; TAYLOR, G.W.; CLARE, A.S. Prostaglandins in non-insectan invertebrates: recent insights and unsolved problems. **J. Exp. Biol.**, Swansea, v. 208, p. 3-14, 2005.
- SAEED, T; AL-JANDAL, N.; ABUSAM, A.; TAQI, H.; AL-KHABBAZ, A.; ZAFAR, J. Source and levels of endocrine disrupting compounds (EDCs) in Kuwait’s coastal areas. **Mar Pollut Bull.**, Kuwait, v. 118, p.407-412, 2017.
- SANDILANDS, E.A.; BATEMAN, D.N. Non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Medicine**. v. 44, p. 185-186, 2006.
- SANTOS, D.M.; BURUAEM, L.; GONÇALVES, R.M.; WILLIAMS, M.; ABESSA, D.M.S.; KOOKANA, R.; MARCHI, M.R.R. Multiresidue determination and predicted risk assessment of contaminants of emerging concern in marine sediments from the vicinities of submarine sewage outfalls. **Mar Pollut Bull.**, Araraquara, v. 129, p. 299-307, 2018.
- SARGIS, R.M.; JOHNSON, D.N.; CHOUDHURY, R.A.; BRADY, M.J. Environmental endocrine disruptors promote adipogenesis in the 3T3-L1 cell line through glucocorticoid receptor activation. **Obesity (Silver Spring)**, v. 18, n.7, p.1283–1288, 2010.
- SEACHRIST, D.D., BONK, K.W., HO, S., PRINS, G.S., SOTO, A.M., KERI, R.A. A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. **Reprod. Toxicol.**, Cleveland, v. 59, p. 167-182, 2016.

SMALL, C.; NICHOLLS, R.J. A global analysis of human settlement in coastal zones. **J Coastal Res.**, Palisades, v. 19, p.584-599, 2003.

SMITH, K. We are seven billion. **Nat Clim Change.**, v. 7, p.331-335, 2011.

SOLOMON, K.R.; GIESY, J.P.; LAPOINT, T.W.; GIDDINGS, J.M.; RICHARDS, R.P. Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. **Environ Toxicol Chem.**, v. 32, p. 10–11, 2012.

STANLEY-SAMUELSON, D.W., 1987. Physiological roles of prostaglandins and other eicosanoids in invertebrates. **Biol. Bull.**, Berkeley, v. 173, p. 92-109, 1987.

STAPLES, C.A., WOODBURN, K., CASPERS, N., HALL, A.T., KLECKA, G.M. A weight of evidence approach to aquatic hazard assessment of bisphenol A. **Hum. Ecol. Risk. Assess.**, v. 8, p. 1083-1105, 2002.

STRAUB, J.A. Environmental risk assessment for new human pharmaceuticals in the European Union according to the draft guideline/discussion paper of January 2001. **Toxicol Lett.** v.131, p. 137-143, 2002.

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.**, v. 225, p. 135–141, 1999.

TERNES, T.A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Res.**, v. 32, p. 3245–3260, 1998.

TOMMASI, L.R. Os equinodermas do litoral de São Paulo, 1: Echinoidea, Crinoidea e Holothuroidea do bentos costeiro. **Papeis avulsos do departamento de Zoologia**, São Paulo v. 13, n. 2, p. 19-44, 1957.

UNEP/IPCS – United Nations Environment Programme/International **Programme on Chemical Safety. Chemical risk assessment. Human risk assessment, environmental risk assessment and ecological risk assessment.** Edimburgo: WHO, 1999. 222 p.

USEPA – United States Environmental Protection Agency (2008) **White Paper: Aquatic life criteria for contaminants of emerging concern. Part I - General challenges and recommendations.** USEPA. OW/ORD Emerging Contaminants Workgroup.

VANDENBERG, L.N.; HAUSER, R.; MARCUS, M.; OLEA, N.; WELSHONS, W.V. Human exposure to bisphenol A (BPA). **Reproductive Toxicology**, v. 24, p. 139-177, 2007.

VANDENBERGH, G.F.; ADRIAENS, D.; VERSLYCKE, T.; JANSSEN, C.R. Effects of 17 α -ethinylestradiol on sexual development of the amphipod *Hyaella azteca*. **Ecotoxicol Environ Saf.**, Ghent, v. 54, p. 216–222, 2003.

VEIGA, L.F. & VITAL, N. Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia* sp. In: **Métodos em Ecotoxicologia Marinha. Aplicações no Brasil.** São Paulo: Editora Artes, 2002. cap., p 111-12.

- VIDAL-DORSCH, D.E.; BAY, S.M.; MARUYA, K.; SNYDER, S.A., TRENHOLM, R.A.; VANDERFORD, B.J. Contaminants of emerging concern in municipal wastewater effluents and marine receiving water. **Environ Toxicol Chem.**, Costa Mesa, v. 31, n. 12, p. 2674-2682, 2012.
- VIKAS, M.; DWARAKISH, G.S. Coastal Pollution: a review. **Aquat Procedia.**, Mangalore, v. 4, p. 381-388, 2015.
- VOGELER, S.; BEAN, T.P.; LYONS, B.P.; GALLOWAY, T.S. Dynamics of nuclear receptor gene expression during Pacific oyster development. **Dev Biol.**, Exeter, v. 16, p. 1-13, 2016.
- VRABLIK, T.L.; WATTS, J.L. Polyunsaturated fatty acid derived signaling in reproduction and development: insights from *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. **Mol. Reprod. Dev.**, Pullman, v. 80, p. 244-259, 2013.
- WANG, Y.; HU, L.; WANG, Q.; LU, G.; LI, Y. Adsorption behaviors of 17 α -Ethinylestradiol in sediment-water system in Northern Taihu Lake, China. **Sci World J.**, Nanjing, v. 2014, p.1-6, 2014.
- WEBB, S., 2001. In: Kummerer, K. (Ed.), **Pharmaceuticals in the Environment. Sources, Fate, Effects and Risks**. Springer, Berlin.
- WILHELMSSON, D.; THOMPSON, R.C.; HOLMSTRÖM, K.; LINDÉN, O.; ERIKSSON-HÄGG, H. Marine pollution. In: **Managing Ocean Environments in a Changing Climate**. Elsevier: 2013, pp. 127-169.
- WILKINSON, J.; HOODA, P.S.; BARKER, J.; BARTON, S.; SWINDEN, J. Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: an overarching review of the field. **Environ Pollut.**, Surrey, v. 231, p.954-970, 2017.
- YUAN, S.; JIANG, X.; XIA, X.; ZHANG, H.; ZHENG, S. Detection, occurrence and fate of 22 psychiatric pharmaceuticals in psychiatric hospital and municipal wastewater treatment plants in Beijing, China. **Chemosphere**, Beijing, v. 90, p.2520-2525, 2013.
- ZHANG, Y.; WANG, Q.; JI, Y.; ZHANG, Q.; WU, H.; XIE, J.; ZHAO, J. Identification and mRNA expression of two 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase genes in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* following exposure to endocrine disrupting chemicals. **Environ Toxicol Pharmacol.**, Yantai, v. 37, p. 1243–1255, 2014.

CAPÍTULO II

CONTAMINANTES EMERGENTES EM ESTUÁRIOS TROPICAIS: QUANTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE RISCO ASSOCIADO A ORGANISMOS NÃO- ALVO.

Emerging contaminants in tropical estuaries: quantification and risk analysis associated to non-target organisms.

Allyson Q. da Silva^a, Rivelino Martins Cavalcante^b, Denis Moledo de Souza Abessa^c

^a*Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Universidade Federal do Ceará, Av. da Abolição, 3207, Bairro Meireles, CEP 60165-081- Fortaleza-Ceará-Brasil.*

^b*Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos (LACOR) – Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Universidade Federal do Ceará, Av. da Abolição, 3207, Bairro Meireles, CEP 60165-081- Fortaleza-Ceará-Brasil.*

^c*Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática (NEPEA), Campus Experimental do Litoral Paulista (UNESP), Praça Infante Dom Henrique s/n, Parque Bitaru, 11330-90, São Vicente, SP, Brasil.*

RESUMO

A demanda por produtos de consumo diário acompanha diretamente o crescimento da população mundial. Tais produtos apresentam em sua composição uma variedade de substâncias que frequentemente vêm sendo encontradas no meio ambiente, em particular em amostras aquáticas. Dentre essas substâncias podemos destacar o grupo de compostos, denominado de contaminantes de preocupação emergente (CPE), que tem chamado à atenção da comunidade científica por já serem detectadas em matrizes ambientais em concentrações traços e pelo sua capacidade potencial de gerar efeito em organismos não alvos. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi determinar a concentração dos CPE ácido acetilsalicílico (AAS), bisfenol-A (BPA), cafeína (CAF) e 17 α -etinilestradiol (EE2) em amostras de água dos rios de três estuários situados na região metropolitana de Fortaleza (RMF): rio Ceará (RC), rio Cocó (RCC) e rio Pacoti (RP). Além da quantificação, foi feita também a avaliação de risco ecológico dos contaminantes isolados (quando detectados) para cada um dos rios mediante suas concentrações estipuladas e o uso de dados ecotoxicológicos fornecidos na literatura. Os resultados indicaram que os rios analisados apresentavam CAF e BPA nas amostras da coluna de água e que as concentrações de tais compostos variaram de 231,1 – 427,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para CAF e de 71,6 – 188,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para BPA. Normalmente as maiores concentração eram encontradas nos pontos mais distantes da foz dos rios e a maior frequência de detecção desses compostos se deu durante a primeira campanha amostral, em que o índice pluviométrico não superou os 15,6 mm, ao passo que na última campanha a detecção foi incipiente em virtude da pré-estação chuvosa e, portanto aumento do índice pluviométrico. Já a avaliação de risco ambiental, que tomou como base o uso de *endpoints* crônicos (biomarcadores e desenvolvimento embriolarval) em organismos representativos, sugere que os três rios estão sob um alto risco ambiental, portanto a biota associada a esses locais está passível de sofrer efeitos adversos.

Palavras-chave: Estuários urbanizados; Contaminantes emergentes; Avaliação de risco ecológico.

ABSTRACT

The demands of products for daily consumption proportionally follow the growth of the world population. Such products have in their composition a variety of substances that have been often found in the environment, particularly in aquatic samples. Among these substances, a group of compounds called contaminants of emerging concern (CECs) has attracted the attention of the scientific community because they can be detected in environmental matrices at trace concentrations and for their potential ability to generate effects on non-target organisms. The objective of the present study was to determine the concentrations of the CECs acetylsalicylic acid (ASA), bisphenol-A (BPA), caffeine (CAF) and 17 α -ethinyl estradiol (EE2) in water samples from three estuaries located in the metropolitan region of Fortaleza (MRF): Ceará River (RC), Cocó River (RCC) and Pacoti River (RP). In addition to the quantification of the substances, the ecological risk assessment of the isolated contaminants (when detected) was also determined for each estuary through by considering their respective measured concentrations and ecotoxicological data available in the literature. The results indicated that the estuaries analyzed presented CAF and BPA in the water column samples and that their concentrations ranged from 231.1 to 427.1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for CAF and between 71.6 and 188.9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for BPA. The highest concentrations were found at the most upstream sites and the highest frequency of detection of these compounds occurred during the first sampling campaign, when the rainfall did not exceed 15.6 mm, whereas in the last campaign the detection was poor due to the rainy pre-season and therefore increased rainfall (dilution effect). The environmental risk assessment, based on the use of chronic endpoints (biomarkers and embryolarval development) in representative organisms, suggests that the three estuaries are at high environmental risk, thus the biota associated with these sites is likely to suffer adverse effects.

Keywords: Urbanized estuaries; Emerging contaminants; Ecological risk assessment.

2.1 Introdução

O aumento da população mundial observada nos últimos anos (UN, 2015) gerou demanda por uma infinidade de produtos, de classes e finalidades variadas, os quais são essenciais para o dia a dia e consumidos de forma frequente. Ao observarmos a composição desses produtos podemos identificar uma diversidade de substâncias presentes em sua formulação, que vão desde metais até compostos orgânicos e inorgânicos (HOUTMAN, 2010).

Além das substâncias já presentes no mercado, anualmente um número crescente de compostos é sintetizado para uso na manufatura de utensílios (PAL *et al.*, 2014; STARLING *et al.*, 2018). Apenas nos Estados Unidos, no ano de 2006, a quantidade de substâncias novas inseridas no mercado foi de aproximadamente 1.500 (USEPA, 2006). Portanto, há uma produção maciça e contínua de novos compostos para suprir as demandas geradas pelo estilo de vida das sociedades contemporâneas.

Recentemente um grupo de substâncias que vem chamando atenção da comunidade científica são os contaminantes de preocupação emergente (CPE) em virtude da carência ou da inexistência de dados sobre os seus possíveis efeitos em organismos não-alvos e sua identificação em matrizes ambientais e em amostras biológicas (SAUVÉ, DESROSIERS, 2014; TAHERAN *et al.*, 2018; WILKINSON *et al.*, 2017). Os CPE podem ser definidos como compostos químicos ou microrganismos que não são submetidos a controle ambiental, mas que podem potencialmente ocasionar efeitos à biota associada aos ambientes aquáticos e até mesmo ao homem (USGS, 2017). Outra definição aponta os CPE como poluentes que embora não estejam ainda no escopo do monitoramento das agências ambientais de controle de qualidade de água, podem vir a ser inseridos futuramente mediante dados de detecção em amostras ambientais e efeito em organismos expostos (USEPA, 2008).

Os CPE são um grupo de compostos provenientes da atividade doméstica, agropecuária ou industrial e que vêm sendo notados em múltiplos compartimentos ambientais em concentrações traços (PETRIE *et al.*, 2015; RICHARDSON, KIMURA, 2017). A categorização dos CPE abrange as classes de fármacos, hormônios, produtos de desinfecção, antissépticos, produtos de uso pessoal, retardantes de chamas, estimulantes (cafeína), entre outros (LAPWORTH *et al.*, 2012; PAL *et al.*, 2014; RODRIGUEZ-NARVAEZ *et al.*, 2017).

No Brasil, os estudos referentes à quantificação de CPE em matrizes ambientais ainda são escassos e restritos a ambientes continentais. Os primeiros esforços nesse sentido focaram atuação em compartimentos ambientais aquáticos relacionados com a captação de água para

consumo humano ou locais influenciados pelo despejo de efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETE) (MONTAGNER *et al.*, 2017). Mais tarde, o compartimento ambiental sedimento, também passou a ser alvo desses estudos analíticos, pois as características físico-químicas dos CPE os tornavam aptos a interagir de modo mais estável com esse compartimento quando em relação à coluna de água (OMAR *et al.*, 2018; PUSCEDDU *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2018), tornando-o assim, local de acúmulo desses contaminantes.

Após o consumo dos CPE, seus compostos ativos ou seus metabólitos chegam às ETE e têm como sorvedouro final as zonas costeiras. Esse destino final decorre da incapacidade que as ETE têm de degradar tais substâncias (GOGOI *et al.*, 2018; TAHERAN *et al.*, 2018) ou mesmo do descarte inadequado desses produtos efetuado pela população (MONNERET, 2017), tornando os ambientes costeiros, e seus ecossistemas associados, susceptíveis aos potenciais impactos dessa miríade de compostos, estejam eles atuando de modo isolado ou em combinação.

As zonas estuarinas estão entre os principais habitats associados às zonas costeiras. Trata-se de regiões parcialmente fechadas em que as massas de água doce e salgada se misturam originando gradientes de salinidade na coluna de água e ao longo da extensão do rio (NOAA, 2018; PRITCHARD, 1967). Embora outras variáveis também possam se modificar, a salinidade acaba sendo o parâmetro que tem maior flutuação, dando condições para a criação de um ambiente peculiar. São ambientes conhecidos por serem utilizados pelos organismos como local de acasalamento, abrigo, desova e alimentação de espécies marinhas e dulcícolas (NOAA, 2017; CAI, 2011; MIRANDA, CASTRO, KJERFVE, 2002).

Tendo em vista as particularidades físico-químicas e funcionais é notável a importância ecológica das zonas estuarinas e, portanto passa a ser necessário submetê-las a um monitoramento contínuo. Contudo, os esforços alocados para a defesa dessas áreas não se mostram suficientes, em particular nos estuários situados na região metropolitana do município de Fortaleza/CE, os quais vêm tendo sua qualidade ambiental alterada em virtude das atividades antrópicas realizadas em seu perímetro (FREIRES *et al.*, 2016; SANTANA; COSTA-LOTUFO; ABESSA, 2015; NILIN *et al.*, 2013; DAVANSO *et al.*, 2013).

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi quantificar os CPE 17 α -etinilestradiol (EE2), ácido acetilsalicílico (AAS), cafeína (CAF) e bisfenol A (BPA) em amostras de água, coletados em três estuários localizados na região metropolitana de Fortaleza, para desse modo avaliar o risco ecológico associado à presença desses compostos nos ambientes analisados.

2.2 Materiais e métodos

2.2.1 Reagentes

Os reagentes 17 α -etinilestradiol (EE2, esteroide, CAS nº 57-63-6 e grau de pureza >98%), bisfenol-A (BPA, difenol, CAS nº 80-05-7 e grau de pureza >99%), ácido acetilsalicílico (AAS, anti-inflamatório não esteroide, CAS nº 50-78-2 e pureza >99%) e cafeína (CAF, estimulante, CAS nº 58-08-2 e grau de pureza >99%) foram obtidos da empresa Sigma Aldrich. Os solventes usados para os procedimentos analíticos foram metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) ambos foram obtidos da TEDIA® em grau HPLC.

2.2.2 Amostragem

A região metropolitana de Fortaleza (RMF) recebe destaque em meio às demais metrópoles do Brasil, em especial as da região nordeste, onde ela é considerada a região metropolitana mais populosa ficando à frente das regiões metropolitanas de Salvador (BA) e do Recife (PE). No contexto nacional, a região metropolitana da capital cearense apresenta destaque, pois tem uma população estimada em pouco mais de 4 milhões de habitantes, sendo a 6ª região metropolitana mais populosa do Brasil. Tal metrópole padece dos mesmos problemas ambientais que as demais, em particular a poluição dos seus recursos hídricos. A RMF é cortada por três rios importantes Ceará, Cocó e Pacoti, que juntos perfazem uma bacia de drenagem de aproximadamente 15.000 km².

Sendo assim, a área selecionada para o estudo compreendeu os três estuários situados na RMF: os estuários do rio Ceará, Cocó e Pacoti, onde para cada um destes, foram selecionados 3 pontos de amostragem, levando-se em consideração os aspectos de facilidade de acesso/deslocamento e presença de ponto de apoio. Na tabela 9 estão descritas as coordenadas para cada um dos pontos de coleta.

Tabela 9 – Localização dos pontos de amostragem.

Estuário	Pontos	Localização	
		Latitude	Longitude
Rio Ceará	RC1	3,70119° S	38,5914° O
	RC2	3,704° S	38,6137° O
	RC3	3,70848° S	38,6211° O
Rio Cocó	RCC1	3,77307° S	38,4379° O

	RCC2	3,76739° S	38,4531° O
	RCC3	3,75237° S	38,4905° O
Rio Pacoti	RP1	3,8443° S	38,4234° O
	RP2	3,8410° S	38,4207° O
	RP3	3,8339° S	38,4208° O

A amostragem nos estuários foi realizada no segundo semestre do ano de 2018, nos meses de Agosto, Outubro e Dezembro, ou seja, no período seco na região, onde existe uma diminuição significativa dos índices pluviométricos. Contudo, o mês de Dezembro é marcado pelo início das chuvas de pré-estação, as quais antecedem o período chuvoso.

Os pontos de coleta sempre estiveram em locais inseridos nas regiões estuarinas de cada um dos rios, portanto com a presença da vegetação comum a esse ambiente (ex. *Rhizophorae mangle*) e com flutuações nos valores de salinidade na coluna de água ao longo do dia. As amostragens nos pontos de coleta foram realizadas na porção central do leito dos rios, a uma profundidade de aproximadamente 0,5m da superfície da água e sempre entre 9 e 14 horas.

As amostras de água superficial foram coletadas com auxílio de um balde de alumínio, para evitar interferência sobre os analitos de interesse. Antes de cada amostragem o balde era previamente ambientado com a água a ser coletada, para só logo em seguida ser feita a coleta da amostra. Uma vez feita a coleta, a água era transferida para frascos de vidro âmbar de 4 L, previamente esterilizados e identificados. Todas as amostras foram coletadas com uso de luvas de látex sem talco, para evitar contaminação, e acondicionadas em recipiente a 4 °C até a chegada ao laboratório.

2.2.3 Preparo das amostras

Ao chegar ao laboratório às amostras de água foram filtradas em um sistema de filtração de vidro com bomba de vácuo, mediante o uso de membranas de filtro de fibra de vidro de porosidade 0,45 µm (*Millipore*) para a remoção de material particulado (Figura 12). Logo em seguida, para cada amostra foram separadas alíquotas de 1 L para serem submetidas as etapas de pré-concentração e extração.



Figura 12 – Sistema utilizado para a etapa de filtração das amostras de água (Fonte: autor).

Em virtude das concentrações ambientais dos analitos de interesse serem baixas foi necessário realizar uma etapa de pré-concentração das amostras. Para tanto, cada amostra filtrada foi submetida à etapa de extração dos analitos através da técnica de extração em fase sólida (SPE – *solid phase extraction*) utilizando cartuchos C18 com fase estacionária contendo 500mg de octadecil (*Applied Separations*). Além disso, foi usado um processador manual *vaccum manifold* conectado a uma bomba de vácuo com objetivo de manter um fluxo médio de amostra passando pelo cartucho (Figura 13).



Figura 13 – Sistema utilizado para a extração em fase sólida (Fonte: autor).

A metodologia utilizada para a extração dos analitos foi uma adaptação dos trabalhos de Santana (2013) e Silva (2016). Os cartuchos foram condicionados antes do início da extração para que os sítios de ligação fossem ativados e assim houvesse interação com os analitos presentes na amostra de água. O condicionamento dos cartuchos foi efetuado mediante a passagem de 6 ml de MeOH (grau HPLC) seguido por 6 ml de água purificada em um sistema de osmose reversa. Após isso, foi iniciada a passagem das amostras através dos cartuchos respeitando um fluxo médio de 3 ml/min. Durante a etapa do condicionamento e da passagem das amostras foi mantido fluxo contínuo de solvente/água e amostras,

respectivamente, para evitar a formação de caminhos preferenciais, o que dificultaria a interação dos analitos com os sítios de ligação.

Ao final da etapa de extração dos analitos foi realizada a eluição à vácuo mediante a passagem de 6 ml MeOH através dos cartuchos. Os extratos resultantes foram armazenados em vials protegidos da luz e logo em seguida secos em fluxo de nitrogênio constante e suave, para então, serem ressuspensos em 1 ml de ACN e seguirem para injeção no HPLC.

2.2.4 Identificação dos analitos de interesse

A quantificação e a identificação dos compostos foram feitas por meio de cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC – *High performance liquid chromatography*) da marca Shimadzu com detector na região do ultravioleta e visível com arranjo diodos (HPLC/DAD) e forno de coluna CTO-20A. A coluna utilizada para o isolamento dos compostos era de fase reversa modelo Thermo Scientific ODS Hypersil de 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro e 5 µm de tamanho de partícula. As injeções de todas as amostras obedeceram ao volume de no mínimo 20 µl.

Para que houvesse a identificação dos compostos de interesse foram realizados testes prévios a fim de conseguir alcançar um método em que as substâncias fossem determinadas sem que houvesse coeluições. Além da preocupação com as coeluições dos compostos, foi levado em consideração também o tempo de corrida cromatográfica.

Sendo assim, o método que foi estabelecido para a separação dos analitos de interesse foi através do método isocrático obedecendo à proporção de 70% de ACN e 30% de água, não havendo alteração no fluxo ao longo da análise, e o fluxo mantido em 1 ml/min.

2.2.5 Controle de qualidade do método cromatográfico.

2.2.5.1 Seletividade

A seletividade é feita com base na comparação dos cromatogramas da amostra isenta de contaminante e uma amostra dopada com uma concentração conhecida. Essa análise visa observar se algum interferente da amostra ira coeluir com os analitos de interesse no seu tempo de retenção. Para avaliar esse parâmetro amostras de água foram dopadas com cada um dos analitos enquanto outras amostras, também de água, não foram dopadas (branco). Todas

as amostras passaram pelos processos de extração, e logo em seguida foram injetadas no HPLC.

2.2.4.2 Controle de qualidade do método cromatográfico.

O parâmetro de seletividade corresponde à possibilidade de analisar se outras substâncias podem interferir na análise dos compostos estudados. Nesse caso, busca-se garantir que o pico observado na corrida cromatográfica seja exclusivo do analito de interesse, portanto sem nenhum tipo de coeluição com interferentes da matriz (RIBANI *et al.* 2004). No presente estudo, uma amostra de água não dopada e outra amostra dopada com os compostos estudados e com uma concentração conhecida foram submetidas a processo de extração e em seguida encaminhadas para injeção no HPLC.

A linearidade consiste na capacidade do método utilizado para o estudo conceder resultados coerentes com base em uma faixa de aplicabilidade, e esse parâmetro é analisado mediante a construção de uma curva de calibração. Para tanto, foram construídas curvas de calibração para cada um dos compostos utilizando faixas de concentrações na ordem de mg.L⁻¹. Nesse caso, foram preparadas soluções padrões em ACN para cada um dos compostos sendo feitas diluições sucessivas para atingir as concentrações previamente estipuladas (padronização externa). Com base nas curvas de calibração foi determinada a equação da curva de calibração:

$$y = ax + b$$

Onde → y = resposta medida (área do pico)

a = coeficiente angular

x = concentração do analito de interesse

b = coeficiente linear

A linearidade foi determinada mediante o valor do coeficiente de correlação linear (R). Para o INMETRO o valor aceitável do coeficiente de correlação linear deve ser de $R \geq 0,99$ (INMETRO, 2011). Ao analisar a linearidade também é possível determinar a sensibilidade do método. Nesse caso, foi utilizado o valor do coeficiente angular da curva de regressão linear de cada um dos compostos estudados.

O limite de detecção (LD) consiste no valor da menor concentração do composto presente em uma amostra que consegue ser detectado pelo método estabelecido, contudo esse valor não consegue ser quantificado. Entre os meios de determinar o limite de quantificação (LQ) foi selecionado o método das diluições sucessivas (ANVISA, 2011). Nesse método concentrações conhecidas e decrescentes do composto vão sendo injetadas no HPLC, obedecendo ao método selecionado, até alcançar o menor nível detectável, sendo essa concentração o LD. O limite de quantificação (LQ) já consiste no valor da menor concentração de um composto que consegue ser mensurado em uma amostra. Utilizando o método de diluições para determinar o LD, é possível estipular o LQ através da seguinte fórmula:

$$\mathbf{LQ = 3 \times LD}$$

Onde → LD = limite de detecção

O parâmetro de precisão consiste na conformidade em mensurar uma dada concentração de um composto, utilizando o método proposto (INMETRO, 2011). No presente estudo, foram injetadas sete vezes seguidas uma concentração determinada para cada composto e a precisão foi expressa pelo coeficiente de variação (CV) ou desvio padrão relativo (DPR) através da seguinte fórmula:

$$\mathbf{CV \text{ ou } DPR = DP/CMD \times 100}$$

Onde → DP = desvio padrão

CMD = concentração média determinada

O efeito matriz verifica a possibilidade de existir alguma interferência da matriz ambiental sobre a análise executada. A determinação desse efeito foi feito mediante o valor da inclinação das curvas analíticas feitas em solvente, no caso ACN, e no extrato da matriz ambiental, ou seja, em água. O cálculo utilizado foi feito com base na seguinte fórmula:

$$\mathbf{\text{Efeito matriz (\%)} = x_1 - x_2/x_2 \times 100}$$

Onde → x_1 = inclinação da curva de cada composto preparado no extrato da matriz

x_2 = inclinação da curva de cada composto preparado em solvente

2.2.6 Análise dos dados.

A quantificação dos compostos AAS, BPA, CAF e EE2 nas amostras de água foi feita com base na mensuração da área dos picos nos cromatogramas que correspondem a cada um dos compostos, sempre obedecendo ao tempo de retenção de cada um e à porcentagem de similaridade. A frequência dos analitos de interesse foi determinada com base no número de vezes que o mesmo era detectado ao longo de todo o período amostral. Uma análise de variância (ANOVA) foi realizada para identificar se houve diferença na concentração dos compostos entre os três estuários estudados, para tanto os parâmetros observados foram os valores de F e de f-crítico, se houvesse diferença significativa o teste de Tukey era aplicado para identificar a diferença.

O risco ambiental para os compostos EE2, AAS e BPA foi calculado de acordo com a European Medicine Agency (EMEA, 2006). O protocolo determina o cálculo do valor do quociente de risco (QR) ou coeficiente de risco (CR) com base na razão das concentrações ambientais medidas – CAM (neste caso, água e sedimento), de acordo com as informações da literatura e do PNEC (*Predicted No Effect Concentration*) derivada dos experimentos de toxicidade realizados com os contaminantes analisados no presente estudo. O PNEC corresponde ao CENO corrigido por um fator de avaliação, que é selecionado de acordo com os dados disponíveis; no caso de toxicidade aguda, pode-se usar a CL_{50} mais baixa ou a CE_{50} em vez da CENO (UNEP / IPCS, 1999; EUROPEAN COMMISSION, 2003). Ainda de acordo com o INEP / IPCS (1999) e European Commission (2003) o fator de avaliação para toxicidade aguda é de 1000, enquanto que para dados de toxicidade crônica é de 50. No presente estudo o fator de segurança utilizado foi de 10 (UNEP / IPCS, 1999), pois foram utilizados dados de espécies *E. lucunter* (SILVA, ABESSA, 2019) e *Hediste diversicolor* (PIRES *et al.* 2016) que se mostraram sensíveis como relatado nos respectivos estudos. Abordagens clássicas têm proposto que, se $HQ \leq 1$ não há risco ambiental iminente, enquanto valores maiores que 1 indicam risco (STRAUB, 2002), mas para este estudo adotamos os critérios de classificação mais conservadores, propostos por Blair *et al.* (2013). Segundo esses autores, há riscos baixos quando $CR < 0,1$, riscos médios para CR entre 0,1 e 1 ($0,1 < RQ < 1$) e riscos altos quando os valores de CR estão acima de 1 ($CR \geq 1$).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Controle de qualidade do método cromatográfico.

A figura 14 nos fornece o cromatograma da amostra ambiental isenta dos compostos estudados e amostra ambiental dopada com cada um dos compostos. Fica observado que não houve coeluição entre os constituintes da amostra de água (salinidade 35) com os analitos de interesse. Sendo assim, podemos afirmar que o método é seletivo para os compostos analisados.

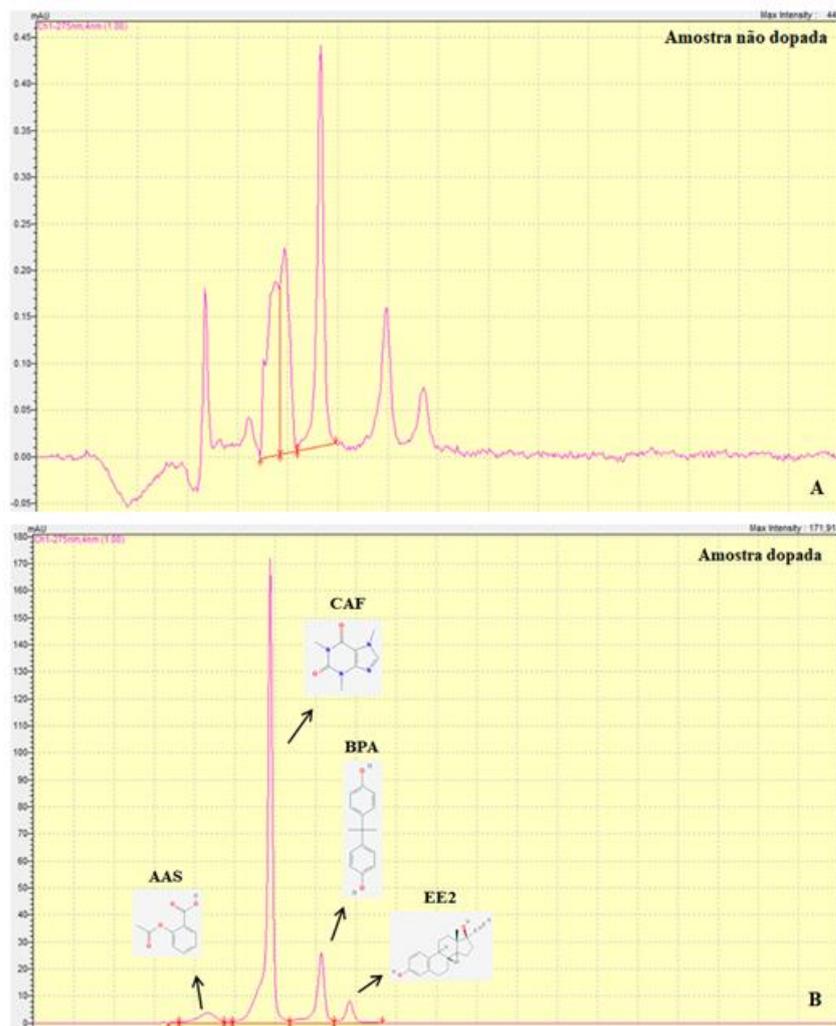


Figura 14 – Cromatogramas de amostras (A - amostra isenta dos analitos de interesse. / B - amostra dopada com os analitos de interesse).

O efeito matriz foi calculado mediante as inclinações das curvas analíticas dos compostos preparadas em solvente e na amostra de água (amostra dopada). Os valores do efeito matriz para AAS, BPA, CAF e EE2 foram de -11,7%, -9,3%, -6,82% e -2,05%,

respectivamente. Os valores obtidos nos permitem inferir que o efeito da matriz sobre a análise é insignificante, exceto para o AAS, pois o valor excedeu os 10%. Com isso, para a quantificação de AAS na amostra será utilizada a curva construída com amostra dopada.

A tabela 10 apresenta os dados referentes à validação das curvas analíticas e a linearidade. A análise do parâmetro linearidade foi realizada com base na construção de curvas feita para cada um dos compostos usando concentrações na faixa de 0,062 – 10 mg.L⁻¹. Em consequência da confecção da curva de calibração foi possível determinar os coeficientes de correlação (R) para cada um dos compostos, que sempre se mantiveram acima de 0,9. Os valores de LD para AAS, BPA e EE2 foram de 0,062 mg.L⁻¹, ao passo que para a CAF esse valor foi de 0,125 mg.L⁻¹. Já os valores de LQ para os compostos AAS, BPA e EE2 foram de 0,186 mg.L⁻¹ e para a CAF foi de 0,375 mg.L⁻¹. Os valores para a construção das curvas de calibração foram expressos em mg.L⁻¹, contudo os valores calculados para as amostras ambientais foram transformados para µg.L⁻¹.

Tabela 10 – Parâmetros de avaliação do método cromatográfico. Os valores de Limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ) são expressos em mg.L⁻¹.

Compostos	Equação da regressão linear	Coefficiente de correlação (R)	LD	LQ
AAS	$y = 3166,1x + 90,204$	0,9998	0,062	0,186
BPA	$y = 19309x + 575,89$	0,9986	0,062	0,186
CAF	$y = 2129,1x + 1505,7$	0,9905	0,125	0,375
EE2	$y = 10762x + 2477,9$	0,9976	0,062	0,186

O parâmetro sensibilidade foi determinado com base no coeficiente angular da curva de regressão, ou seja, foi possível seu cálculo simultâneo à linearidade. Os valores obtidos para AAS, BPA, CAF e EE2 foram de 3166,1, 10762, 2129,1 e 19309, respectivamente. Sendo assim, foi possível observar que o detector é mais sensível ao EE2 seguido por BPA, AAS e CAF.

Durante a construção da curva de calibração o ponto com a concentração de 10 mg.L⁻¹ foi injetado 7 vezes seguidas, seguindo as mesmas condições de operação do método e feitas pelo mesmo amostrador. Esse procedimento possibilitou a análise da precisão do método que tem seus resultados apresentados na tabela 11.

Tabela 11 – Parâmetros de avaliação do método cromatográfico. Determinação da precisão do método a partir do coeficiente de variação (CV).

Composto	Área média do pico (\pm DP)	Concentração média estimada	CV
AAS	31088,3 (\pm 602,6)	9,79 mg.L ⁻¹	1,94
BPA	191037,8 (\pm 3910)	9,86 mg.L ⁻¹	2,05
CAF	22280,8 (\pm 377)	9,76 mg.L ⁻¹	1,81
EE2	105951,3 (\pm 2362)	9,61 mg.L ⁻¹	2,28

2.3.2 Determinação dos compostos de interesse.

A tabela 12 apresenta os dados referentes às concentrações dos quatro compostos estudados nos três estuários em diferentes campanhas amostrais, sendo a campanha 1 realizada no mês de Agosto, campanha 2 mês de Outubro e campanha 3 mês de Dezembro.

Tabela 12 – Concentrações dos analitos de interesse em amostras de água. Valores das concentrações expressos em μ g.L⁻¹.

Composto	Campanha 1								
	RP1	RP2	RP3	RCC1	RCC2	RCC3	RC1	RC2	RC3
AAS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BPA	n.d.	n.d.	71,6	n.d.	<LD	<LD	188,9	185,2	129,2
CAF	n.d.	n.d.	427,1	n.d.	377,6	378,5	<LD	376,1	417,2
EE2	<LD	n.d.	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	n.d.	<LD
Composto	Campanha 2								
	RP1	RP2	RP3	RCC1	RCC2	RCC3	RC1	RC2	RC3
AAS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BPA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LD	165,1	n.d.	n.d.	n.d.
CAF	n.d.	<LD	375,8	n.d.	231,1	259,5	379,4	n.d.	n.d.
EE2	<LD	<LD	<LD	<LD	n.d.	<LD	<LD	<LD	<LD
Composto	Campanha 3								
	RP1	RP2	RP3	RCC1	RCC2	RCC3	RC1	RC2	RC3
AAS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BPA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
CAF	n.d.	<LD	378,9	n.d.	<LD	<LD	289,4	<LD	n.d.
EE2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LD	n.d.	n.d.

RP: Rio Pacoti / RCC: Rio Cocó / RC: Rio Ceará

n.d.: não detectado

LD: limite de detecção

Com base no que foi disposto na tabela 12 podemos observar que os únicos compostos que não foram possíveis de serem detectados e, por conseguinte quantificados nas amostras de água, mediante a utilização do método proposto foram o AAS e o EE2. Os demais compostos tiveram os níveis de detecções e quantificações variados sendo que a CAF obteve 40,7% de

frequência de detecção nas amostras, seguido pelo BPA com frequência de detecção de 18,51%.

Dentre os compostos analisados e quantificados a CAF, além de apresentar maior frequência de detecção, foi a que mostrou os maiores valores de concentração na água, tendo eles variado de 231,1 a 427,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ao longo do período de campanha amostral. O BPA apresentou as segundas maiores concentrações na coluna de água tendo uma variação na faixa de 71,6 – 188,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Quando observamos os dados das três campanhas realizadas é notória a diminuição da detecção dos analitos de interesse nas amostras de água ao longo dos meses de amostragem. Tivemos maior quantidade de compostos detectados na primeira campanha amostral (agosto) e um número menor na última campanha (dezembro).

Ao analisamos a presença dos contaminantes estudados nas amostras de água, com base em suas frequências de detecção nos rios ao longo do período amostral, podemos afirmar que o estuário do rio Ceará é o mais impactado. Nesse estuário, a CAF e o BPA foram detectadas 4 e 3 vezes, respectivamente, ao passo que no estuário do rio Cocó esses compostos foram identificados 4 e 2 vezes, respectivamente. Já no estuário do rio Pacoti a CAF e o BPA foram verificados 3 e 1 vez, respectivamente.

Foi observado também se existia alguma diferença nas concentrações dos compostos individuais entre os três rios estudados. Nesse sentido, foi possível realizar essa análise apenas com a CAF e o BPA, já que foram os dois únicos compostos comuns aos rios amostrados. A análise de variância não conseguiu observar qualquer diferença significativa entre os rios já que os valores de F sempre se mostraram maiores que os valores de f-crítico, tanto para CAF quanto para BPA.

2.3.3 Avaliação de risco ecológico

A tabela 13 apresenta os valores referentes aos PNEC e aos CR para os compostos CAF e BPA nos três rios estudados. Para efeito de cálculo o CAM utilizado era referente a menor concentração estipulada para cada rio. Os dados de toxicidade crônica foram derivados de trabalhos realizados com o poliqueta *Hediste diversicolor* (PIRES *et al.* 2016) e com o ouriço do mar *Echinometra lucunter* (SILVA, ABESSA, 2019). Os resultados sugerem que para o composto BPA o rio Cocó é o que está sob o maior risco, seguido pelos rios Ceará e Pacoti. Já para a CAF o estuário que apresenta maior risco ecológico é o do rio Pacoti,

seguido pelos rios Ceará e Cocó. Esses altos valores de CR nos indicam que existe a possibilidade real de risco para a biota, portanto os organismos associados a esses ecossistemas aquáticos estão sujeitos a sofrerem efeitos dos compostos CAF e BPA.

Tabela 13 – Valores estimados de PNEC (*Predicted no-effect concentration*) e CR (Coeficiente de risco) dos compostos bisfenol-A (BPA) e cafeína (CAF) para os estuários dos rios Ceará (RC), rio Cocó (RCC) e rio Pacoti (RP).

Composto	Local	<i>E. lucunter</i>		Composto	Local	<i>H. diversicolor</i>	
		PNEC	QR			PNEC	QR
BPA	RC	0,011 $\mu\text{g.L}^{-1}$	11.745,4	CAF	RC	0,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$	964,6
	RCC	0,011 $\mu\text{g.L}^{-1}$	15.009		RCC	0,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$	770,3
	RP	0,011 $\mu\text{g.L}^{-1}$	6.509		RP	0,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$	1.252

2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 Parâmetros cromatográficos.

Os parâmetros de mérito do método cromatográfico foram mensurados para assegurar a qualidade do método proposto e assim garantir a robustez dos dados gerados. Para tanto, esses parâmetros foram comparados com o que é estabelecido pelos órgãos reguladores.

A validação de cada uma das curvas de calibração dos compostos estudados foi feita com base no valor do coeficiente de correlação (R). Segundo os órgãos INMETRO (2011) e ANVISA (2003) o valor de R deve ser igual ou maior que 0,90 e 0,99, respectivamente, e no presente estudo os valores obtidos para a curvas construídas estiveram todos acima de 0,99. Sendo assim, podemos afirmar que os valores de R estiveram de acordo com o estabelecido.

Embora o método proposto esteja de acordo com as figuras cromatográficas preconizadas pelos órgãos regulatórios, se faz necessário posteriormente buscar alterar alguns parâmetros, mediante os resultados de detecção apresentados nas amostras de água dos rios. A alteração de alguns parâmetros, como a mudança do modo isocrático para a alternância na proporção da água e do solvente (ACN) ou mesmo a alteração do pH da fase móvel, poderia viabilizar a detecção e quantificação dos analitos em concentrações mais baixas, portanto permitindo uma mensuração do *status* ambiental dos rios mais refinado.

Sodré *et al.* (2007) ao propor um método cromatográfico usando o mesmo modelo de HPLC e detector semelhante (detector de arranjos diodos), contudo empregando variação no

gradiente da fase móvel, conseguiu obter valores de LD na faixa de 0,05 – 0,75 $\mu\text{g.L}^{-1}$, portanto menores do que os valores do presente estudo.

Shi *et al.* (2014) conseguiu também obter valores de LD que os permitiram observar o padrão de distribuição de contaminantes, entre eles EE2 e BPA, em amostras de água e de sedimento de estuários. A fase móvel adotada pelos autores era constituída por uma combinação de ACN, amônia e MeOH que tinha sua proporção variada ao longo da corrida cromatográfica, além disso acoplado ao HPLC havia um espectrômetro de massa. Sendo assim, os parâmetros variados nesse estudo possibilitaram que o LD variasse de 0,02 – 0,1 ng.L^{-1} , portanto um método sensível para a detecção e por conseguinte quantificação de contaminantes.

Desta maneira, é notório que o método proposto pelo presente estudo necessitaria passar por um refinamento no que diz respeito à delimitação das condições da fase móvel (proporção de solvente/água e pH). Mesmo sendo capaz de detectar e quantificar CPE nas amostras analisadas, o método, ao passar por alterações, nos forneceria possivelmente um quadro mais fidedigno das condições ambientais dos três rios estudados.

2.4.2 Contaminantes na água.

A contaminação de ambientes aquáticos, seja nos compartimentos da coluna de água ou sedimento, está relacionada com a instalação de atividades antrópicas ou a urbanização de regiões adjacentes a esses ecossistemas. Os resquícios de tais atividades associados a fenômenos comuns, como percolação, *run-off*, entre outros, conduzem os mais diversos tipos de contaminantes para os sorvedouros finais, que costumam ser as matrizes aquáticas.

De modo geral no presente estudo as concentrações dos contaminantes se mantiveram maiores nos pontos situados a montante dos rios, exceto no rio Ceará onde o ponto RC1 (próximo à foz do rio) apresentou níveis moderados de CAF e BPA. Esse padrão notado no ponto RC1 pode ter relação com a presença próxima de uma saída de galeria de drenagem pluvial, que na cidade de Fortaleza notoriamente tem ligações clandestinas de esgoto doméstico.

Outro padrão observado é que a detecção dos contaminantes, nos três rios, foi diminuindo ao longo das campanhas amostrais, exceto para a CAF. O aumento da quantidade de chuva, em particular durante a última campanha, pode ter corroborado para a redução das concentrações dos contaminantes analisados, como foi observado no estudo de Sodrê *et al.*

(2018). Na primeira campanha o acumulado de chuva nos três rios não ultrapassou os 15,6 mm, ao passo que na última campanha amostral todos os três rios receberam acumulado de chuva superior a 125 mm (FUNCEME, 2018). O incremento do aporte de água nos rios pode ter aumentado o fator de diluição dos contaminantes na coluna de água (MACHADO *et al.* 2016), dificultando assim a sua detecção pelo método proposto.

O aumento do índice pluviométrico verificado no período chuvoso e na pré-estação chuvosa no estado do Ceará influencia na dinâmica de contaminantes e nutrientes em corpos hídricos e zonas costeiras. Saes (2014) ao analisar a descarga de nutrientes da drenagem pluvial urbana (efluente) observou aumento dos nutrientes durante o período seco e sua diminuição no período chuvoso. Embora padrão responsivo na composição do efluente tenha sido observado durante as estações chuvosa e seca, o mesmo não foi tão bem definido na pluma de diluição do efluente (amostra ambiental) ao longo da costa (SAES, 2014).

No presente estudo houve conformidade entre o aumento das chuvas e a diminuição ou mesmo não detecção de contaminantes, em contra posição com o que foi encontrado por Saes (2014) na pluma de diluição. Uma explicação pode estar nos locais de amostragens usados para análise. Saes (2014) usou amostras da zona da costa da cidade de Fortaleza sem proximidade com regiões de descarga intensa e contínua de grandes volumes de água. Já no presente trabalho as amostras foram de rios perenes e que recebem aporte de outros rios afluentes o ano inteiro, portanto, trata-se de locais que têm seu volume sensivelmente modificado quando em período chuvoso.

Nilin, Santos e Nascimento (2018) conseguiram observar indiretamente o efeito da pluviosidade sobre a poluição de um estuário urbano, local semelhante às três áreas analisadas em nosso estudo. Os autores, ao analisarem a toxicidade de amostras de água do estuário do rio Poxim sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*, conseguiram observar que as amostras mais tóxicas correspondiam às do período seco e as menos tóxicas ao período chuvoso. Ao final eles correlacionaram os resultados de alta toxicidade e baixa toxicidade com a baixa (menor concentração de poluentes) e a alta (maior concentração de poluentes) pluviosidade, respectivamente.

Nas três campanhas feitas no rio Pacoti o ponto RP3, o mais afastado da foz, apresentou valores altos de CAF (375,8 – 427,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), sendo isso possivelmente creditado a presença de um ponto comercial e de um assentamento residencial as margens do rio, visivelmente sem o devido serviço de coleta e tratamento de esgoto. No rio Cocó durante as duas primeiras campanhas os pontos RCC2 e RCC3, os mais afastados da foz, também apresentaram valores expressivos de CAF variando de 231,1 – 378,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Esses dois pontos

estão próximos a regiões que abrigam empreendimentos comerciais e uma grande quantidade de residências. Já no rio Ceará CAF foi encontrada em todos os três pontos amostrais ao longo do período de estudo, tendo sua concentração variado de 289,4 – 417,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

A CAF apresentou altos níveis de concentrações nos três rios analisados. Trabalhos realizados em regiões de estuário, ou seja, de certa forma semelhantes às áreas selecionadas no presente estudo, conseguiram quantificar a CAF em amostras de água com concentrações que variaram de 8 – 3.060 ng.L^{-1} (FANG, LIN, KAO, 2019; GONZALEZ-REY *et al.* 2019; SCOTT *et al.* 2016; SUN *et al.* 2016). Entretanto, estudos realizados em rios, que notoriamente recebiam efluentes oriundos de atividade antrópica, conseguiram detectar CAF na faixa de concentração de 3,90 – 127 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (GONÇALVES, RODRIGUES, SILVA-FILHO, 2016; RAIMUNDO, 2007; SODRÉ *et al.* 2007; VALCÁRCEL *et al.* 2011), contudo esses valores ainda se mostram distantes dos valores encontrados no presente trabalho.

A cafeína, entre os contaminantes emergentes, tem destaque por apresentar alta taxa de comercialização e consumo no mundo (BRADLEY *et al.* 2007), sendo o Brasil o décimo maior consumidor mundial (CAFFEINEINFORMER, 2013). Esse composto é encontrado na formulação de alimentos, bebidas, fármacos e drogas, e também é encontrado em algumas espécies de plantas (BUERGE *et al.* 2003), sendo assim necessário ponderar até que ponto a presença dessa substância é habitual em amostras ambientais.

Em seres humanos a capacidade de metabolização completa da cafeína, seguida da sua excreção, resulta na liberação de 10% do composto integral, que chega a rede de captação de esgoto e finalmente aporta nas ETE. As metodologias adotadas pelas ETE apresentam variações a depender da região, refletindo assim diretamente na taxa de remoção da CAF que vai de 13% a 100% de eficiência (VERLICCHI *et al.* 2012). Sendo assim, fica evidente a capacidade que esse composto tem de atingir o meio ambiente através dos efluentes das ETE, ligações clandestinas de esgoto e mesmo pela disposição de café oriundo da lavagem de utensílios domésticos.

Em decorrência da disparidade que as ETE têm no que tange a capacidade de remoção da CAF em estudos de detecção e quantificação de xenobióticos em matrizes ambientais essa substância tem sido utilizada como um marcador de contaminação antrópica por águas residuárias, efluentes e esgoto (BUERGE *et al.* 2003; FERREIRA, CUNHA, 2005, WARNER, LICHA, NÖDLER, 2019).

A alta frequência de CAF nas amostras de água analisadas é um indicativo preciso de que os três rios, embora situados dentro de áreas de proteção ambiental, estão sob intensa influência de esgotamento doméstico. Esse quadro é reflexo da ausência do plano de manejo

nessas áreas e/ou de fiscalização que viabilizasse sua aplicação integral e com isso regulasse os assentamentos e as atividades humanas dentro da área ou em regiões circunvizinhas. Os resultados indicam ainda que, devido à poluição, estas áreas protegidas podem não estar sendo totalmente efetivas na conservação dos ambientes e proteção da biodiversidade, o que portanto, ameaça o cumprimento dos objetivos dessas unidades de conservação.

A malha de esgotamento sanitário é outro ponto que colabora para a alta detecção de CAF nos três rios analisados. O acesso à coleta de esgoto por parte dos brasileiros chega a pouco mais de 50% da população, enquanto que a porcentagem de esgoto tratado só alcança 46%. Os dados regionais são mais alarmantes, em particular para nossa região. O Nordeste tem uma cobertura de coleta de esgoto de 26,81% e apenas 34,73% de todo seu esgoto produzido é tratado (TRATABRASIL, 2017). Portanto, fica nítido que o baixo esforço por parte dos órgãos competentes para tornar o saneamento básico uma política pública e contínua reverbera na qualidade ambiental dos ecossistemas impactos que recebem esgoto não tratado, assim gerando efeitos para organismos expostos e para o próprio ser humano.

Além disso, a presença de CAF pode ser um indicador da qualidade da água, em particular para fins de lazer da população. Suavé *et al.* (2012) observaram uma correlação positiva entre a detecção de CAF e a presença de coliformes fecais em matrizes aquáticas de áreas urbanas, localidade semelhante aonde os três estuários analisados no presente estudo estão situados. Sendo assim, a quantificação de cafeína pode fornecer subsídios para a avaliação da balneabilidade de ambientes usados para as atividades de esporte e lazer.

Além do aporte pelas ETE, outro aspecto que contribui para a presença de CAF em matrizes ambientais são as características intrínsecas da molécula. As características físico-químicas da CAF indicam que sua meia vida em condições de alta salinidade, em regiões marinhas ou estuarinas, é de aproximadamente 5 dias, em virtude da atividade bacteriana sobre ela (BAENA-NONGUEIRAS *et al.* 2017). Embora tenha meia vida relativamente baixa a inserção contínua de esgoto no ambiente colabora para que a presença da CAF se mantenha constante e as suas concentrações no meio ambiente sejam moderadas. Outra característica que também colabora para a persistência desse composto no ambiente é a sua baixa taxa de evaporação (VERENITICH, MAZUMDER, 2008).

O BPA foi outro composto detectado nas amostras de água dos estuários analisados em nosso estudo. A maior frequência de detecção desse contaminante se deu no estuário do rio Ceará durante a primeira campanha amostral, sendo que a concentração mais elevada foi no ponto RC1 onde próximo deságua uma galeria de água pluvial, e como citada

anteriormente as galerias pluviais da cidade de Fortaleza apresentam ligações clandestinas de esgoto. Nos demais estuários o BPA foi detectado uma única vez e em apenas um ponto.

De modo geral as concentrações de BPA nos três estuários estudados variaram de 71,6 a 188,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$. A literatura reporta que outros autores conseguiram detectar BPA em amostras de água de regiões estuarinas na faixa de concentração de 1,94 – 3,06 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (BAYEN *et al.* 2016; SUN *et al.* 2016; YOON *et al.* 2010), portanto abaixo dos níveis encontrados em nosso estudo. Contudo, Kolpin *et al.* (2002), em um grande esforço amostral em várias localidades dos Estados Unidos, conseguiram obter valores de BPA de até 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$ em água superficiais que eram susceptíveis a impactos antrópicos, sendo esse valor o mais próximo ao mensurado no presente trabalho.

A presença de BPA em amostras ambientais é um indicativo direto de que os ambientes estão sob a influência antrópica, já que esse composto não é produzido naturalmente. A solubilidade do BPA em água, em condições de temperatura ambiental, varia entre 120 e 300 mg.L^{-1} (PUBCHEM, 2019). Sendo assim, a quantificação estimada do BPA não reflete de modo direto a sua carga real de emissão no ambiente, em decorrência de sua baixa solubilidade; nesse caso, seria importante a realização de estudos visando detectar e quantificar o BPA em sedimentos e na biota estuarina, de forma a diagnosticar adequadamente sua presença nos estuários da RMF.

A inserção do BPA nas matrizes ambientais aquáticas pode ser realizada por meio de fontes difusas e/ou pontuais. Entre as fontes difusas podemos citar a contribuição do lançamento de efluentes gasosos, os chamados aerotransportadores, que ao chegarem à interface água/ar são incorporados à coluna de água (BOOTH *et al.* 2013; CAO *et al.* 2018; LIM *et al.* 2007). O exposto anteriormente foi observado por Kassotis *et al.* (2015) onde matrizes ambientais aquáticas estavam contaminadas por BPA em regiões circunvizinhas a localidades que detinham permissão para liberação desse composto, indicando uma rota de deposição alternativa às habituais e uma outra forma de exposição da biota e do ser humano ao BPA.

Além das vias gasosas, a chegada de BPA nas ETE ocorre, em particular, devido ao uso de múltiplos produtos plásticos e de resinas que têm em sua formulação esse composto. Quando são consumidos ou utilizados em domicílio ou mesmo em indústrias, tais produtos geram rejeitos que são recolhidos pelo sistema de esgoto e aportam finalmente nas ETE. Nas ETE os métodos empregados para o tratamento do esgoto se mostram ainda insuficientes para a remoção expressiva do BPA e outros compostos semelhantes, o que configura as ETE como importantes agentes de introdução de BPA no meio ambiente aquático (ARDITSOGLU,

VOUTSA, 2010; TORO-VÉLEZ *et al.* 2016; WANG *et al.* 2005). Para além das ETE, as ligações clandestinas de esgoto e a liberação de efluentes sem o devido tratamento contribuem também para a contaminação das matrizes ambientais aquáticas.

As propriedades físico-químicas de moléculas de desreguladores endócrinos, como o BPA, viabilizam a sua interação com a fração fina de material particulado suspenso presente na coluna de água de matrizes aquáticas (HOU, SUN, GAO, 2006; WILKINSON *et al.* 2017). Esse comportamento colabora para que os valores de BPA encontrados em água sejam em geral menores quando comparados com o sedimento, pois esse material particulado é passível de decantação. Além disso, podemos citar a transformação que o BPA sofre por ação de bactérias na água. Ashfaq *et al.* (2018) constataram a presença dos subprodutos BPA-DME e BPA-MME em amostras de água superficial de regiões estuarinas, o que contribuía com a atenuação dos níveis do BPA, embora não representasse redução dos riscos ao ambiente, uma vez que os dois subprodutos são também tóxicos (MCCORMICK *et al.* 2011).

A presença de CAF e BPA nas amostras ambientais coletadas é um indicativo claro que os respectivos estuários estão sobre ação da atividade antrópica, pois ambas as substâncias são notoriamente de consumo e uso humano, respectivamente. Starling *et al.* (2018) propuseram o uso desses dois compostos como traçadores de contaminação por água residuárias e efluentes domésticos. A escolha da CAF e do BPA se deu em virtude do seu consumo pelo homem, de serem moderadamente solúveis em água, resistentes à fotólise e moderadamente resistentes à biodegradação.

2.4.3 Avaliação de risco ecológico

A avaliação de risco ecológico foi efetuada com base nos valores dos contaminantes mensurados nas amostras de água dos rios analisados e nos dados de toxicidade disponíveis na literatura para os mesmos. Para tanto, foram inicialmente calculados os valores de PNEC dos compostos presentes nos rios analisados com na base toxicidade crônica em organismos não alvos. O PNEC da CAF foi mensurado com base nos dados de toxicidade (*endpoint*: biomarcadores) do poliqueta marinho *Hediste diversicolor*, onde o CENO era de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (PIRES *et al.* 2016). Já para o cálculo do PNEC do BPA foram usados os dados de toxicidade crônica (*endpoint*: desenvolvimento embrio-larval) do ouriço do mar *Echinometra lucunter* cuja CENO foi de 0,11 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (SILVA, ABESSA, 2019). De posse dos dados de CENO para

cada composto foi possível derivar o PNEC da CAF e do BPA que foram $0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $0,011 \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente.

Logo em seguida, foram mensurados os valores de CR da CAF para os rios Ceará, Cocó e Pacoti que foram de 964,6, 770,3 e 1.252, respectivamente. Os CR do BPA também foram calculados e foram de 11.745, 15.009 e 6.509 para os rios Ceará, Cocó e Pacoti, respectivamente.

Os organismos não alvos utilizados para determinar os valores do CR da CAF e BPA nos indicaram que esses compostos representam alto risco para os organismos aquáticos dos três rios estudados na região metropolitana de Fortaleza, pois todos os valores de CR estiveram acima de 1. A relevância desses dados se torna mais acentuada por ser utilizado como modelo para cálculo do CR o ouriço *E. lucunter*, um organismo nativo da costa brasileira (RATHBUN, 1879; TOMMASI, 1957) e que portanto torna a avaliação de risco mais próxima da realidade local.

Os altos valores de CR e, por conseguinte os altos riscos ambientais da CAF e BPA estão relacionados com a frequente descarga desses contaminantes no meio aquático por ação de ETE ou deposição direta de efluentes sem tratamento (GUO *et al.* 2015; PETEFFI *et al.* 2019). O BPA já é um composto que recebe restrições de uso em produtos por ser amplamente conhecido o seu efeito de desregulador endócrino em sistemas biológicos (DIRETIVA EUROPEIA, 2003). Entretanto, a CAF não tem gerado preocupação em relação ao seu risco a biota, pelo menos até o momento, ainda que sua detecção esteja sendo usada como um indicador direto de qualidade de água.

No estado do Ceará o total de domicílios que têm acesso à rede coletora de esgoto chega a pouco mais de 43%, e quando analisamos a RMF, região cortada pelos rios estudados, os índices de cobertura são extremamente discrepantes. As cidades por onde passa o rio Pacoti têm taxa de cobertura de serviço de esgoto adequada entre 32,4 – 74%; já o rio Cocó corta cidade com taxas de serviço de esgoto entre 6 – 78,3%; enquanto o rio Ceará transpassa cidades com taxa de esgotamento sanitário entre 31,8 – 74% (IBGE, 2010). Com isso, podemos inferir que a deficitária cobertura de esgotamento na RMF pode ser um dos fatores fundamentais para os aportes de CAF e BPA nos estuários analisados.

Como forma de atenuar os riscos aos quais os três estuários estão passando faz se necessário primeiramente garantir o cumprimento das leis que regem as 3 APA que levam o nome dos rios Ceará, Cocó e Pacoti. Regularizar e fiscalizar as atividades permitidas em cada uma das APA e principalmente controlar e coibir a instalação de conglomerados domiciliares às margens dessas unidades, para evitar a disposição de efluentes *in natura* no curso dos rios.

Outra medida essencial seria interligar todos os domicílios já instalados nas bacias dos estuários e nas áreas internas e de entorno das APA ao sistema de coleta de esgoto para assim diminuir o lançamento de contaminantes de origem domiciliar, como a CAF e BPA, nas matrizes ambientais aquáticas.

Portanto, os dados de risco ambiental gerados no presente trabalho vêm para colaborar na avaliação do monitoramento de contaminantes emergentes e do potencial risco que os mesmo podem representar para organismos não alvo. E com base nessa avaliação fomentar a inclusão desses compostos em programas de monitoramento das agências ambientais locais e estimular a melhoria no sistema de esgotamento sanitário da RMF.

2.5 CONCLUSÃO

No presente trabalho foi possível detectar os compostos CAF e BPA nas amostras de água oriundas dos três estuários situados na RMF. A CAF apresentou concentrações que variaram de 231,1 – 427,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ durante os meses de campanha amostral nos três estuários analisados, enquanto o BPA teve suas concentrações variando de 71,6 – 188,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ao longo do período de amostragem nos rios.

Ao ser calculado os CR para a CAF e o BPA foram possíveis observar que esses dois compostos, nas concentrações estipuladas na coluna de água, configuram risco severo para a biota associada aos estuários estudados. O risco maior ficou por conta do BPA, pois os valores de CR para os três estuários estiveram bem acima dos que foram determinados para a CAF.

REFERÊNCIAS

ARDITSOGLOU, A.; VOUTSA, D. Partitioning of endocrine disrupting compounds in inland waters and wastewater discharged into the coastal area of Thessaloniki, Northern Greece. **Environ Sci Pollut Res.**, v. 17, p. 529-538, 2010.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003**, que revoga a resolução nº 475 e dispõe sobre validação de métodos analíticos e bioanalíticos e determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. Brasília, DF, 2 de Junho de 2003.

ASHFAQ, M.; SUN, Q.; ZHANG, H.; LI, Y.; WANG, Y.; LI, M.; LV, M.; LIAO, X.; YU, C.P. Occurrence and fate of bisphenol A transformation products, bisphenol A monomethyl ether and bisphenol A dimethyl ether, in wastewater treatment plants and surface water. **J Hazard Mater.**, v. 357, p. 401-407, 2018.

BAENA-NOGUERAS, R.M.; GONZÁLEZ-MAZO, E.; LARA-MARTÍN, P.A. Degradation kinetics of pharmaceuticals and personal care products in surface water: photolysis and biodegradation. **Sci Total Environ.**, v. 590, p. 643-354, 2017.

BAYEN, S.; ESTRADA, E.S.; JUHEL, G.; KIT, L.W.; KELLY, B.C. Pharmaceutically active compounds and endocrine disrupting chemicals in water, sediments and mollusks in mangrove ecosystems from Singapore. **Mar Pollut Bull.**, v. 109. p. 716-722, 2016.

BLAIR, B.D.; CRAGO, J.P.; HEDMAN, C.J.; KLAPER, R.D. Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. **Chemosphere**, v. 93, p. 2116–2123, 2013.

BOOTH, S.; HUI, J.; ALOJADO, Z.; LAM, V.; CHEUNG, W.; ZELLER, D.; STEYN, D.; PAULY, D. Global deposition of airborne dioxin. **Mar Pollut Bull.**, v. 75, p. 182-186, 2013.

BUERGE, I.J.; POIGER, T.; MULLER, M.D.; BUSER, H.R. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface water. **Environ Sci Technol.**, v. 37, p. 691-700, 2003.

CAFFEINEINFORMER. 2013. **Caffeine (Coffee) Consumption By Country**. Disponível em: <<https://www.caffeineinformer.com/caffeine-what-the-world-drinks>> Acesso em: 14 de março de 2019.

CAI, W. Estuarine and coastal ocean carbon paradox: co2 sinks or sites of terrestrial carbon incineration? **Annu Rev Marine Sci.**, v. 3, p. 123-145, 2011.

CAO, S.; NA, G.; LI, R.; GE, L.; GAO, H.; JIN, S.; HOU, C.; GAO, Y.; ZHANG, Z. Fate and deposition of polycyclic hydrocarbons in the Bransfield Strait, Antarctica. **Mar Pollut Bull.**, v. 137, p. 533-541, 2018.

DAVANSO, M.B.; MOREIRA, L.B.; PIMENTEL, M.F.; COSTA-LOTUFO, L.V.; ABESSA, D.M.S. Biomarkers in mangrove root crab *Goniopsis cruentata* for evaluating quality of tropical estuaries. **Marine Environmental Research**, Fortaleza, v. 91, p. 80-88. 2013.

EMA – European Medicines Evaluation Agency. 2006. European agency for the evaluation of medicinal products. Committee for medicinal products for human use (CHMP). **Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use**. Ref. EMA/CRMP/SWP/4447/00. London, UK.

EUROPEAN COMMISSION. **Technical guidance document on risk assessment. TGD Part II. Institute for health and consumer protection**, 2003. Disponível em: <<http://europa.eu.int>>. Acesso em: 3 agosto de 2015.

FANG, T., LIN, C., KAO, C. Occurrence and distribution of pharmaceutical compounds in the Danshuei River Estuary and the Northern Taiwan Strait. **Mar Pollut Bull.**, v. 146, p. 509-520, 2019.

FERREIRA, A.P.; CUNHA, C.L.N. Anthropogenic pollution in aquatic environment: development of a caffeine indicator. **Int J Environ Health Res.**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 4, p. 303-311, 2005.

FREIRES, E.V.; GOMES, D.D.M.; SABADIA, J.A.B.; DUARTE, C.R.; SOUTO, M.V.S. Indicadores dos impactos da urbanização no leito do estuário do rio Cocó-Fortaleza/Ceará. **OKARA: geografia em debate**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 650-668. 2016.

FUNCEME – Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. **Monitoramento meteorológico**. Disponível em: <<http://www.funceme.br/>> Acesso em: 15 de fevereiro de 2019.

GOGOI, A.; MAZUMDER, P.; TYAGI, V.K.; CHAMINDA, G.G.T.; AN, A.K.; KUMAR, M. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: a review. **Groundwater for Sustainable Development**, Assam, v. 6, p. 169 – 180, 2018.

GONÇALVES, E.S., RODRIGUES, S.V., SILVA-FILHO, E.V. The use of caffeine as a chemical marker of domestic wastewater contamination in surface waters: seasonal and spatial variations in Teresópolis, Brazil. **Ambiente & Água**, v. 12, n. 2, p. 192-202, 2017.

GONZALEZ-REY, M., TAPIE, N., MENACH, K.L., DÉVIER, M., BUDZINSKI, H., BEBIANNO, M.J. Occurrence of pharmaceutical compounds and pesticides in aquatic systems. **Mar Pollut Bull.**, v. 96, p. 384-400, 2015.

GUO, L., LI, Z., GAO, P., HU, H., GIBSON, M. Ecological risk assessment of bisphenol A in surface waters of China based on both traditional and reproductive endpoints. **Chemosphere**, v. 139, p. 133-137, 2015.

HOU, S.; SUN, H.; GAO, Y. Sorption of small metabolites of nonylphenol polyethoxylates in single and complex systems on aquatic suspended particulate matter. **Chemosphere.**, v. 63, p. 31-38, 2006.

HOUTMAN, C.J. Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe. **J Integr Environ Sci.**, Haarlem, v. 7, p. 271-295, 2010.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. **Panorama das cidades – Ceará**. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ce/panorama> > Acesso em 10 out 2019.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia Normalização e Qualidade Industrial. **DOQ-CGCRE-008: Orientações sobre validação de métodos analíticos**, 2011.

KASSOTIS, C.D.; ALVAREZ, D.A.; TAYLOR, J.A.; SAAL, F.S.V.; NAGEL, S.C.; TILLITT, D.E. Characterization of Missouri surface waters near point sources of pollution reveals potential novel atmospheric route of exposure for bisphenol A and wastewater hormonal activity pattern. **Sci Total Environ.**, v.524, p. 384-393, 2015.

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

LAPWORTH, D.J., BARAN, N., STUART, M.E., WARD, R.S. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. **Environ. Pollut.**, Wallingford, v. 163, p. 287-303, 2012.

LIM, L.; WURL, O.; KARUPPIAH, S.; OBBARD, J.P. Atmospheric wet deposition of PAHs to the sea-surface microlayer. **Mar Pollut Bull.**, v. 54, p. 1212-1219, 2007.

MACHADO, K.C.; GRASSI, M.T.; VIDAL, C.; PESCARA, I.C.; JARDIM, W.F.; FERNANDES, A.N., SODRÉ, F.F.; ALMEIDA, F.V.; SANTANA, J.S.; CANELA, M.C.; NUNES, C.R.O.; BICHINHO, K.M.; SEVERO, F.J.R. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. **Sci. Total Environ.**, Curitiba, v. 572, p. 138-146, 2016.

MCCORMICK, J.M.; ES, T.V.; COOPER, K.R.; WHITE, L.A.; HÄGGBLÖM, M.M. Microbially mediated O-Methylation of bisphenol a results in metabolites with increased toxicity to the developing Zebrafish (*Danio rerio*) embryo. **Environ Sci Technol.**, v. 45, p. 6567-6574, 2011.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M.; KJERFVE, B. **Princípios de oceanografia física de estuários**. 1. ed. São Paulo: EdUSP, 2002. 413p.

MONTAGNER, C.C., VIDAL, C., ACAYABA, R.D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Quim Nova.**, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.

NILIN, J., MOREIRA, L.B., AGUIAR, J.E., MARINS, R., ABESSA, D.M.S., LOTUFO, T.M.C., COSTA-LOTUFO, L.V. Sediment quality assessment in a tropical estuary: The case of Ceará River, Northeastern Brazil. **Mar Environ Res.**, v. 91, p. 89-96, 2013.

NILIN, J., SANTOS, A.A.O., NASCIMENTO, M.K.S. Ecotoxicology assay for the evaluation of environmental water quality in a tropical urban estuary. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 91, p. 1-10, 2019.

NOAA – National Oceanic and Atmospheric Administration. **Estuaries: natural disturbances to estuaries**, 2017. Disponível em: <https://oceanservice.noaa.gov/education/kits/estuaries/estuaries08_natdisturb.html>. Acesso em: 21 junho de 2018.

NOAA – National Oceanic and Atmospheric Administration. **Estuaries: what is an estuary?**, 2018. Disponível em: <https://oceanservice.noaa.gov/education/kits/estuaries/estuaries01_what.html>. Acesso em: 23 junho de 2018.

OMAR, T.F.T.; ARIS, A.Z.; YUSOFF, F.M.; MUSTAFA, S. Occurrence, distribution and source of emerging contaminants in tropical coastal sediments of anthropogenically impacted Klang river estuary, Malaysia. **Mar. Pollut. Bull.**, Selangor, v. 131, p. 284-293, 2018.

PAL, A., HE, Y., JEKEL, M., REINHARD, M., GIN, K.Y. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. **Environ Int.**, Singapura, v. 71, p. 46-62, 2014.

PETEFFI, G.P., FLECK, J.D., KAEL, I.M., ROSA, D.C., ANTUNES, M.V., LINDEN, R. Ecotoxicological risk assessment due to the presence of bisphenol A and caffeine in surface waters in the Sinos River Basin - Rio Grande do Sul – Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 79, n. 4, p. 712-721, 2019.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Res.**, Bath, v. 72, p. 3-27, 2015.

PIRES, A., ALMEIDA, A., CALISTO, V., SCHNEIDER, R.J., ESTEVES, V.I., WRONA, F.J., SOARES, A.M.V.M., FIGUEIRA, E., FREITAS, E. *Hediste diversicolor* as bioindicator of pharmaceutical pollution: Results 2 from single and combined exposure to carbamazepine and caffeine. **Comp Biochem Physiol C.**, v. 188, p. 30-38, 2016.

PRITCHARD, D.W. What is an estuary: physical viewpoint. In: **Estuaries**. 1. ed. Washington, DC: American Association for the Advancement of Science Publication, 1967.

PUBCHEM. 2019. **Compound summary – Bisphenol A**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bisphenol-A>> Acesso em: 11 de março de 2019.

PUSCEDDU, F.H.; CHOUERI, R.B.; PEREIRA, C.D.S.; CORTEZ, F.S.; SANTOS, D.R.A.; MORENO, B.B.; SANTOS, A.R.; ROGERO, J.R.; CESAR, A. Environmental risk assessment of triclosan and ibuprofen in marine sediments using individual and sub-individual endpoints. **Environ. Pollut.**, Santos, v. 232, p. 274-283, 2018.

RAIMUNDO, C.C.M. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas do rio Atibaia**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RATHBUN, R. A list of the Brazilian Echinoderms with notes on their distribution. **Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Science**, [S.I.], v. 3, n. 5, p. 139-158, 1879.

RIBANI, M., BOTTOLI, C.B.G., COLLINS, C.H., JARDIM, I.C.S.F., MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim Nova.**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICHARDSON, S.D.; KIMURA, S.Y. Emerging environmental contaminants: challenges facing our next generation and potential engineering solutions. **Environmental Technology & Innovation**, Columbia, v. 8, p. 40-56, 2017.

RODRIGUEZ-NARVAEZ, O.M., PERALTA-HERNANDEZ, J.M., GOONETILLEKE, A., BANDALA, E.R. Treatment technologies for emerging contaminants in water: a review. **Chem. Eng. J.**, Guanajuato, v. 323, p. 361-380, 2017.

SANTANA, J. S. **Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano do Distrito Federal**. 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SANTANA, L.M.B.M.; COSTA-LOTUFO, L.V.; ABESSA, D.M.S. A contaminação antrópica e seus efeitos em três estuários do litoral do Ceará, Nordeste do Brasil – revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 48, n. 2, p. 93-115. 2015.

SANTOS, D.M.; BURUAEM, L.; GOLÇALVES, R.M.; WILLIAMS, M.; ABESSA, D.M.S.; KOOKANA, R.; MARCHI, M.R.R. Multiresidue determination and predicted risk assessment of contaminants of emerging concern in marine sediments from the vicinities of submarine sewage outfalls. **Mar. Pollut. Bull.**, Araraquara, v. 129, p. 299-307, 2018.

SCOTT, W.C., DU, B., HADDAD, S.P., BREED, C.S., SAARI, G.N., KELLY, M., BROACH, L., CHAMBLISS, C.K., BROOKS, B.W. Predicted and observed therapeutic dose exceedances of ionizable pharmaceuticals in fish plasma from urban coastal systems. **Environ Toxicol Chem.**, v. 35, n. 4, p. 983-995, 2016.

SILVA, A.Q., ABESSA, D.M.S. Toxicity of three emerging contaminants to non-target marine organisms. **Environ Sci Pollut Res Int.**, v. 26, p. 18354-18364, 2019.

SILVA, M. N. **Determinação de desreguladores endócrinos na água e no sedimentos do açude Santo Anastácio na cidade de Fortaleza/CE**. 2016. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

SODRÉ, F.F., LOCATELLI, M.A.F., MONTAGNER, C.C., JARDIM, W.F. Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 2, n. 2, p. 187-196, 2007.

SODRÉ, F.F., SANTANA, J.S., SAMPAIO, T.R., BRANDÃO, C.C.S. Seasonal and spatial distribution of caffeine, atrazine, atenolol and DEET in surface water and drinking waters from the Brazilian Federal District. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 29, n. 9, p. 1854-1865, 2018.

STRAUB, J.A. Environmental risk assessment for new human pharmaceuticals in the European Union according to the draft guideline/discussion paper of January 2001. **Toxicol Lett.** v.131, p. 137-143, 2002.

SAUVÉ, S., DESROSIERS, M. A review of what is an emerging contaminant. **Chem Cent J.**, v. 8, n. 15, p. 1-7, 2014.

STARLING, M.C.V.M.; AMORIM, C.C.; LEÃO, M.M.D. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. **J. Hazard. Mater.**, Belo Horizonte, v. 372, p. 17 – 36, 2019.

SAUVÉ, S.; ABOULFADL, K.; DORNER, S.; PAYMENT, P.; DESCHAMPS, G.; PRÉVOST, M. Fecal coliforms, caffeine and carbamazepine in stormwater collection systems in a large urban area. **Chemosphere**, v. 86, p. 118-123, 2012.

SUN, Q. LI, Y., LI, M., ASHFAQ, M., LV, M., WANG, H., HU, A., YU, C. PPCPs in Jiulong River estuary (China): Spatiotemporal distributions, fate, and their use as chemical markers of wastewater. **Chemosphere**, v. 150, p. 596-604, 2016.

TAHERAN, M.; NAGHDI, M.; BRAR, S.K.; VERMA, M.; SURAMPALLI, R.Y. Emerging contaminants: here today, there tomorrow! **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, Québec, v. 10, p. 122 – 126, 2018.

TOMMASI, L.R. Os equinodermas do litoral de São Paulo, 1: Echinoidea, Crinoidea e Holothuroidea do bentos costeiro. **Papeis avulsos do departamento de Zoologia**, São Paulo v. 13, n. 2, p. 19-44, 1957.

TORO-VÉLEZ, A.F.; MADERA-PARRA, C.A.; PEÑA-VARÓN, M.R.; LEE, W.Y.; BEZARES-CRUZ, J.C.; WALKER, W.S.; CÁRDENAS-HENAO, H.; QUESADA-CALDERÓN, S.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, H.; LENS, P.N.L. BPA and NP removal from municipal wastewater by tropical horizontal subsurface constructed wetlands. . **Sci Total Environ.**, v. 542, p. 93-101, 2016.

TRATA – Trata Brasil Saneamento é saúde. 2019. **Principais estatísticas**. Disponível em: <<http://www.tratabrasil.org.br/saneamento/principais-estatisticas/no-brasil/esgoto>> Acesso em 10 out 2019.

UNEP/IPCS – United Nations Environment Programme/International Programme on Chemical Safety. **Chemical risk assessment. Human risk assessment, environmental risk assessment and ecological risk assessment**. Edimburgo: WHO, 1999. 222 p.

USEPA – United States Environmental Protection Agency (2008) **White Paper: Aquatic life criteria for contaminants of emerging concern. Part I - General challenges and recommendations**. USEPA. OW/ORD Emerging Contaminants Workgroup.

USGS, 2017. **Contaminants of Emerging Concern in the Environment**. **Environmental**

Health - Toxic Substances Hydrology Program. U.S. Geological Survey.

VALCARCEL, Y., ALONSO, S.G., Rodríguez-Gil, J.L., GIL, A., CATALÁ, M. Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. **Chemosphere**, v. 84, p. 1336-1348, 2011.

VERENITCH, S.; MAZUMDER, A. Development of a methodology utilizing gas chromatography ion-trap tandem mass spectrophotometry for the determination of low levels of caffeine in surface marine and freshwater samples. **Anal Bioanal Chem.**, v. 391, p. 2635-2646, 2008.

VERLICCHI, P.; AUKIDY, M.A.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment – a review. **Sci Total Environ.**, v. 429, p. 123-155, 2012.

WANG, Y.; HU, W.; CAO, Z.; FU, X.; ZHU, T. Occurrence of endocrine-disrupting compounds in reclaimed water from Tiajin, China. **Anal Bioanal Chem.**, v. 383, p. 857-863, 2005).

WARNER, W.; LICHA, T.; NÖDLER, K. Qualitative and quantitative use of micropollutants as source and process indicators – a review. **Sci Total Environ.**, v. 686, p. 78-89, 2019.

WILKINSON, J.; HOODA, P.S.; BARKER, J.; BARTON, S.; SWINDEN, J. Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: an overarching review of the field. **Environ Pollut.**, Surrey, v. 231, p.954-970, 2017.

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