



**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL – UCS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, INOVAÇÃO E DESENVOLVIMENTO
TECNOLÓGICO.
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIAS
AMBIENTAIS – PPGECA**

**UTILIZAÇÃO DE TESTE *IN VIVO* PARA ANÁLISE DE PRESENÇA DE
SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA EM
EFLUENTE DE INDÚSTRIA METALÚRGICA**

TÁSSIA FINGLER VIDOR

Caxias do Sul

- 2015 -



TÁSSIA FINGLER VIDOR

**UTILIZAÇÃO DE TESTE *IN VIVO* PARA ANÁLISE DE PRESENÇA DE
SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA EM
EFLUENTE DE INDÚSTRIA METALÚRGICA**

**Dissertação de Mestrado apresentada
no Programa de Pós-Graduação em
Engenharia e Ciências Ambientais da
Universidade de Caxias do Sul.**

**Orientador: Dr. Matheus Parmegiani
Jahn**

Caxias do Sul

- 2015 -

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me permitido chegar até aqui.

Agradeço aos meus pais, Moisés e Teolinda, pelo incentivo e apoio durante meus estudos.

Aos professores Alois Eduard Schäfer, Rosane Maria Lanzer e ao amigo Rodrigo Maidel, pelo apoio no início das atividades no mestrado.

Aos meus alunos e colegas do Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial (SENAC).

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e incentivando.

Aos colegas, Carina Chissini pela disponibilidade do efluente da indústria metalúrgica para emprego nos testes e Eduardo Pompeo de Matos pelo cuidado com os experimentos durante a realização da pesquisa e organização dos dados.

E por fim ao meu orientador Matheus Parmegiani Jahn pela ajuda contínua, desde a delimitação do assunto até a defesa da dissertação. Muito obrigada!

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
UCS - BICE - Processamento Técnico

V654u Vidor, Tássia Fingler, 1986-
Utilização de teste *in vivo* para análise de presença de substâncias com potencial de desregulação endócrina em efluente de indústria metalúrgica / Tássia Fingler Vidor. – 2015.
92 f. : il. ; 30 cm

Apresenta bibliografia.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais, 2015.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Parmegiani Jahn.

1. Resíduos industriais. 2. Metalúrgicas. 3. Sistema endócrino. 4. Compostos orgânicos. I. Título.

CDU 2.ed.: 628.4.034

Índice para o catálogo sistemático:

1. Resíduos industriais	628.4.034
2. Metalúrgicas	669
3. Sistema endócrino	612.43
4. Compostos orgânicos	547

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária
Ana Guimarães Pereira – CRB 10/1460

“UTILIZAÇÃO DE TESTE IN VIVO PARA ANÁLISE DA PRESENÇA DE
SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA EM
EFLUENTE DE INDÚSTRIA METALÚRGICA.”

Tássia Fingler Vidor

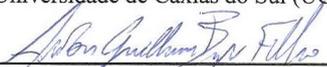
Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestra em Engenharia e Ciências Ambientais, Área de Concentração: Gestão e Tecnologia Ambiental.

Caxias do Sul, 06 de julho de 2015.

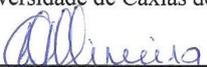
Banca Examinadora:



Dr. Matheus Parmegiani Jahn
(Orientador)
Universidade de Caxias do Sul (UCS)



Dr. Airton Guilherme Berger Filho
Universidade de Caxias do Sul (UCS)



Dra. Guendalina Turcato Oliveira
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC)



Dra. Suelen Osmarina Paesi
Universidade de Caxias do Sul (UCS)

RESUMO

O crescimento da população e os aumentos de consumo e da poluição dos recursos hídricos, tem gerado grande preocupação com a qualidade das águas. A indústria metalúrgica gera efluentes com contaminantes, tais como óleo, graxa e metais pesados. Estas substâncias ou uma combinação de substâncias tóxicas são susceptíveis de causar alterações no sistema endócrino dos organismos vivos, como o câncer, puberdade precoce, infertilidade masculina, feminização de animais silvestres, entre outros. O estudo teve como objetivo apontar o que aconteceu com ratos *Wistar* que consumiram efluente de indústria metalúrgica antes e depois do processo de tratamento, a fim de analisar a presença de substâncias com disfunção endócrina potencial no plasma sanguíneo. Foram avaliados os níveis de glicose, triglicérides, colesterol, estradiol, e as enzimas aspartato aminotransferase (AST) e de alanina aminotransferase (ALT). As amostras do plasma dos ratos que consumiram o efluente tratado mostrou altos níveis de glicose e estradiol. Não houve lesões no fígado de camundongos analisados como também não houve alteração nos resultados das enzimas AST e ALT. Sugere-se que essas alterações foram provocadas pelo nonilfenol, um conhecido desregulador endócrino presente na maioria dos detergentes industriais. Os padrões de emissão de efluentes industriais estipulados no nosso país refere-se a contaminantes físicos, químicos e biológicos que podem ser emitidos para o meio ambiente após a realização de tratamento. A legislação ambiental pertinente em nosso país trata desses limites de emissões, mas não deixa claro no que se refere às substâncias consideradas como desreguladores endócrinos. Esta pesquisa tem como objetivo a obtenção de dados através de revisão da literatura, sobre normas de emissões toleráveis, que não prejudiquem as atividades vitais dos seres vivos. A legislação brasileira cita a proibição da utilização de certas substâncias com potencial de desregulação endócrina, mas sem uma abordagem satisfatória. A União Europeia (UE), os Estados Unidos e o Japão têm metas e regulamentações sobre a não utilização de substâncias com potencial de interferência endócrina.

Palavras-chave: efluente metalúrgico; desreguladores endócrinos; teste *in vivo*; nonilfenol; legislação ambiental; padrões de emissão; parâmetros físicos e químicos.

ABSTRACT

Population growth and consumption increases and pollution of water resources, has generated great concern about water quality. The metallurgical industry produces effluents with contaminants such as oil, grease, and heavy metals. These substances or a combination of toxic substances are likely to cause changes in the endocrine system of living organisms, such as cancer, early puberty, male infertility, feminization of wild animals, among others. The study aimed to point out what happened to Wistar rats who consumed metallurgical industry effluent before and after the treatment process in order to analyze the presence of substances with potential endocrine dysfunction in blood plasma. We assessed the levels of glucose, triglycerides, cholesterol, estradiol, and the enzymes aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). Plasma samples from rats that consumed the treated effluent showed high levels of glucose and estradiol. There were no lesions in the liver of mice examined, as there was no change in the results of AST and ALT enzymes. It is suggested that these changes were caused by nonylphenol, a known endocrine disrupter present in most detergents industrials. The emission standards for industrial wastewater stipulated in our country refers to physical contaminants, chemical and biological that may be issued to the middle environment after the completion of treatment. The relevant environmental legislation in our country comes to these emission limits, but does not make clear in relation to substances considered as endocrine disruptors. This research aims to obtain data through review of the literature on standards of tolerable emissions, not impairing the vital activities of living things. Brazilian law cites the ban on the use of certain substances with endocrine disrupting potential, but without a satisfactory approach. The European Union (EU), the United States and Japan have goals and regulations on non-use of substances with endocrine interference potential.

Keywords: metallurgical effluent ; endocrine disruptors ; *in vivo* test; nonylphenol; environmental legislation; emission standards ; physical and chemical parameters

LISTA DE FIGURAS

Figura1-Disfunções endócrinas: a) resposta natural, b) efeito agonista, c) efeito antagonista.....	15
Figura2-Pontos de difusão para o meio ambiente de substâncias com potencial de interferência endócrina.....	16
Figura3-Estruturas químicas dos estrogênios naturais.....	17
Figura4-Órgãos do sistema endócrino humano	18
Figura5-Representação esquemática da interação tóxica dos estrogênios com as funções coordenadas pelo sistema endócrino.....	19
Figura6-Fórmula estrutural de PCBs.....	20
Figura7-Estruturas químicas de pesticidas organoclorados: (a) benomyl; (b) dicamba; (c) picloram.....	20
Figura8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD).....	21
Figura9-Estrutura química dos a) éteres bifenílicos polibromados, b) hexabromociclododecano (HBCD), c) tetrabromobisfenol A (TBBPA) e d) bifenilos polibromados.....	21
Figura10-Estrutura química do Dibutilftalato.....	22
Figura11-Estrutura química de Bisfenol A.....	22
Figura12-Estrutura química do Parabeno.....	23
Figura13-Fórmula química do Nonilfenol.....	23
Figura14-Possíveis rotas de fármacos e estrogênios no meio ambiente.....	28
Figura15-Esquema geral da designação de diferentes formas de uso de bioindicadores.....	31
Figura16-Respostas a contaminantes químicos nos diferentes níveis de organização biológica.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela1-Classificação da Água Doce segundo seus usos preponderantes, de acordo com a Resolução do CONAMA nº 357/2005.....	24
Tabela 2-Padrões de emissão de efluente.....	26

LISTA DE SIGLAS

ALT - Alanina aminotransferase

AST - Aspartato aminotransferase

CEUA - Comitê de ética da Universidade de Caxias do Sul

CONAMA - Conselho nacional de meio ambiente

CONSEMA - Conselho estadual de meio ambiente

COT - Carbono orgânico total

DBO - Demanda bioquímica de oxigênio

DQO - Demanda química de oxigênio

DDT- Diclorodifeniltricloroetano

EIA - Enzimaimunoensaio

EPI's - Equipamentos de proteção individual

ETE - Estação de tratamento de efluentes

NBR - Norma brasileira

OD - Oxigênio dissolvido

OECD - Organization for economic co-operation and development

PBDEs - Éteres de difenila polibromados

pH - Potencial hidrogeniônico

POA - Processos oxidativos avançados

POPs - Poluentes orgânicos persistentes

PCBs - Bifenilas policloradas

TCDD -2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina

WHO- World health organization

UE - União europeia,

UV - Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 GERAL.....	14
2.2 ESPECÍFICOS.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 DESREGULADORES ENDÓCRINOS E DISPERSÃO NO MEIO AMBIENTE.....	15
3.2 CLASSIFICAÇÃO DOS MANANCIAIS QUANTO AO USO E PADRÕES DE EMISSÃO DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS PÓS TRATAMENTO DE EFLUENTES PARA OS CORPOS HÍDRICOS.....	24
3.3 TRATAMENTOS EMPREGADOS PARA EFLUENTES METALÚRGICOS E REMOÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS.....	29
3.4 IDENTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE INTERFERÊNCIA ENDÓCRINA ATRAVÉS DE BIOINDICADORES E BIOMARCADORES.....	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1 PROCEDIMENTOS DE AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS COLETADAS.....	34
4.1.1 FORNECIMENTO CRÔNICO DE AMOSTRAS DE ÁGUA NA DIETA DE RATOS.....	34
4.1.2 PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DO PLASMA SANGUÍNEO E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS.....	35
4.1.3 ANÁLISES FÍSICO - QUÍMICAS.....	37
4.1.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	37
4.1.5 ANÁLISES HORMONAIAS.....	38
4.1.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39

4.1.7 BIOSSEGURANÇA.....	40
4.1.8 BIOÉTICA.....	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1 ARTIGO 1:.....	43
5.2 ARTIGO 2:.....	59
6 CONCLUSÃO.....	86
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

1 INTRODUÇÃO

O uso da água nos dias de hoje vem se intensificando devido as diferenciadas utilizações feitas pelos os humanos. Dentre estes usos, estão as atividades industriais, mais precisamente da indústria metalúrgica, ramo que se destaca na cidade de Caxias do Sul. Porém, a poluição e contaminação dos corpos hídricos também aumentou devido à geração de efluentes, tanto domésticos quanto industriais, sendo que o efluente metalúrgico pode ser extremamente tóxico, por apresentar, devido aos seus processos, grandes quantidades de óleos, graxas e ainda metais pesados, dentre eles, cromo, cádmio e chumbo entre outros.

Empresas de diferentes ramos industriais, estão realizando o tratamento de seus efluentes industriais, devido às exigências legais. Dentre as substâncias presentes nos mais diferentes tipos de efluentes, que podem causar eventualmente problemas de saúde, estão os chamados desreguladores endócrinos, assim chamados por interferir no funcionamento das atividades do sistema endócrino dos seres vivos.

Devido à problemática descrita, esta pesquisa tem por objetivo, analisar através de teste *in vivo* em ratos da linhagem *Wistar* machos, a presença e o efeito de substâncias com potencial de interferência endócrina, em efluente da indústria metalúrgica, foco do estudo, e possíveis alterações nas atividades dos organismos.

Além dos possíveis efeitos causados pelo efluente industrial nos organismos-testes, serão discutidos os valores dos resultados dos parâmetros físicos e químicos relacionando com a legislação ambiental vigente no Brasil, a respeito de desreguladores endócrinos, além disto, medidas regulamentadoras e perspectivas com relação a utilização de produtos químicos, que possam vir a agir nos organismos como desreguladores endócrinos. As regulamentações e medidas nacionais e internacionais sobre a problemática dos desreguladores endócrinos serão expostas e discutidas, através de revisão de literatura.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o efeito de desreguladores endócrinos a partir da exposição de ratos *Wistar* machos a efluente de indústria metalúrgica e discutir acerca da legislação atual relacionada a essas substâncias.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar as amostras de efluente industrial através de teste *in vivo* quanto ao potencial de interferência nas atividades endócrinas;
- Relacionar os resultados obtidos com a presença ou não de desreguladores endócrinos nas amostras de efluente industrial analisadas;
- Comparar os resultados obtidos no ensaio *in vivo* com as análises físico-químicas do efluente da indústria metalúrgica;
- Apontar as medidas regulamentadoras que estão sendo discutidas e implantadas, quanto a utilização de substâncias com potencial de interferência endócrina em nível nacional e internacional;
- Discutir a regulamentação ambiental com relação aos desreguladores endócrinos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DESREGULADORES ENDÓCRINOS E DISPERSÃO NO MEIO AMBIENTE

Desreguladores endócrinos são contaminantes naturais ou sintéticos, que podem mimetizar, bloquear ou alterar as funções hormonais. Nas etapas b e c (Figura 1) são observadas as alterações no sistema endócrino que ocorrem quando o desregulador endócrino se liga com os receptores hormonais, alterando a sua resposta natural (GHISELLI e JARDIM,2007; LLOPIS-GONZALEZ *et al.*, 2014).

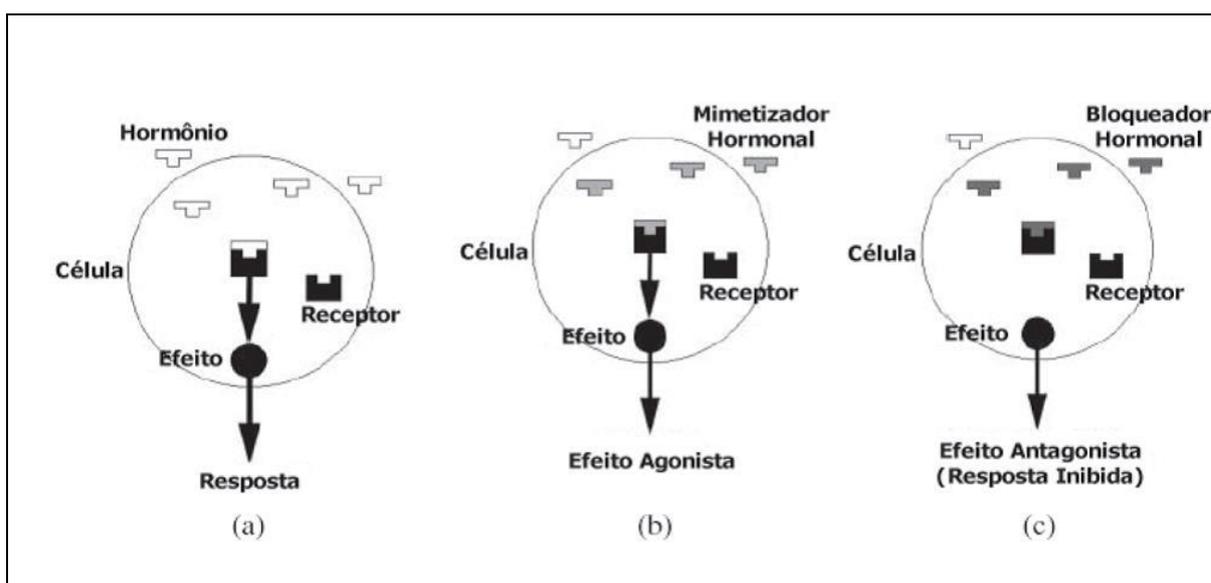


Figura 1 -Disfunções endócrinas: a) resposta natural, b) efeito agonista, c) efeito antagonista. FONTE: GHISELLI e JARDIM,2007

A exposição ambiental a estes contaminantes é praticamente impossível de ser evitada, pois os desreguladores endócrinos podem estar dispersos no ar, na água, no solo, nos alimentos e em muitos produtos que utilizamos em nosso cotidiano (Figura 2). No decorrer da produção de materiais e insumos industriais, eventualmente pode acontecer a formação de desreguladores endócrinos, e ainda estas substâncias podem ser conjugadas e sofrer transformações biológicas no meio ambiente, formando outros desreguladores endócrinos, isto porque no meio ambiente podemos encontrar diversas outras substâncias químicas. Estes

compostos químicos persistentes são carregados para regiões remotas, e muitas podem sofrer biomagnificação na cadeia alimentar. Outras substâncias químicas têm sua emissão regular através de descarte de efluentes, causando efeitos de desregulação endócrina, dentre elas, resíduos de pílulas anticoncepcionais excretados pelas mulheres que utilizam estas medicações (BILA E DEZOTTI, 2007; WHO,2012; LLOPIS-GONZALEZ *et al.*, 2014).

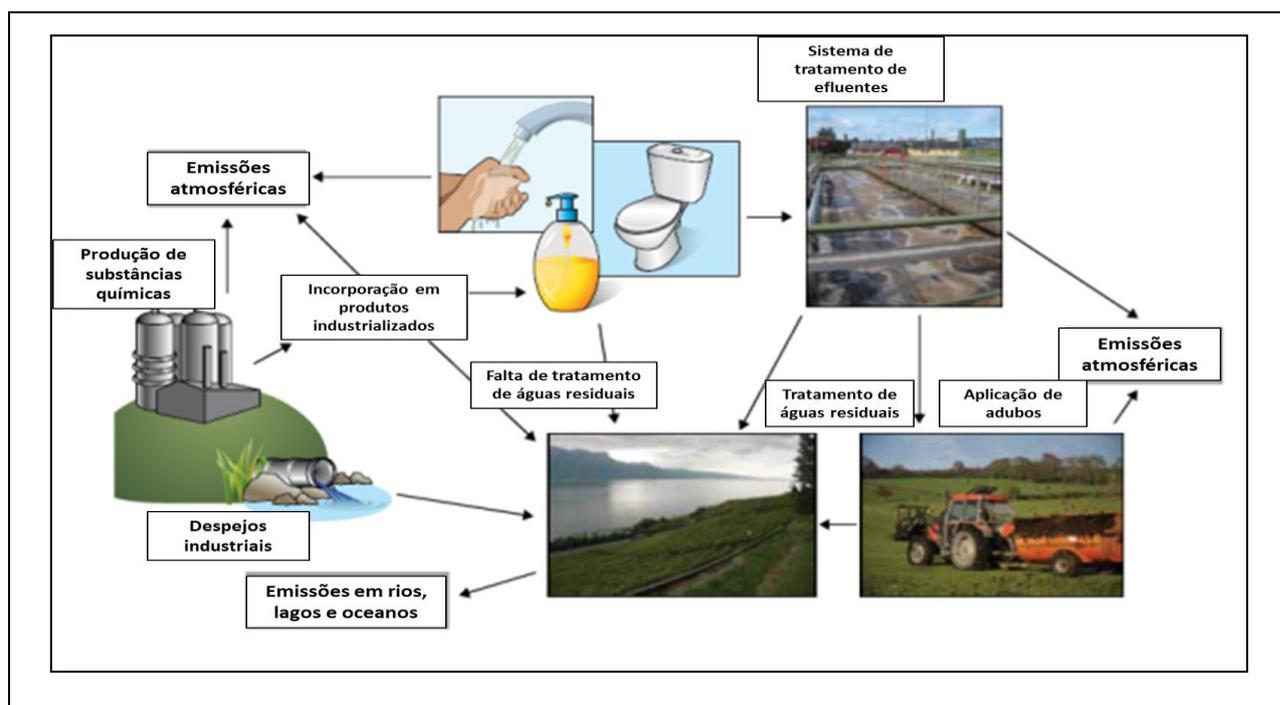


Figura 2 -Pontos de difusão para o meio ambiente de substâncias com potencial de interferência endócrina. FONTE: WHO,2012

Segundo Reis Filho (2006) os estrogênios naturais desenvolvidos para medicação em terapias de reposição hormonal e métodos contraceptivos são os que merecem maior atenção, tanto pela potência como pela quantidade contínua introduzida no ambiente. Estes hormônios possuem a melhor conformação reconhecida pelos receptores, sendo assim considerados como responsáveis pela maioria dos efeitos de interferência endócrina, desencadeados pela disposição a efluentes com a presença destas substâncias. Dentre os hormônios sexuais, os estrogênios vêm recebendo maior atenção por serem compostos extremamente ativos biologicamente e estão relacionados à etiologia de vários tipos de cânceres. Dentre estes hormônios estão: 17β -estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) e o sintético 17α -etinilestradiol (EE2) (Figura 3).

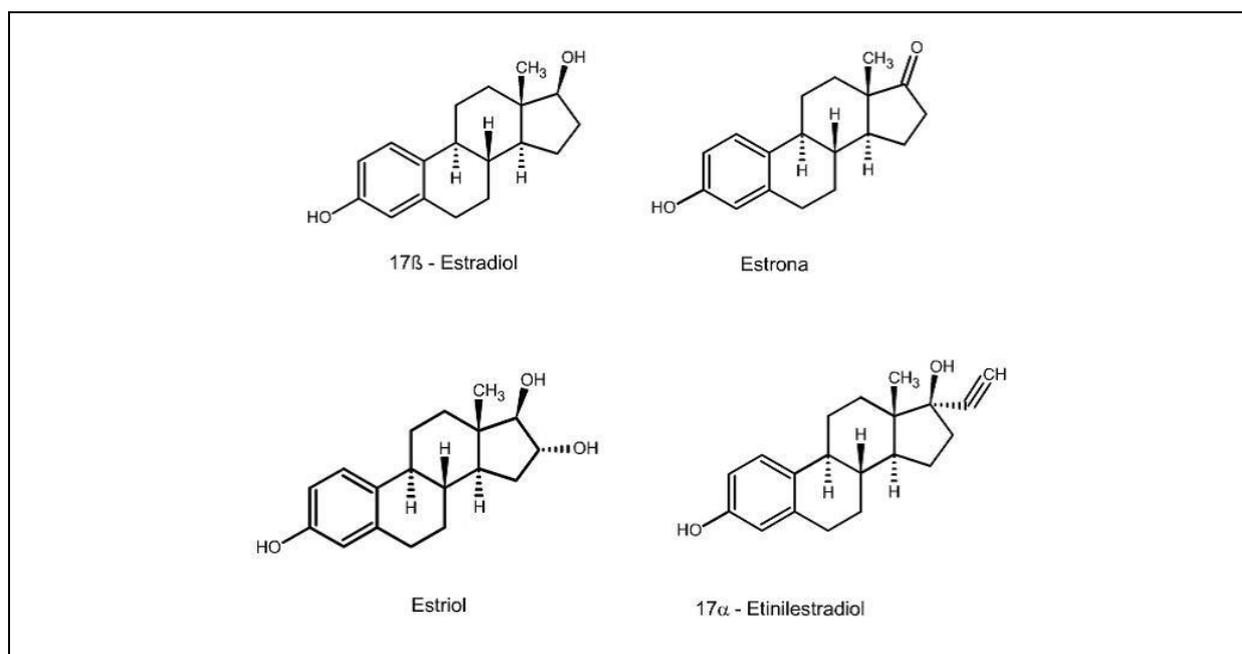


Figura 3 -Estruturas químicas dos estrogênios naturais. FONTE: BILA e DEZOTTI, 2007

Segundo Waissmann (2002), desreguladores endócrinos são agentes químicos que geram alterações no sistema endócrino humano e nos hormônios secretados por este sistema.

Sistema endócrino é constituído por um conjunto de órgãos, dentre eles a tireoide, as gônadas, as glândulas suprarrenais e pelos hormônios produzidos por estas glândulas (Figura 4). Hormônios são substâncias químicas produzidas e secretadas pelas glândulas endócrinas que coordenam o funcionamento do organismo. Concentrações extremamente baixas de um determinado hormônio geram um efeito, produzindo uma resposta natural (GHISELLI e JARDIM, 2007).

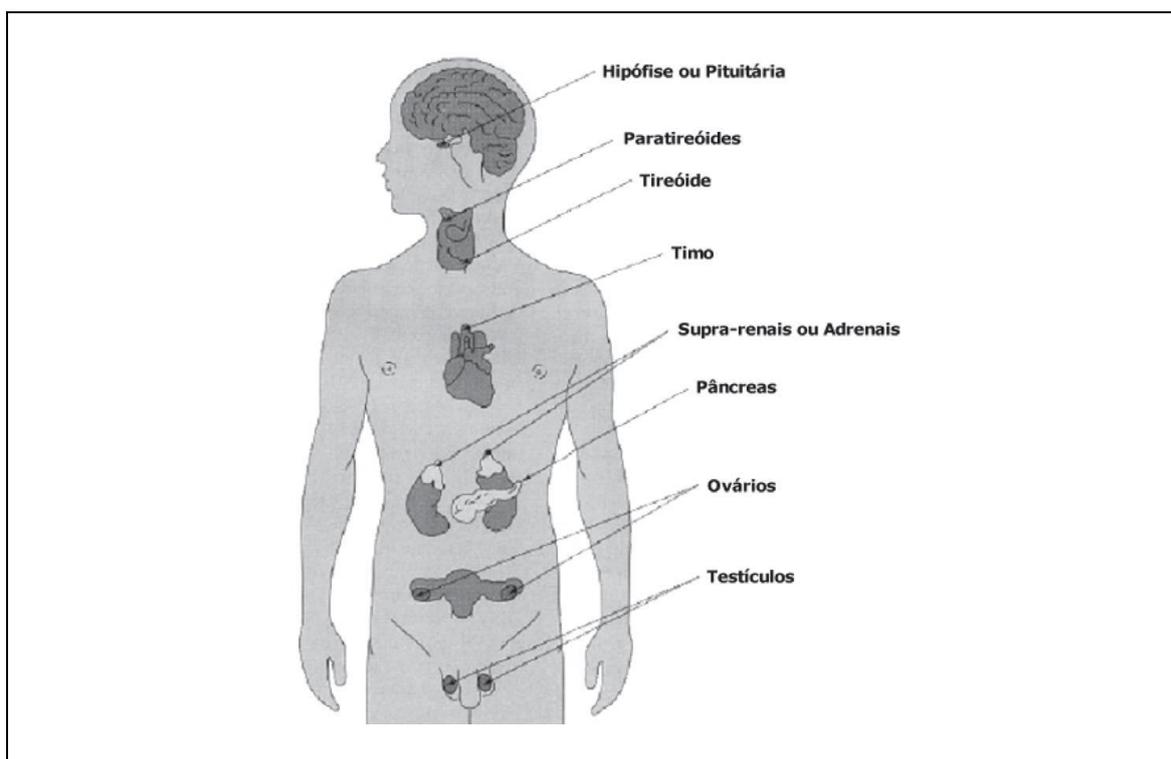


Figura 4 -Órgãos do sistema endócrino humano. FONTE: GHISELLI e JARDIM,2007

A toxicidade dos desreguladores endócrinos nos organismos podem ser um complexo de reações químicas contínuas, desde o zigoto até a idade adulta. As ações dos estrogênios sobre os mecanismos de controle do sistema endócrino desencadeiam perturbações em cada um dos aspectos controlados pelo sistema (Figura 5). Dentre estas perturbações podemos destacar as relacionadas à homeostase que é essencial para sustentação do equilíbrio metabólico dos organismos (BILA e DEZOTTI, 2007).

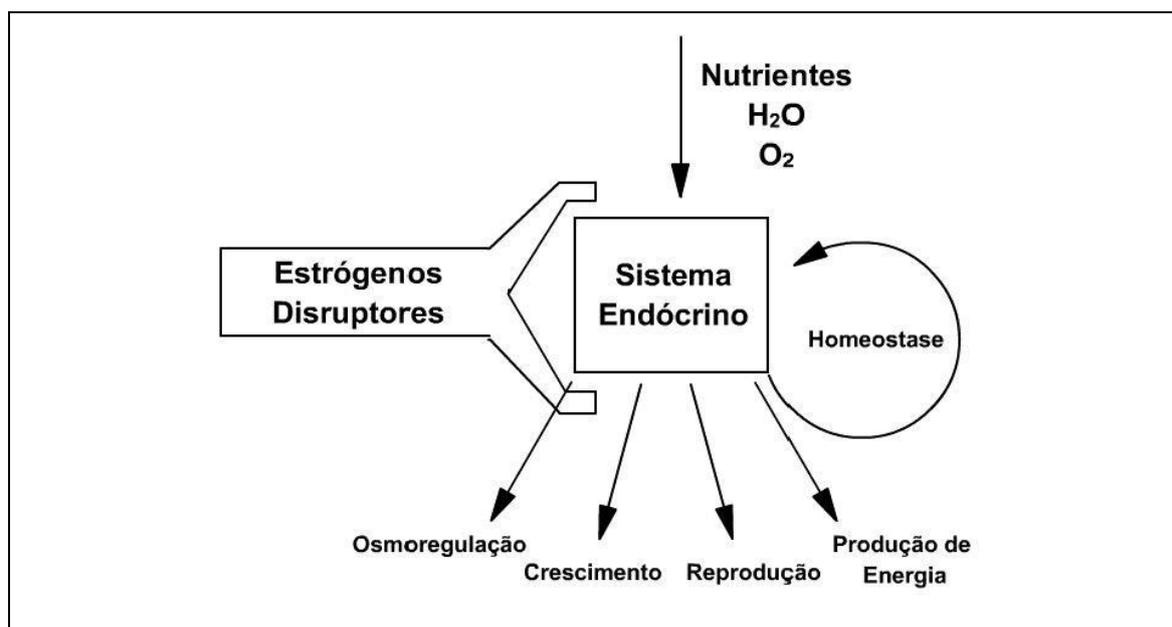


Figura 5-Representação esquemática da interação tóxica dos estrogênios com as funções coordenadas pelo sistema endócrino.FONTE: BILA e DEZOTTI, 2007

Várias são as substâncias com potencial de interferência endócrina, das quais existem estudos científicos:

Os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), que tiveram sua utilização banida por possuírem alta toxicidade, sendo caracterizados como lipossolúveis e persistentes no meio ambiente. Podem poluir, ou ainda contaminar o solo, de forma direta ou indireta, pelas aplicações realizadas em plantações, sendo assim, a concentração acumulada pode interferir no solo, sendo alguns exemplos: aldrin, clordano, dieldrin, bifenilas policloradas (PCBs), diclorodifeniltricloroetano (DDT), endrin, heptacloro, mirex, toxafeno, hexaclorobenzeno, sendo que estes compostos podem estar relacionados com problemas reprodutivos, tipologia de determinados cânceres e disfunções no sistema imunológico (WHO,2012; FELIX *et al.*, 2007).

As Bifenilas policloradas (PCBs) (Figura 6) podem alterar principalmente as funções reprodutivas dos organismos, dentre eles distúrbios na maturação sexual e efeitos teratogênicos. Em humanos observou-se sintomas como cloracne, hiperpigmentação, problemas oculares, elevação do índice de mortalidade por câncer no fígado e câncer na vesícula biliar (PENTEADO e VAZ, 2001).

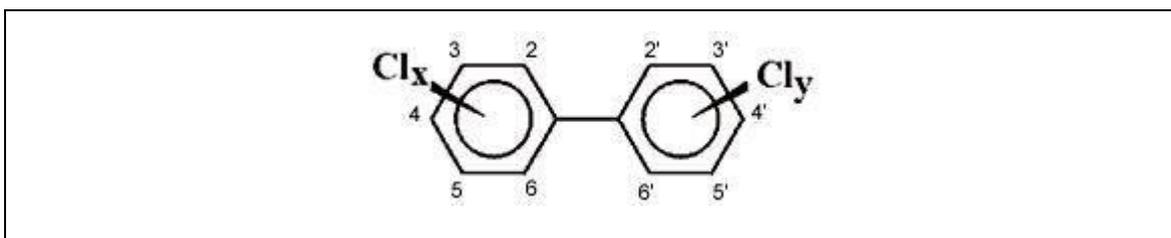


Figura 6-Fórmula estrutural de PCBs. FONTE: PENTEADO e VAZ, 2001

Rachel Carson, em sua obra clássica, *Primavera Silenciosa*, no ano de 1962, já relatava a associação do Diclorodifeniltricloroetano (DDT) com problemas e cânceres e fertilidade em humanos.

O DDT (Figura 7) e seus metabólitos, o DDD e DDE foram relacionados com fenômenos de feminilização de tartarugas macho nos Grandes Lagos, Estados Unidos. Estudos realizados nos anos de 1980, na Flórida com crocodilos, junto ao Lago Apopka, apontaram a diminuição da população juvenil de crocodilos e elevados níveis de estradiol em machos (FOX,2001).

O DDT foi um dos pesticidas mais utilizados no mundo até a década dos anos de 1970. Há poucas alternativas seguras para sua destruição, sendo a incineração, um dos métodos mais empregados (PEREIRA e FREIRE, 2005).

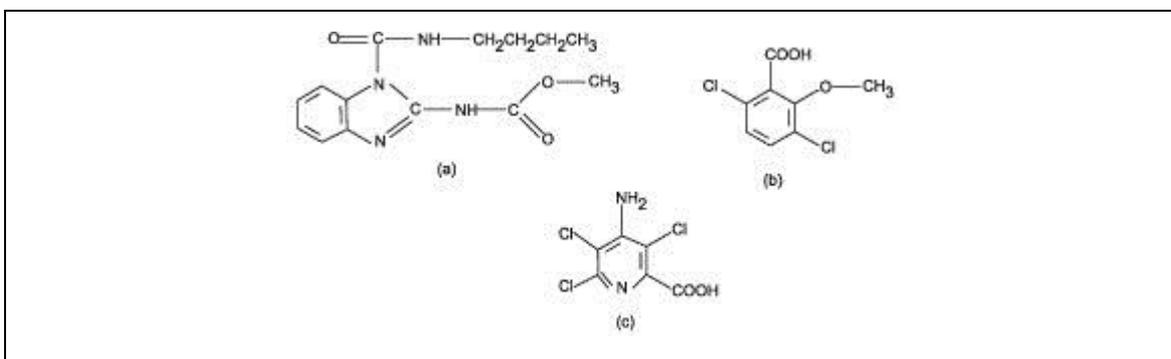


Figura 7-Estruturas químicas de pesticidas organoclorados: (a) benomyl; (b) dicamba; (c) picloram.FONTE: PEREIRA e FREIRE, 2005

As Dioxinas e os Furanos são geradas durante processos industriais, principalmente durante processos de combustão. São substâncias causadoras ou que tem relação com determinados tipos de cânceres (FORLIN e FARIAS, 2002; CANIZARES *et al.*, 2005).

O 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD) (Figura 08) é considerado o composto mais tóxico desta classe, estando relacionado com incidência de diabetes e doenças cardiovasculares. Crianças expostas, no período de gestação, às

dioxinas e furanos apresentaram sequelas no desenvolvimento e no comportamento neurológico. Também foram apresentados efeitos na produção do hormônio da tireoide (CANIZARES *et al.*, 2005).

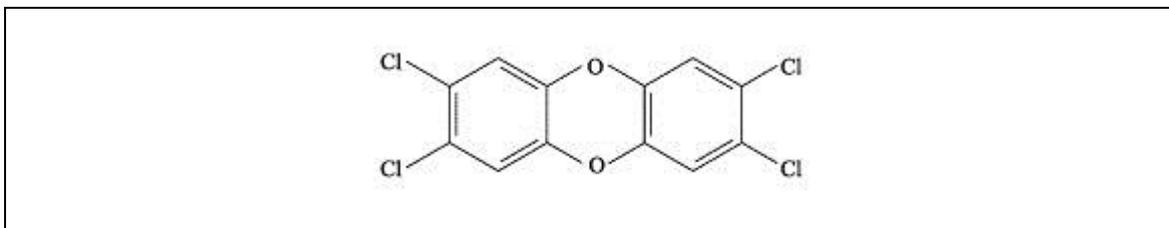


Figura 8-2, 3,7,8 - tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD). FONTE: FORLIN e FARIAS, 2002

Os Éteres de Difenila Polibromados (PBDEs) (Figura 9) são apontados como causadores ou relacionados aos efeitos hepatotóxicos, neurotóxicos, alterações imunológicas, nas ações endócrinas e desenvolvimento de câncer. Os PBDEs também podem atingir o meio ambiente através do descarte inadequado de bens de consumo, principalmente em depósitos de resíduos sólidos, sendo que o chorume liberado por estes locais pode atingir lençóis freáticos, se estes aterros não foram construídos conforme as normas de engenharia pertinentes ou ainda por fugas acidentais (BREMAUNTZ, *et al.*, 2004; PESTANA *et al.*, 2008).

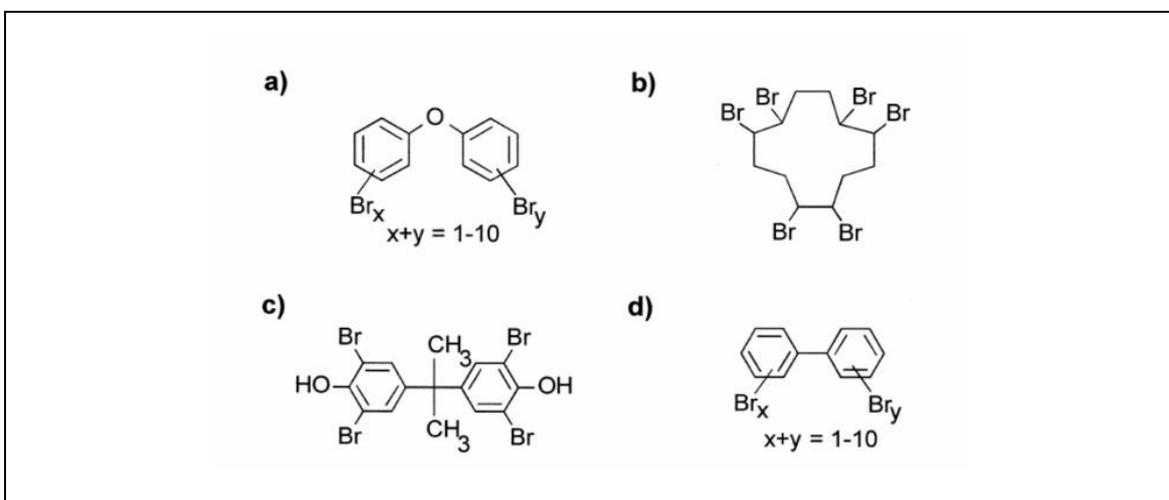


Figura9-Estrutura química dos a) éteres bifenílicos polibromados, b) hexabromociclododecano (HBCD), c) tetrabromobisfenol A (TBBPA) e d) bifênilos polibromados. FONTE: BREMAUNTZ, *et al.*, 2004

Os Ftalatos (Figura 10) são utilizados como plastificantes e causam problemas adversos à saúde, compreendendo desde danos ao fígado, rins e pulmões, bem como anormalidades no sistema reprodutivo e ao desenvolvimento sexual, danos testiculares, infertilidade sendo classificados como prováveis carcinogênicos humanos (ZINI *et al.*, 2009).

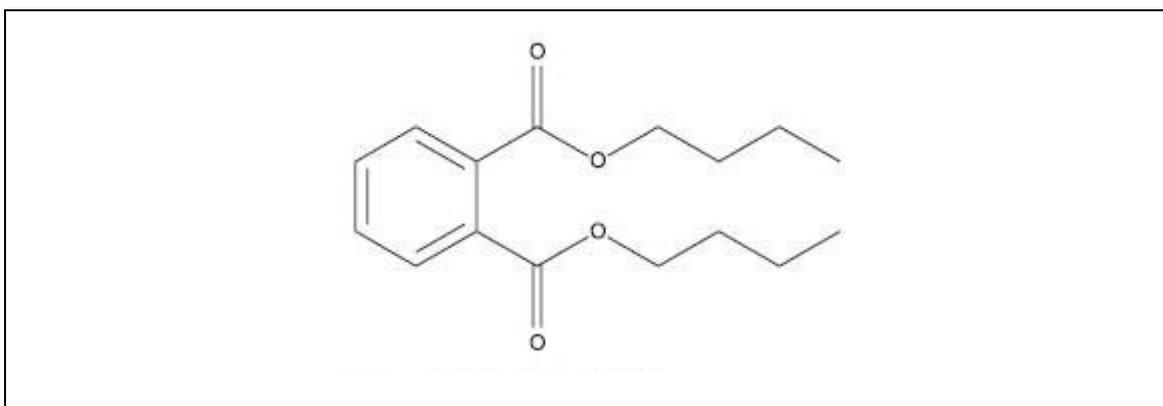


Figura 10-Estrutura química do Dibutilftalato. FONTE: ZINI *et al.*, 2009

O Bisfenol A (Figura 11) ocasiona consequências nocivas à saúde dos seres vivos, por interagir com o sistema endócrino. Bisfenol A é utilizado na produção de plásticos e resinas epóxis, sendo também usado na produção de poliéster e retardantes de chamas. O policarbonato que contém Bisfenol A, pode ter contato com comidas prontas para crianças, já que acondiciona este tipo de alimento. Ainda pode ser encontrado em outros tipos de embalagens que acondicionam alimentos, tais como garrafas de água e de leite. Este composto está relacionado com um aumento de incidência de tumores mamários em mulheres com idade igual ou superior a 40 anos e na diminuição de espermatozoides viáveis para reprodução em homens (GOLOUBKOVA e SPRITZER, 2000; LAWS,2000; CHEN, *et al.*, 2006; POPKIE *et al.*, 2014).

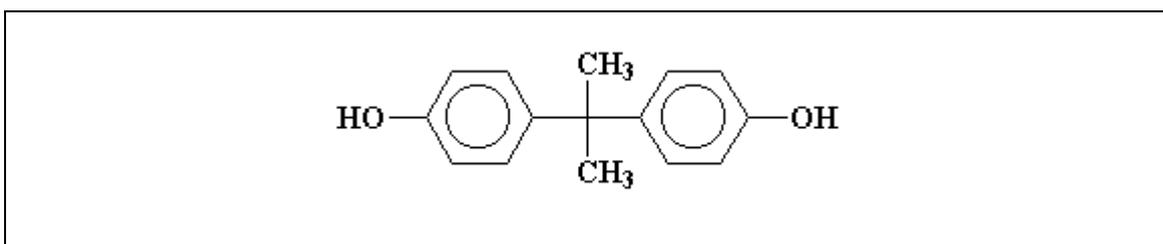


Figura 11-Estrutura química de Bisfenol A. FONTE: GOLOUBKOVA e SPRITZER, 2000

Os Parabenos (Figura 12) são ésteres alquílicos e arílicos do ácido *p*-hidroxibenzoico, encontrados em bloqueadores solares e cosméticos do mercado com fator de proteção solar (FPS), podendo ainda estar em alimentos e medicamentos com a função de preservação destes produtos, aumentando sua “vida útil”, pois os Parabenos possuem ação bactericida. Incidência de tumores mamários podem estar relacionados com estas substâncias, além de disfunções estrogênicas (SILVA e COLLINS, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

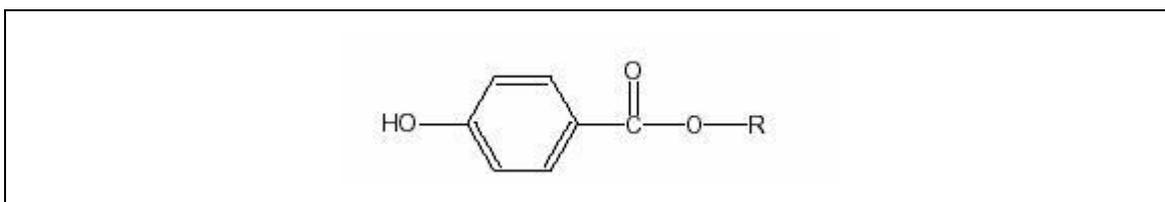


Figura 12-Estrutura química do Parabeno. FONTE: OLIVEIRA *et al.*, 2006

O Nonilfenol (Figura 13) pertence ao grupo dos alquilfenóis etoxilatos sendo utilizados em produção de tintas, cosméticos, pesticidas, surfactantes e detergentes industriais. No meio ambiente, este composto foi encontrado em sedimentos de rios e estações de tratamento de efluentes. Estudos demonstraram que o Nonilfenol, desencadeou problemas de obesidade relacionada a disfunções cardiovasculares. Com relação a fauna, o Nonilfenol quando presente em sistemas aquáticos tem a capacidade de exercer efeitos estrogênicos em peixes. Este composto, pode interferir em vários tipos de células e órgãos, no que diz respeito às habilidades de induzir diversas respostas, sendo imprevisível o conhecimento de todos os seus efeitos nos organismos, podendo o Nonilfenol estar associado ao desenvolvimento e multiplicação de células cancerígenas. O Nonilfenol é uma substância com ação estrogênica, tóxica e carcinogênica em mamíferos e demais grupos de animais. (LAWS, 2000; WATANABE *et al.*, 2004; GHISELLI e JARDIM,2007; HAO *et al.*, 2012; JUBENDRADASS,2012; PALERMO, 2012; SPADOTO,2013).

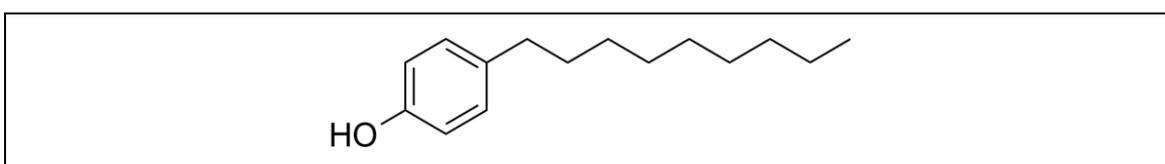


Figura 13-Fórmula química de Nonilfenol FONTE: GHISELLI e JARDIM,2007

Regulamentações internacionais sobre desreguladores endócrinos, estão sendo implantadas e discutidas, quanto aos seus usos e disposição em águas superficiais, que conseqüentemente serão utilizadas para consumo humano em diferentes atividades.

No Brasil, existe diversas leis e decretos com relação ao meio ambiente e proteção aos mananciais, porém com relação a desreguladores endócrinos, algumas ações e regulamentações já estão sendo feitas, mas muito aquém do esperado. Normalmente, a elaboração de regulamentações não acompanha a velocidade de fabricação de novas substâncias químicas, por isso a importância deste tipo de

pesquisa, para se entender os possíveis efeitos de novas substâncias no meio ambiente.

3.2 CLASSIFICAÇÃO DOS MANANCIAIS QUANTO AO USO E PADRÕES DE EMISSÃO DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS PÓS TRATAMENTO DE EFLUENTES PARA OS CORPOS HÍDRICOS

A legislação ambiental brasileira classifica os mananciais conforme seus usos, e em prol à proteção dos mesmos, os efluentes industriais devem ser tratados e emitidos à natureza conforme limites estipulados pela legislação.

Os mananciais são enquadrados em classes quanto aos usos a que se destina, sendo que no Brasil, a classificação das águas é definida pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) através da Resolução 357 (BRASIL, 2005). Na Tabela 1, estão resumidos os principais usos e a classificação das águas de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005.

Tabela 1-Classificação da Água Doce segundo seus usos preponderantes, de acordo com a Resolução do CONAMA nº 357/2005

CLASSIFICAÇÃO	CLASSE	USOS PREPONDERANTES
		Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; à Especial preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.
	01	Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274/2000; à irrigação de hortaliças, plantas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; à aquicultura e à atividade de pesca.
Água doce	02	Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274/2000; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques e jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, à aquicultura e à atividade de pesca.
	03	Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato secundário; à dessedentação de animais.
	04	Águas destinadas à navegação e à harmonia paisagística.

A Resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005), fixa os padrões de qualidade de água em nível nacional. O Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA) através da Resolução 128/2006 (RIO GRANDE DO SUL, 2006) estabelece os critérios a nível estadual, sendo que esta resolução tem como objetivo garantir que a água a ser utilizada para um determinado fim não contenha impurezas que venham a prejudicar a finalidade para a qual se destina.

De acordo com a Norma Brasileira - NBR 9800/1987, efluente industrial é o despejo líquido proveniente de indústria, compreendendo gases de processo industrial, “águas” de refrigeração poluídas, águas pluviais poluídas e esgoto doméstico.

A indústria metalúrgica gera em consequência de seus procedimentos, expressivas quantidades de efluentes líquidos com concentrações de metais pesados, bem superiores aos padrões exigidos pela legislação. Dentre estes contaminantes estão o cromo, cobre, cádmio, chumbo, ferro, níquel dentre outros. Também apresentam elevada quantidade de materiais dissolvidos e suspensos, acarretando altos valores de cor e turbidez (LUNARDI, *et al.*,2009; VAZ *et al.*,2010).

Segundo Benvenuti (2012) para a caracterização de efluentes os parâmetros comumente utilizados são: DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), DQO (Demanda Química de Oxigênio), COT (Carbono Orgânico Total), OD (Oxigênio Dissolvido), Nitrogênio Total, Fósforo Total e Sólidos, dentre os sólidos, dissolvidos, sedimentáveis (fixos e voláteis).

A Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5), está relacionada à oxidação da matéria orgânica por ação de bactérias aeróbias. A DBO é determinada durante cinco dias à temperatura de 20°C. A DBO mede a quantidade de oxigênio necessária para que os micro-organismos degradem a matéria orgânica. A Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Carbono Orgânico Total (COT) estão diretamente ligados à matéria orgânica. A DQO é a quantidade de oxigênio necessária para oxidar quimicamente a matéria orgânica. O Oxigênio Dissolvido (OD) é diminuído em decorrência a depuração de matéria orgânica. O potencial hidrogeniônico (pH), indica o caráter ácido ou básico dos efluentes, sendo um parâmetro fundamental para o controle do processo de tratamento, quanto à

eficácia. Os metais que apresentam toxicidade são o alumínio, cobre, cromo, chumbo, estanho, níquel, mercúrio, vanádio e zinco comuns em efluentes de indústria do ramo metalúrgico (GIORDANO, 2004; AMARAL,2013).

A qualidade do tratamento dos efluentes pode ser representada pela emissão de alguns parâmetros que representam as características físicas e químicas, segundo a CONAMA 357/2005 (BRASIL,2005) (Tabela 2).

Tabela 2- Padrões de emissão de efluente. Adaptado CONAMA 357/2005 (BRASIL,2005)

LANÇAMENTO DE EFLUENTES	
Parâmetros Inorgânicos	Valor máximo
Arsênio total	0,5 mg/L As
Bário total	5,0 mg/L Ba
Boro total	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,2 mg/L Cd
Chumbo total	0,5 mg/L Pb
Cianeto total	1,0 mg/L CN
Cianeto livre	0,2 mg/L CN
Cobre dissolvido	1,0 mg/L Cu
Cromo total hexavalente	0,1 mg/L Cr6+
Cromo trivalente	1,0 mg/L Cr3+
Estanho total	4,0 mg/L Sn
Ferro dissolvido	15,0 mg/L Fe78
Fluoreto total	10,0 mg/L F
Manganês dissolvido	1,0 mg/L Mn
Mercúrio total	0,01 mg/L Hg
Níquel total	2,0 mg/L Ni
Nitrogênio amoniacal total	20,0 mg/L N
Prata total	0,1 mg/L Ag
Selênio total	0,30 mg/L Se
Sulfeto	1,0 mg/L S
Zinco total	5,0 mg/L Zn
Parâmetros orgânicos	Valor máximo
Clorofórmio	1,0 mg/L
Dicloroeteno (somatório de 1,1 + 1,2 cis + 1,2 trans)	1,0 mg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,5 mg/L C6H5OH
Tetracloroeto de Carbono	1,0 mg/L
Tricloroeteno	1,0 mg/L

O descarte de efluentes para o meio ambiente, após o tratamento, deve estar de acordo com os limites de emissão, conforme a Tabela 2 da Resolução CONAMA 357/2005, com o objetivo de evitar ou minimizar a contaminação dos corpos hídricos. A resolução do CONAMA 430/2011 (BRASIL,2011), complementa e

altera as condições e padrões de emissão destes poluentes em águas superficiais, em especial com relação à disposição de efluentes sanitários, o que não é o foco principal desta pesquisa, que é com relação a efluentes industriais. Porém houve a inclusão de três poluentes orgânicos e seus respectivos limites de emissão de relevância a esta pesquisa por se tratarem de compostos orgânicos: Benzeno 1,2 mg/L; Tolueno 1,2 mg/L; Xileno 1,6 mg/L.

Não se pode afirmar que as substâncias citadas tanto na Resolução CONAMA 357/2005 quanto na Resolução complementar do CONAMA 430/2011, sejam desreguladores endócrinos ou que até mesmo uma conjugação destes compostos cause alterações no sistema endócrino. Porém, o atendimento aos padrões de emissão destes compostos para o meio ambiente é importante, já que, não se tem conhecimento científico se estas substâncias causam perturbações endócrinas nos organismos, conservando assim a qualidade dos mananciais e assim das águas para consumo.

Os desreguladores endócrinos, se tornaram uma preocupação em diversos países. A União Europeia (UE), Estados Unidos e Japão, propuseram ações a respeito destas substâncias tóxicas. No Brasil, ainda estamos carentes de regulamentações, medidas e tecnologias de tratamento de efluentes específicas com relação a estes poluentes emergentes e a disposição destes contaminantes em mananciais.

Segundo Bila e Dezotti (2007), a contaminação dos mananciais por desreguladores endócrinos se deve, principalmente, ao lançamento de efluentes domésticos e industriais, não tratados ou ineficientemente tratados.

De acordo com Lopes (2008) além do descarte inadequado de efluentes industriais ou ineficiente tratados com relação a substâncias com potencial de interferência endócrina para o meio ambiente, pode haver contaminação das águas superficiais pelo tratamento de efluente hoje empregado, pois os hormônios, quando conjugados, encontram-se na forma inativa, pois perdem completamente a capacidade de ligação ao receptor estrógeno. O processo de quebra da conjugação acontece no percurso do esgoto entre as residências ou até mesmo dentro das Estações de Tratamento de Efluentes (ETE). Isso ocorre pelo contato com a elevada

população de *Escherichia coli* produtora das enzimas glucuronidase e arilsulfatase. Dessa forma, a rede coletora e Estações de Tratamento de Efluentes (ETE), podem ser consideradas reatores que convertem estrogênios da forma inativa (conjugada) em ativa (livre). Por este motivo, deve-se ter o emprego de tecnologias específicas para o tratamento de efluentes com presença de substâncias com potencial de interferência endócrina.

Corroborando com Lopes (2008), Bila e Dezotti (2007) citam que as tecnologias mais empregadas não suprem as necessidades de tratamento para estes contaminantes, sendo os hormônios excretados na urina e fezes carregados para a rede coletora e lançados para o ambiente. Isto se deve ao déficit de infraestrutura em saneamento ou até mesmo pela ineficiência da tecnologia empregada nas Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) ou na operação destas estações.

Dentre os meios de contaminação de águas superficiais por desreguladores endócrinos, estão à disposição de efluentes sanitários e industriais nos mananciais, com presença de substâncias medicamentosas, que podem agir nos organismos, modificando as atividades endócrinas (Figura 14).

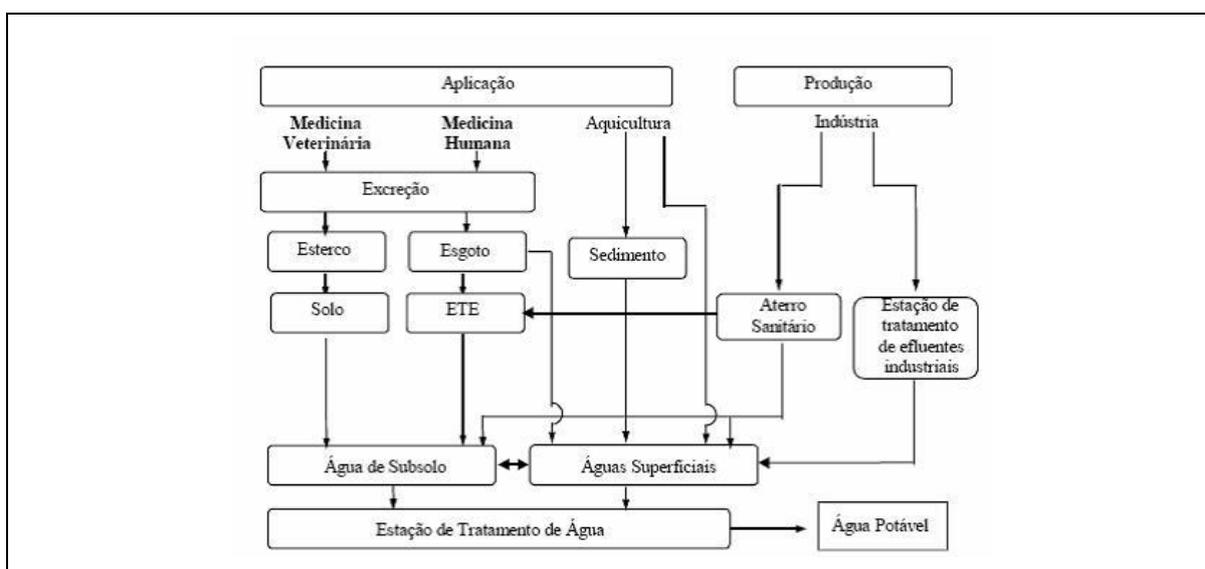


Figura 14- Possíveis rotas de fármacos e estrogênios no meio ambiente FONTE: BILA, 2005

Os tratamentos de efluentes industriais, em específico no ramo metalúrgico, atualmente utilizados no Brasil, tem como meta atender o descarte dentro dos padrões exigidos, conforme substâncias químicas listadas na CONAMA 375/2005 e

CONAMA 430/2011. Estas comentam sobre substâncias que podem ter ação desreguladora endócrina, mas não tratam especificamente dos desreguladores nem de padrões e limites de emissão para estes poluentes emergentes.

3.3 TRATAMENTOS EMPREGADOS PARA EFLUENTES METALÚRGICOS E REMOÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS

As etapas de tratamento de efluentes de indústria metalúrgica são: precipitação de metais pesados, correção de pH, coagulação e floculação, decantação, prensagem do lodo em filtro prensa, acondicionamento do lodo em contêineres próprios e lançamento do efluente tratado no corpo receptor, conforme os critérios estipulados pela legislação ambiental. Diferentes processos são empregados tais como processos de adsorção por materiais adsorventes não convencionais e adsorventes convencionais para a realização de tratamentos de efluentes que contém metais pesados. O processo de coagulação e floculação e posteriormente sedimentação propicia a remoção de cor e turbidez do efluente a ser tratado. As vantagens da utilização da precipitação química são a disponibilidade dos agentes alcalinizantes e o custo deste tipo de tratamento é relativamente baixo. As desvantagens da precipitação química estão relacionadas com a ocorrência de reações paralelas, em função da composição química do efluente, e da necessidade de se estabelecer a dosagem exata do agente alcalinizante (MOREIRA,2010; VAZ *et al*, 2010).

Estes tratamentos são empregados para atendimento da legislação pertinente hoje no Brasil. Com relação a remoção de desreguladores endócrinos, técnicas quanto a eficácia da remoção destes contaminantes estão sendo pesquisadas e aplicadas, dentre estas:

Processos oxidativos avançados (POA), tem sido bastante utilizado, objetivando a remediação ambiental em poluentes orgânicos em efluentes domésticos e industriais. Processos Oxidativos Avançados (POA), envolvem operações com ozônio, peróxido de hidrogênio, sonólise, fotocátalise e radiação

ultravioleta. Sendo que, o 17 β - estradiol foi bastante sensível, aos tratamentos de ozonização e fotocatalise heterogênia. A remoção de estradiol por processo de ozonização, foi bastante eficiente, sendo observada a remoção de 99% do composto (BILA, 2005; SOUZA,2009)

Estudos demonstraram que no que se refere a remoção de Bisfenol A, foi demonstrado que o tratamento com ultravioleta (UV) sozinho não foi eficiente. Porém o UV associado com peróxido de hidrogênio teve uma remoção significativa (CHEN *et al.*, 2006).

3.4 IDENTIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE INTERFERÊNCIA ENDÓCRINA ATRAVÉS DE BIOINDICADORES E BIOMARCADORES

Devido à dificuldade de identificação de substâncias com potencial de desregulação endócrina em efluentes, tem-se desenvolvido diversas formas de avaliação da qualidade destes descartes, e a utilização de bioindicadores e biomarcadores pode ser considerada uma dessas possibilidades.

Os bioindicadores podem ser utilizados tanto de maneira ativa ou passiva. No laboratório utilizamos organismos testes já preestabelecidos, sendo esta a maneira ativa o uso destes organismos e estes indivíduos são expostos a determinadas substâncias. Em realização em trabalhos a campo, a utilização destes organismos é de forma passiva, pois os organismos são coletados e então analisados a sua presença ou ausência (Figura 15).

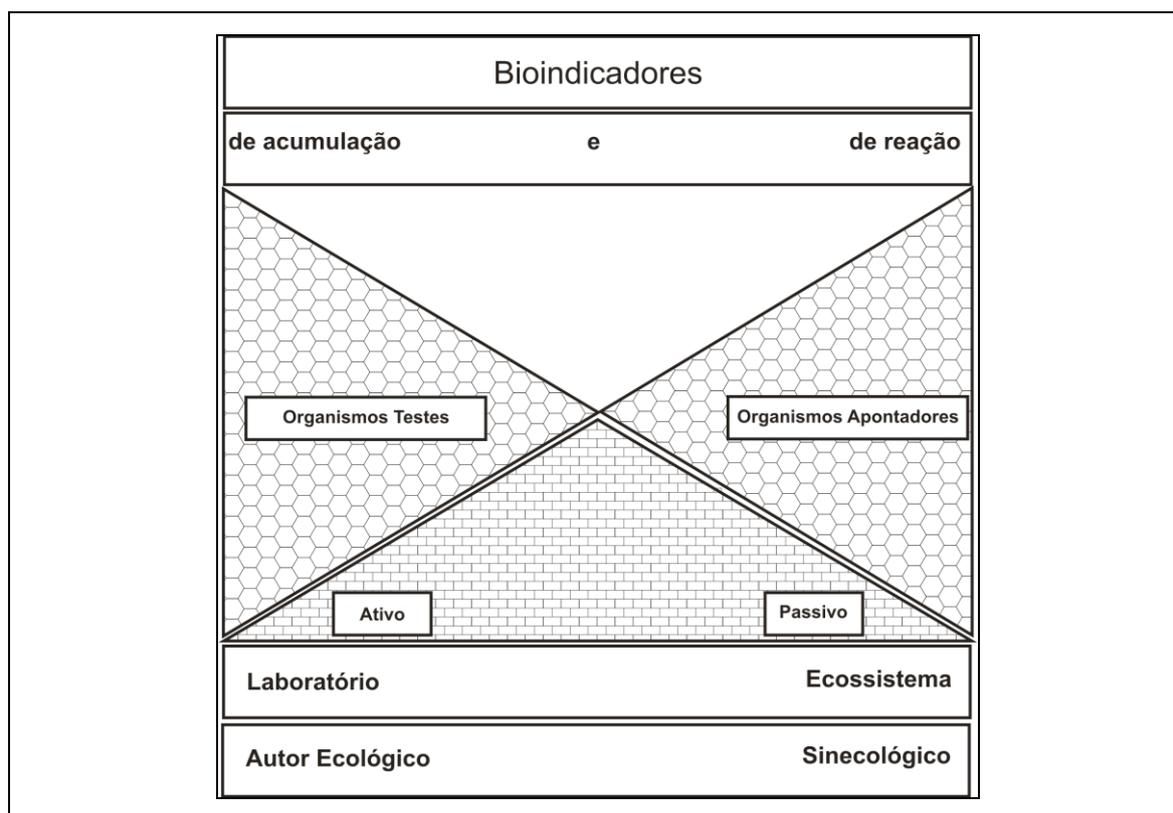


Figura 15-Esquema geral da designação de diferentes formas de uso de bioindicadores. SCHIAVINI, 2011

Indicadores conforme os níveis de organização biológica proveem informações importantes para a análise de risco ecológico (Figura 16). Os efeitos sobre a fauna incluem desde alterações fisiológicas em alguns organismos até a morte de todas as populações, comprometendo toda a estrutura da comunidade (CLEMENTS, 2000).

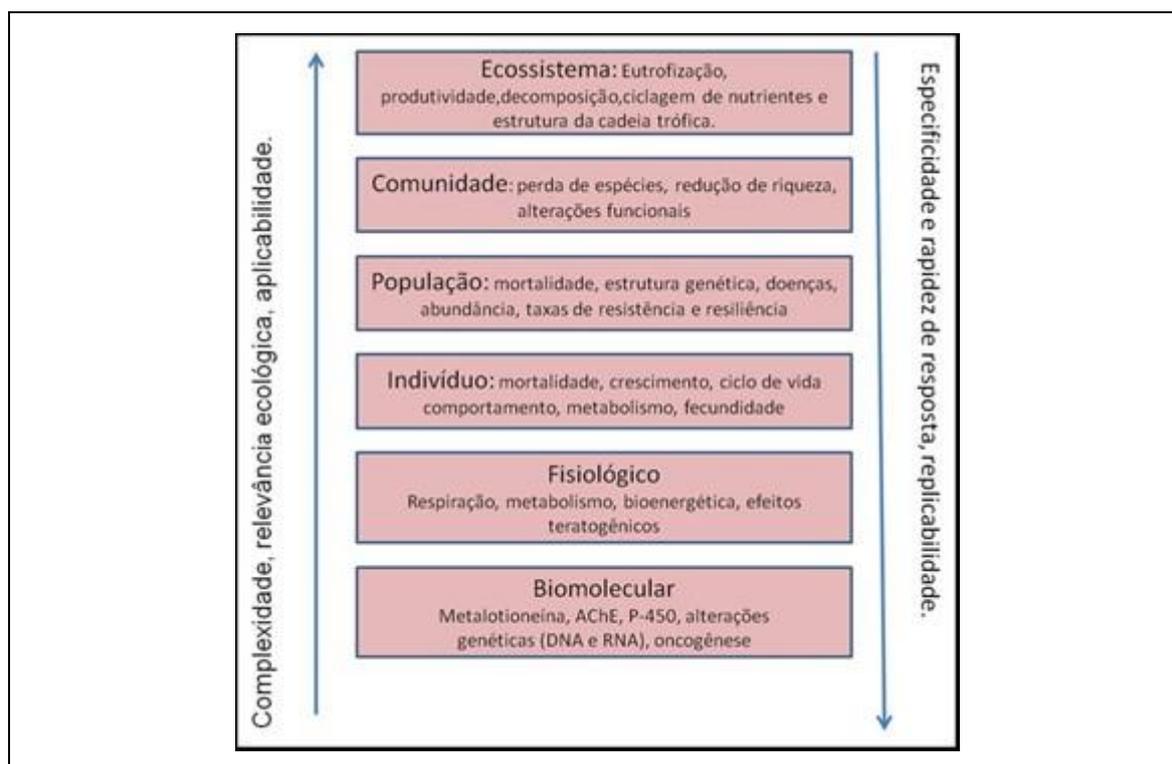


Figura 16-Respostas a contaminantes químicos nos diferentes níveis de organização biológica. Adaptado CLEMENTS, 2000

A utilização organismos tem como objetivo observar quaisquer respostas biológicas decorrentes de reações químicas medidas em nível individual, tanto dentro do organismo como as enzimas, proteínas, hormônios, aminoácidos, material genético, dentre outros. Também como seus produtos urina, fezes, pelos, dentre outras substâncias, indicando um desvio das condições normais não detectadas em organismos intactos. Depois da interação com as substâncias com potencial de interferência endócrina os efeitos aparecem entre os agentes e receptores bioquímicos. Portanto, os retornos bioquímicos são percebíveis antes que os efeitos sejam vistos em níveis de organização superior, como em populações, comunidades e ecossistemas. Por este motivo foram procurados “sinais” prematuros de advertência (BILA e DEZOTTI, 2007).

Depois da exposição de organismos-testes às substâncias potencialmente tóxicas, diversos parâmetros podem ser analisados. Um exemplo de marcador, utilizado neste trabalho, são as enzimas Aminotransferases (enzimas Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT)).

As enzimas AST e ALT atuam tanto na síntese como na degradação de aminoácidos. As aminotransferases estão largamente distribuídas nos tecidos

humanos, sendo que as atividades mais elevadas de AST encontram-se no miocárdio, fígado, músculo esquelético, com pequenas quantidades nos rins, pâncreas, baço, cérebro, pulmões e eritrócitos. A AST e a ALT são enzimas intracelulares presentes em grandes quantidades no citoplasma dos hepatócitos, sendo que danos ou destruição das células hepáticas liberam estas enzimas para a circulação. A ALT é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito, enquanto 80% da AST está presente na mitocôndria. Esta diferença tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas. Em dano hepatocelular leve a forma predominante no soro é citoplasmática, enquanto em lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT (MOTTA,2000; MELO, 2008).

Atualmente, existem diversas normas técnicas de avaliação de produtos químicos envolvendo o uso de animais como modelos (Ex.: normas OECD 423, 408, 410 - Organization for Economic Co-operation and Development - GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, em www.oecd.org, mas se limitam a analisar a toxicidade de fármacos e produtos químicos específicos.

A realização de estudos ecotoxicológicos que utilizam mamíferos como animais de experimentação são incomuns. Dados de toxicidade de efluentes, de águas de poços, águas de consumo, ou outras fontes hídricas são escassos, e é essencial ponderar que estes estudos podem ter aplicações tanto em seres humanos quanto em outras espécies de mamíferos que utilizam os corpos hídricos com descarte de efluentes.

Efeitos tóxicos nos organismos mais complexos não se limitam à efeitos agudos, mas outros impactos crônicos que podem ser analisados, como a hepatotoxicidade, alterações hormonais e também outros fatores que podem causar alterações no crescimento, no desenvolvimento, tanto no sistema reprodutor e imunológico, dentre outros. Para que seja possível observar estas alterações, modelos experimentais com mamíferos devem ser executados, sendo os ratos da linhagem *Wistar* são empregados comumente em pesquisas com organismos testes, principalmente devido ao grande conhecimento sobre esta espécie nos mais diferentes níveis de avaliação (genético, fisiológico, hormonal, comportamental, entre outros) e a facilidade de manutenção em laboratório (ANDRADE *et al.*, 2002; MELO, 2008).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização dos testes, foram coletadas amostras de efluente de indústria metalúrgica, tanto tratado quanto bruto. Para a avaliação de provável interferência no sistema endócrino foram realizadas dosagens com kits comerciais, que serão discutidos posteriormente. Também foram realizadas análises físico-químicas para discussão a respeito da legislação ambiental pertinente.

Foi realizada uma revisão de literatura, a respeito das regulamentações e medidas de controle quanto a desreguladores endócrinos, tanto a nível estadual, nacional e internacional. As leituras foram realizadas no período de outubro de 2012 a maio de 2015, em artigos, dissertações, teses e em bases de dados nacionais e internacionais.

4.1 PROCEDIMENTOS DE AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS COLETADAS

Foram coletadas amostras de efluente industrial de metalúrgica. Esta amostra de efluente foi coletada antes do processo de tratamento (efluente bruto) e depois do processo de tratamento (efluente tratado) e posteriormente congelada. Foram separadas e diluídas alíquotas para o fornecimento aos animais durante o período experimental. Com estas amostras coletadas, também foram realizadas análises dos parâmetros físicos e químicos.

4.1.1 FORNECIMENTO CRÔNICO DE AMOSTRAS DE ÁGUA NA DIETA DE RATOS

Foram utilizados ratos *Wistar* machos, com idade de aproximadamente cinco meses. Os animais foram alojados em caixas padronizadas, sendo a temperatura de 22 ± 2 °C com ciclo claro/escuro de 12 horas. Os ratos consumiram *ad libitum* as

amostras de efluente em substituição à água potável normal da dieta, as amostras foram fornecidas em diferentes diluições: 1% e 5% (MOYSÉS,2014).

Utilizaram-se 06 animais por grupo que receberam o efluente tratado e 05 animais no grupo controle, totalizando 29 animais. Os grupos foram organizados da seguinte forma:

- Grupo 1: Controle (Água Potável) - Grupo Controle
- Grupo 2: Efluente Bruto (Diluição 1%)
- Grupo 3: Efluente Bruto (Diluição 5%)
- Grupo 4: Efluente Tratado (Diluição 1%)
- Grupo 5: Efluente Tratado (Diluição 5%) (MOYSÉS,2014).

4.1.2 PROCEDIMENTO PARA OBTENÇÃO DO PLASMA SANGUÍNEO E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Depois de um período de quatro semanas de tratamento com a amostra de efluente metúrgico, ressaltando o grupo controle, grupos de efluentes tratados e brutos com as respectivas diluições, os animais foram mortos por decapitação para que não houvessem eventuais interferências na avaliação do plasma sanguíneo, do plasma sanguíneo para então a realização das avaliações bioquímicas e hormonais no sangue, sendo este protocolo usualmente utilizado em diversos estudos (JAHN,2011;MOYSÉS,2014).

Durante o procedimento foi coletado o sangue troncular dos ratos em tubos de ensaio individuais. Após, foi realizada a separação do plasma e dos elementos figurados através da centrifugação (Centrífuga Rotina 420R, Hettich, Germany) a 5000 rpm por 10 minutos. O plasma foi congelado para análises bioquímicas e hormonais que foram realizadas no Laboratório de Toxicologia, sala 306 do Bloco 57, UCS.

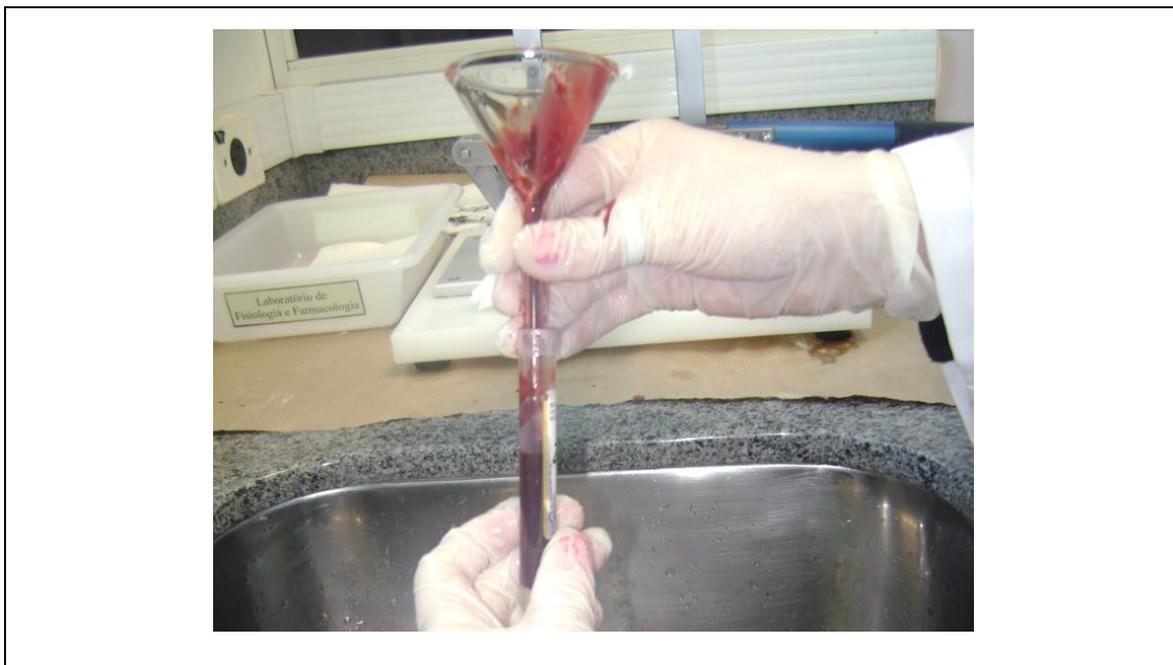


Foto 1-Coleta do sangue troncular



Foto 2-Centrifugação das amostras



Foto 3-Congelamento das amostras

4.1.3 ANÁLISES FÍSICO - QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram realizadas por laboratório terceirizado, credenciado na Rede Metrológica RS, reconhecido pela norma NBR ISO/IEC 17025 (BRASIL, 2005), sendo que as amostras foram acondicionadas em frascos com preservação específica para cada tipo de análise a ser feita ou sem preservação, conforme o caso. Os procedimentos de análises foram realizados conforme a norma citada.

4.1.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

O metabolismo intermediário foi avaliado através da análise das concentrações plasmáticas de colesterol total, triglicerídeos, e glicose. A análise da hepatotoxicidade foi realizada através da dosagem das enzimas aspartato transaminase (AST) e alanina transaminase (ALT), indicadoras de função hepática. Estes parâmetros foram determinados utilizando-se kits enzimáticos comerciais (LABTEST Diagnóstica, Brasil), e a leitura espectrofotométrica foi realizada em um espectrofotômetro (Anthos Zenyth 200RT, Bichrom, UK).

4.1.5 ANÁLISES HORMONAIIS

As concentrações plasmáticas do hormônio esteróide estradiol, foram quantificadas através da técnica de Enzimaimunoensaio (EIA), utilizando-se um kit comercial para a dosagem plasmática específica deste hormônio (17- β estradiol, Enzo Life Science, USA), e um leitor de microplacas (Anthos Zenyth 200RT, Bichrom, UK).



Foto 4-Realização das análises



Foto 5-Disposição das amostras no kit comercial para avaliação

4.1.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com base nos resultados das análises foi realizado o teste de normalidade e calculadas as médias e os erros padrões da média para cada uma das medidas realizadas e para cada um dos grupos estudados. Para a comparação entre os grupos foi aplicada análise de variância (ANOVA) de uma via, complementada com o teste de Student Newman Keuls (SNK). As diferenças foram consideradas

significativas quando a análise estatística apresentar $P < 0,05$. Para o tratamento estatístico foi utilizado o software SigmaStat, versão 3.5.

4.1.7 BIOSSEGURANÇA

Durante a realização do experimento, os pesquisadores envolvidos utilizaram EPIs (Equipamentos de Proteção Individual) tais como: luvas de procedimentos cirúrgicos, máscaras, jalecos e óculos de proteção. O preparo das soluções ocorreu dentro de capela de exaustão e o descarte dos resíduos não tóxicos ocorreu no sistema de esgoto comum. Os demais resíduos foram encaminhados para setor responsável, segundo normas internas da Universidade de Caxias do Sul (UCS).

4.1.8 BIOÉTICA

A metodologia proposta segue o “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” desenvolvido pelo Institute of Laboratory Animal Research e está de acordo com as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e a Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório. Para a realização do experimento foi solicitada junto ao Comitê de Ética da Universidade de Caxias do Sul (CEUA) autorização e a mesma obteve aprovação, sendo o número do protocolo CEUA 006/2013. Na Foto 06, estão os animais utilizados e o local onde ficaram durante a realização do experimento.

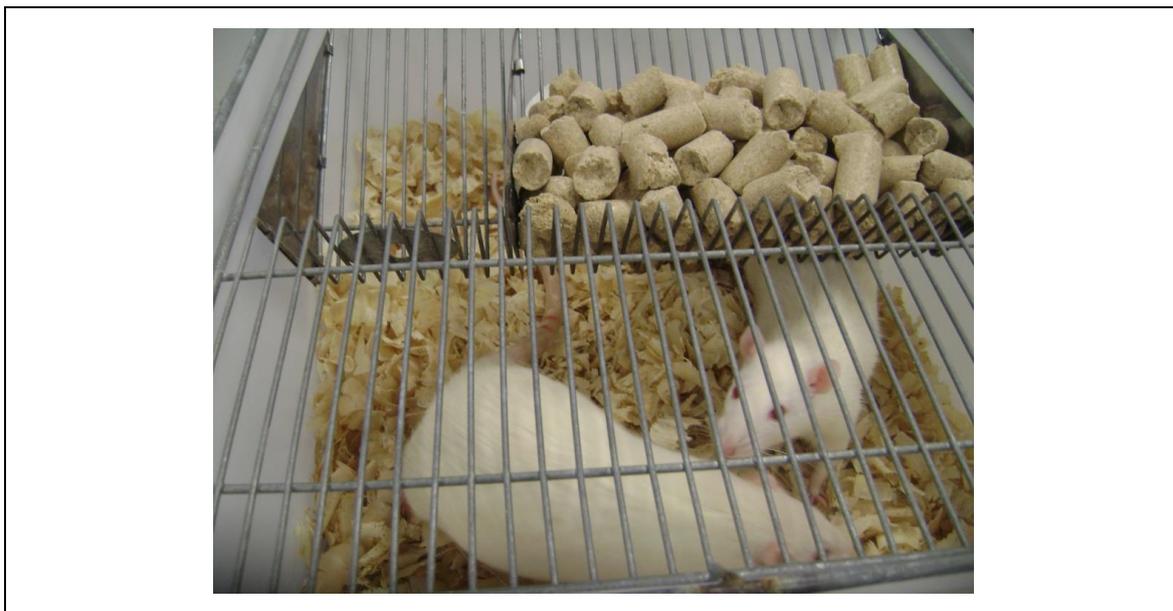


Foto 6-Alojamentos dos animais durante a fase de realização do experimento

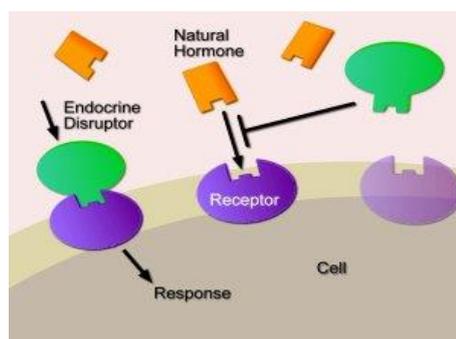
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à exposição de ratos *Wistar* ao efluente industrial e a discussão referente às normativas e regulamentações relacionadas aos desreguladores endócrinos estão expostos em dois artigos científicos submetidos às revistas *Direito ambiental* e *Química Nova* que seguem:

5.1 ARTIGO 1:

high levels of surfactants
in the treated effluent

increased levels of
glucose and estradiol



effluent from
metallurgical industry
with estrogenic
chemicals

Rats that consumed effluent from metallurgical industry showed an increase in estradiol levels and glucose in the blood, suggesting that the chemicals used in the effluent treatment, such as nonylphenol, can act as endocrine disruptors.

**UTILIZAÇÃO DE TESTE *IN VIVO* PARA ANÁLISE DE PRESENÇA DE
SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA EM
EFLUENTE DE INDÚSTRIA METALÚRGICA**

Tássia Fingler Vidor^{a,b}, Eduardo Pompeo de Matos^b, Matheus Parmegiani Jahn^b

^a Centro de Ciências Exatas e Tecnologia - Universidade de Caxias do Sul, 95070-560, Caxias do Sul – RS, Brasil.

^b Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade de Caxias do Sul, 95070-560, Caxias do Sul – RS, Brasil.

-----*marque uma alternativa, não apague o texto em azul*-----

--

() Manuscrito com material suplementar (X) Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: tfvidor@gmail.com

USE OF *IN VIVO* TEST FOR ANALYSIS OF SUBSTANCES WITH ENDOCRINE DISRUPTION POTENTIAL IN METALLURGICAL INDUSTRY WASTEWATER

Population growth and the resulting increases in consumption and pollution of water resources, has generated great concern with the quality of this resource. The effluent metallurgical industry have contaminants such as oil, grease, and heavy metals resulting from the process. These substances or a combination of toxic substances are likely to cause changes in the endocrine system of living organisms, such as cancer, early puberty, male infertility, feminization of wild animals, among others. The study aimed to point out what happened to Wistar rats who consumed metallurgical industry effluent before and after the wastewater treatment process in order to analyze the presence of substances with potential endocrine dysfunction in blood plasma. We assessed the levels of glucose, triglycerides, cholesterol, estradiol and enzymes Aspartate Aminotransferase (AST) and Alanine Transaminase (ALT) levels in plasma. The plasma samples of rats that consumed the treated effluent showed high levels of glucose and estradiol. There were no injuries in the liver of mice examined as there was no change in the results of AST and ALT enzymes. It is suggested that nonylphenol, an endocrine disrupter known present in most

Keywords: effluent; metallurgical industry; endocrine disruptors; *in vivo* test; nonylphenol

INTRODUÇÃO

Atualmente o consumo de água intensificou-se devido às atividades antrópicas, sendo que a água também é utilizada em muitos processos industriais. Em contrapartida, a poluição e contaminação dos mananciais também aumentou devido à geração de efluentes por esta atividade antrópica.

Dentre as substâncias presentes nos mais diferentes tipos de efluentes, incluindo efluente de indústria metalúrgica, que podem causar eventualmente problemas de saúde, estão os desreguladores endócrinos, substâncias naturais ou sintéticas que atuam no sistema endócrino, afetando a saúde e o funcionamento normal do organismo, podendo também interferir na gestação, na formação e no funcionamento dos sistemas reprodutivo, nervoso e imunológico.¹ Estando presentes no organismo, mesmo em baixas concentrações, são capazes de gerar um efeito, e provocando conseqüentemente uma resposta. Estas substâncias podem interagir com os receptores de alguns hormônios agindo como um mimetizador ou como um bloqueador.²

Diversas pesquisas têm sido realizadas com substâncias com potencial de interferência no sistema endócrino de organismos, tanto em humanos quanto em animais silvestres. Alguns dos principais exemplos são: o Nonilfenol, utilizado na produção de tintas, cosméticos, pesticidas, surfactantes e detergentes industriais³; o Bisfenol A, usado na produção de plásticos, resinas epóxis e em embalagens de alimentos⁴; os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) como DDT, DDD e DDE, com efeito pesticida, que foram aplicadas por muitos anos em plantações⁵; o Dietilestilbestrol (DES) utilizado na elaboração de pílulas anticoncepcionais e em medicamentos para a menopausa⁶; as Dioxinas, geradas durante determinados processos industriais, devido à combustão incompleta de compostos orgânicos, como em processamento de resíduos domésticos e também em indústrias termoelétricas abastecidas por carvão⁷; e os Ftalatos, amplamente utilizados como plastificantes.⁸

Os desreguladores endócrinos são encontrados numa grande variedade de materiais, produtos industrializados e insumos. Estas substâncias químicas podem ser conjugadas e sofrer transformações biológicas no meio ambiente e formar outros desreguladores endócrinos, pois no meio ambiente podemos encontrar diversas substâncias químicas, incluindo outros pesticidas, fitoterápicos, metais, fármacos, conservantes de alimentos, cosméticos e plásticos. Existem relatos de que muitas substâncias químicas persistentes são carregadas pelo ar e pela água para regiões remotas, e muitas sofrem biomagnificação através de alimentos chegando até níveis altos das cadeias tróficas, incluindo seres humanos entre

outros animais. Outras substâncias químicas têm pouca persistência no meio ambiente, mas tem sua emissão regular em efluentes, também causando efeitos de interferência endócrina.⁹

A contaminação dos mananciais por desreguladores endócrinos se deve, principalmente, ao lançamento de efluentes domésticos e industriais, não tratados ou ineficientemente tratados. As tecnologias mais empregadas não suprem as necessidades de tratamento para estes contaminantes. Isto se deve ao déficit de infraestrutura em saneamento ou até mesmo pela ineficiência da tecnologia empregada nas Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) ou na operação destas estações.¹⁰

Devido ao grande número de problemas associados aos desreguladores endócrinos e também ao grande aporte desse tipo de substâncias provenientes das indústrias, que são grandes emissoras de efluentes no meio ambiente, este trabalho tem por objetivo analisar através de realização de teste *in vivo*, a presença de substâncias com potencial de interferência endócrina em efluente industrial e os possíveis efeitos destas substâncias nos organismos vivos. A realização destas análises através de organismos vivos e a comparação dos resultados obtidos das análises dos parâmetros físicos e químicos, visa a obtenção de dados para se identificar e apontar os problemas do descarte do efluente no meio ambiente, para os organismos que consomem a água dos corpos hídricos onde o efluente industrial é descartado, mesmo após tratado, conforme solicitação da legislação e órgãos ambientais fiscalizadores.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais e Métodos

As amostras de efluente foram coletadas em uma indústria metalúrgica. Estas amostras de efluente foram obtidas na entrada da Estação de Tratamento de Efluentes (ETE), isto é, antes do processo de tratamento (Efluente Bruto) e na saída da ETE, depois do processo de tratamento (Efluente Tratado). As coletas do efluente industrial para a realização das análises dos parâmetros físicos e químicos foram conduzidas conforme orientações dos procedimentos da NBR ISO/IEC 17025.¹¹ As amostras foram acondicionadas em frascos com preservação específica para cada tipo de análise a ser feita ou sem preservação, conforme o caso. Para a utilização do efluente nos testes *in vivo*, as amostras foram congeladas e posteriormente foram separadas e diluídas alíquotas para o fornecimento aos animais durante o período experimental.

Para a realização do experimento foram utilizados ratos *Wistar* machos, sendo estes organismos testes com idade de aproximadamente cinco meses. Os animais foram alojados em caixas padronizadas, com temperatura de 22 ± 2 °C e ciclo claro/escuro de 12 horas. Os ratos consumiram *ad libitum* as amostras de efluente, em diferentes diluições, em substituição à água potável normal da dieta. As amostras de efluentes foram fornecidas nas diluições de 1% e 5%. Foram utilizados 06 animais por grupo que receberam o efluente e 05 animais no grupo controle, totalizando 29 animais. Os grupos foram configurados da seguinte forma:¹²

- Grupo 1: CTR - Controle (Água Potável) - 5 animais
- Grupo 2: B1% - Efluente Bruto (Diluição 1%) - 6 animais
- Grupo 3: B5% - Efluente Bruto (Diluição 5%) - 6 animais
- Grupo 4: T1% - Efluente Tratado (Diluição 1%) - 6 animais
- Grupo 5: T5% - Efluente Tratado (Diluição 5%) - 6 animais

Após quatro semanas de tratamento com as amostras de efluente da indústria metalúrgica, os animais foram mortos por decapitação para que não houvessem eventuais interferências na avaliação do plasma sanguíneo, e então foram realizadas avaliações bioquímicas e hormonais no sangue coletado, sendo este protocolo usualmente utilizado em diversos estudos.¹²⁻¹³ Durante o procedimento foi coletado o sangue troncular dos ratos em tubos de ensaio individuais. Após, foi realizada a separação do plasma e dos elementos figurados através da centrifugação (Centrífuga Rotina 420R, Hettich, Germany) a 5000 rpm

por 10 minutos. O metabolismo intermediário foi avaliado através da análise das concentrações plasmáticas de glicose, colesterol total e triglicerídeos. A análise da hepatotoxicidade foi realizada através da dosagem das enzimas aspartato transaminase (AST) e alanina transaminase (ALT), indicadoras de função hepática. Estes parâmetros foram determinados utilizando-se kits enzimáticos comerciais (LABTEST Diagnóstica, Brasil), e a leitura espectrofotométrica foi realizada em um espectrofotômetro (Anthos Zenyth 200RT, Biochrom, UK). As concentrações plasmáticas do hormônio esteróide estradiol, foram quantificadas através da técnica de Enzimaimunoensaio (EIA), utilizando-se um kit comercial para a dosagem plasmática específica deste hormônio (17- β estradiol, Enzo Life Science, USA), e um leitor de microplacas (Anthos Zenyth 200RT, Biochrom, UK). Com base nos resultados das análises, foram calculadas as médias e os erros padrões da média para cada uma das medidas realizadas e para cada um dos grupos estudados. Para a comparação entre os grupos foi aplicada análise de variância (ANOVA) de uma via, complementada com o teste de Student Newman Keuls (SNK). As diferenças foram consideradas significativas quando a análise estatística apresentou $P < 0,05$. Para o tratamento estatístico foi utilizado o software SigmaStat, versão 3.5. Todos os procedimentos com animais seguiram as orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Caxias do Sul, cujo número do protocolo é CEUA 006/2013.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão discorridos os resultados das análises físico-químicas, e também os valores de padrão de emissão do efluente em corpo hídrico, conforme a Resolução 128/2006 do Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA - RS).¹⁴

Os resultados dos parâmetros físicos e químicos do Efluente Tratado, em sua maioria, estão de acordo com a legislação ambiental pertinente no estado do Rio Grande do Sul.

Tabela 1. Comparativo dos valores obtidos das análises dos parâmetros físicos e químicos dos efluentes bruto e tratado com relação a CONSEMA 128/2006

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				
Parâmetros	Unid.	Efluente		CONSEMA 128/2006
		Bruto	Tratado	
Alumínio	mg/L	0,381	0,375	≤10
Chumbo	mg/L	menor ou igual a 0,001	menor ou igual a 0,001	≤0,2
Cobre	mg/L	menor ou igual a 0,001	menor ou igual a 0,002	≤0,5
Cromo Total	mg/L	menor ou igual a 0,002	menor ou igual a 0,002	≤0,5
Ferro Total	mg/L	0,014	0,891	≤10
Níquel	mg/L	menor ou igual a 0,001	menor ou igual a 0,002	≤1
Zinco	mg/L	42,036	1,682	≤2
Cianeto	mg/L	0,765	0,765	≤0,2
DBO ₅	mg/L	48,129	38,404	≤180
DQO	mg/L	109,382	106,668	≤400
Fósforo Total	mg/L	20,108	0,968	≤4
Surfactantes	mg/L	0,325	0,750	≤2
pH		6,72	8,96	6,0 a 9,0
Óleos e graxas	mg/L	menor ou igual a 10,0	menor ou igual a 10,1	≤10

Observou-se um aumento na quantidade de surfactantes no Efluente Tratado em relação ao Efluente Bruto. Na indústria metalúrgica, mais especificamente na galvanoplastia, são utilizados surfactantes (detergentes) para o desengraxe das peças. Os surfactantes também são utilizados no tratamento do efluente industrial, para a remoção de óleos e graxas. Os surfactantes são moléculas constituídas de uma parte hidrofóbica outra hidrofílica. A parte apolar da molécula é frequentemente uma cadeia hidrocarbonada enquanto a parte polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica.¹⁵ Muitos detergentes industriais e outros produtos industrializados, como flocculantes e emulcificantes, contém alguns tipos de substâncias, como o Nonilfenol, referenciado como um composto com potencial de desregulação endócrina.¹⁶ Os testes *in vivo* foram realizados com o intuito de pesquisar o efeito da possível presença de substâncias com potencial de interferência endócrina nos efluentes da indústria metalúrgica.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores de AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT(Alanina Aminotransferase), sendo que estes não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. A enzima AST é uma enzima encontrada em maior quantidade nas mitocôndrias e não é liberada tão rápido como a ALT, que é uma enzima puramente citosólica. A AST está presente em elevadas quantidades e em uma ampla quantidade de tecidos, como coração, fígado, músculo esquelético, rins e pâncreas. A ALT é primariamente limitada ao citosol dos hepatócitos, e é utilizada como um indicador bastante sensível de dano hepatocelular e, dentro de certos limites, pode fornecer um valor quantitativo do grau de danificação causado ao fígado.¹⁷ Aparentemente o tratamento dado aos ratos não demonstrou efeito tóxico para o fígado, pois se estas enzimas estivessem aumentadas, isso poderia representar lesões nos hepatócitos.

Tabela 2. Dosagens da concentração plasmática das enzimas AST e ALT no grupo controle e nos grupos que receberam efluente bruto e efluente tratado nas diferentes diluições

	Grupo Controle	Grupo Bruto 1%	Grupo Bruto 5%	Grupo Tratado 1%	Grupo Tratado 5%
AST (U/L)	110.70 ± 5.59 [5]	149.283 ± 16.787 [6]	160,923±8,381 [6]	116.84 ± 12.44 [6]	147.97 ± 11.56 [6]
ALT (U/L)	42.78 ± 2.82 [5]	43,2135 ± 4,7962 [6]	47,8695 ±2,81 [6]	45.69 ± 3.21 [6]	49.32 ± 2.26 [6]

Os valores representam a média ± EPM. O número amostral está representado entre colchetes

A Tabela 3 apresenta os resultados de glicose, colesterol total e triglicerídeos plasmáticos. Não foram observadas diferenças significativas nas dosagens de colesterol total e triglicerídeos entre os grupos. A dosagem de glicose apresentou diferença significativa quando comparados os dois grupos que receberam o Efluente Tratado e o grupo Controle ($P < 0,05$).

Tabela 3. Dosagens da concentração plasmática de glicose, colesterol total e triglicerídeos no grupo controle e nos grupos que receberam efluente bruto e efluente tratado nas diferentes diluições

	Grupo Controle	Grupo Bruto 1%	Grupo Bruto 5%	Grupo Tratado 1%	Grupo Tratado 5%
Glicose (mg/dL)	91.42 ± 4.38 [4]	99.44 ± 10.38 [6]	98 ± 4.16 [6]	117.28 ± 5.36 * [6]	118.00 ± 4.46 * [6]
Colesterol total (mg/dL)	88.14 ± 9.39 [5]	78.01 ± 7.03 [6]	96.25 ± 6.94 [6]	80.70 ± 7.10 [6]	98.95 ± 9.79 [6]
Triglicerídeos (mg/dL)	151.83 ± 32.58 [5]	143.46 ± 21.71 [6]	189.96 ± 17.31 [6]	199.28 ± 16.52 [6]	136.20 ± 18.79 [6]

Os valores representam a média ± EPM. O número amostral está representado entre colchetes.
* diferença significativa em relação ao Grupo Controle ($P < 0,05$, SNK)

Alguns estudos apresentaram que uma variedade de desreguladores endócrinos com efeitos estrogênicos, isto é, que mimetizam os efeitos normais dos estrogênios, podem interferir no metabolismo da glicose. A elevação da glicemia observada nos grupos que receberam o Efluente Tratado pode ser explicado pois os estrogênios estão envolvidos na manutenção da sensibilidade normal à insulina. No caso de um excesso de estrogênio, tais

como a exposição crônica a produtos químicos com atividade estrogênica em concentração inadequada, poderia alterar o metabolismo normal da glicose e, desta forma, aumentaria o risco de desenvolvimento de resistência à insulina e possivelmente diabetes¹⁸. Este fato vem a ser um importante problema de saúde pública, visto que tem ocorrido um grande aumento na frequência de obesidade e de diabetes do tipo II na população mundial nos últimos 40 anos, e este aumento também pode estar ligado à exposição a esses tipos de poluentes³⁻⁹⁻¹⁶⁻¹⁹⁻²⁰⁻²¹

Além da elevação dos níveis de glicemia, que por si só pode estar representando um efeito estrogênico devido à exposição crônica ao efluente, os animais também apresentaram valores elevados de estradiol. Na Figura 1, podemos observar o gráfico com os valores da dosagem plasmática de estradiol nos diferentes grupos. Os grupos que receberam o Efluente Tratado, tanto na diluição de 1% quanto de 5%, apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo Controle, demonstrando um efeito estrogênico nos animais.

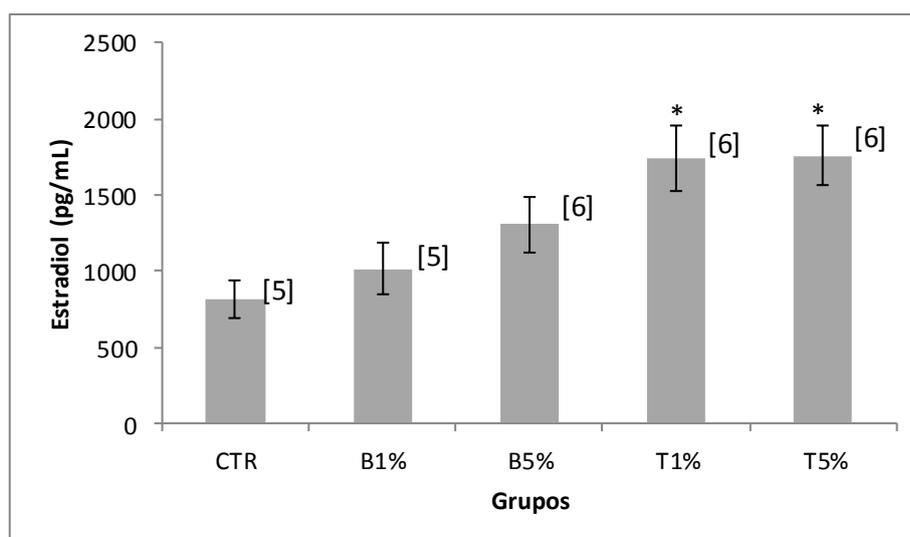


Figura 1. Valores da dosagem plasmática de estradiol nos diferentes grupos. Grupos: CTR – Controle, B1% - Efluente Bruto 1%, B5% - Efluente Bruto 5%, T1% - Efluente Tratado 1%, T5% - Efluente Tratado 5%. Os valores representam a média ± EPM (Erro Padrão da Média). O número amostral está representado entre colchetes (*) estatisticamente diferente do grupo Controle ($P < 0,05$, SNK).

Rachel Carson em 1962, em seu livro clássico, Primavera Silenciosa, tratou da relação de substâncias tóxicas, como o DDT com disfunções em relação a fertilidade masculina e problemas de cânceres. Alguns desreguladores endócrinos, tais como o DDT e seus metabólitos já foram relacionados com diversos fenômenos de feminilização em diferentes estudos, como em tartarugas macho nos Grandes Lagos, entre os EUA e o Canadá, e em

crocodilos, no lago Apopka, na Flórida, onde foi observado uma diminuição da população juvenil, além de registrados elevados níveis de estradiol em machos.²²

Existem muitos trabalhos demonstrando disfunções possivelmente ligadas à exposição aos desreguladores endócrinos em organismos de animais e humanos. Alguns exemplos desses problemas: acima de 40% de homens jovens em diversos países possuem baixa viabilidade de sêmen, reduzindo as possibilidades de ter filhos; incidência de más formações genitais em bebês do sexo masculino; desordens comportamentais associadas ao sistema nervoso e no funcionamento da glândula da tireoide; cânceres no ovário, no endométrio, próstata e testículos tem aumentado na faixa etária de 40-50 anos.⁷⁻⁹

Pesquisas relacionadas a efeitos estrogênicos causados por desreguladores endócrinos demonstraram modificações nas taxas de fecundidade, fertilização e eclosão de espécies da fauna silvestre, desenvolvimento de características sexuais femininas em machos e vice-versa e ainda inibição do desenvolvimento dos órgãos sexuais e reversão sexual. Um exemplo é da exposição de peixes a xenoestrogênicos quanto à presença da vitelogenina no sangue de indivíduos machos, pois a codificação do gene para esta proteína não existe ou é pouco expressada em indivíduos imaturos ou machos.¹⁰ A puberdade precoce, em parte, também pode estar associada à exposição aos desreguladores endócrinos.²³

Outros exemplos destes tipos de efeitos já foram demonstrados com os Ftalatos, causadores de anomalias no sistema reprodutor e no desenvolvimento sexual, danos nos testículos e infertilidade, sendo considerado um carcinogênico humano⁸; com o Bisfenol A, que está relacionado com um aumento de incidência de tumores mamários em mulheres com idade igual ou superior a 40 anos²⁴ e com o Nonilfenol, com diversos efeitos estrogênicos já demonstrados em animais e humanos.^{25 -26 - 27}

Apesar de apresentar valores dentro da Resolução 128/2006 do CONSEMA, houve um aumento do na quantidade de surfactantes entre os Efluentes Bruto e Tratado, demonstrado na Tabela 1. Grande parte dos surfactantes comerciais possuem Nonilfenol na sua composição, levando a crer que a elevação dos valores de estradiol e glicose no plasma sanguíneo somente dos animais que consumiram o Efluente Tratado, pode estar relacionada a utilização deste produto no tratamento deste efluente industrial.

Não se pode afirmar que apenas o Nonilfenol é o causador de interferência nos níveis de estradiol e também de glicose no plasma sanguíneo dos ratos analisados, mas é possível que outras substâncias possam também estar presentes, ou ainda, o efeito do Nonilfenol possa estar sendo potencializado por outras substâncias.

Diversas pesquisas, assim como essa, têm demonstrado a presença deste tipo de composto químico em diferentes amostras de água, incluindo na água de abastecimento. A principal porta de entrada do Nonilfenol no meio ambiente é através de Estações de Tratamento de Efluente (ETE) que realiza o tratamento por método convencional e que muitas vezes, não obtêm êxito na remoção deste contaminante³⁻¹⁶

O Nonilfenol é uma substância com ação estrogênica, tóxica e carcinogênica em mamíferos e demais grupos de animais.¹⁶ Muitos são os exemplos de estudos que demonstraram esses efeitos, desde alterações no metabolismo mitocondrial, como a síntese de ATP, até efeitos estrogênicos com diferentes consequências para os organismos expostos³⁻¹⁶⁻²⁴⁻²⁵⁻²⁶⁻²⁷

O Nonilfenol e outras substâncias com atividades estrogênicas ainda não estão inseridas na legislação brasileira para águas superficiais- Resolução nº357/2005 do CONAMA²⁸, sendo que o mesmo já entrou na lista de substâncias prioritárias na União Europeia. Seria de grande importância que essas substâncias, que apresentam conhecidos efeitos como desreguladores endócrinos, entrassem em discussão para que fosse criado um sistema de monitoramento sobre a presença das mesmas nos efluentes domésticos e industriais.

É extremamente importante que experimentos apresentem esta problemática para que novas tecnologias sejam implementadas e desenvolvidas para substituir as substâncias com esses efeitos conhecidos, e também que sejam capazes de remover esses poluentes.

Processos oxidativos avançados, tem sido bastante utilizado, objetivando a remediação ambiental em poluentes orgânicos em efluentes domésticos e industriais. Processos Oxidativos Avançados (POA), envolvem operações com ozônio, peróxido de hidrogênio, sonólise, fotocátalise e radiação ultravioleta. Um estudo mostrou que o 17 β -estradiol, um importante estrogênio, foi bastante sensível aos tratamentos de ozonização e fotocátalise heterogênia.²⁹ Outro estudo apresentou a remoção eficiente de cerca de 99% de estradiol por processo de ozonização.¹⁰ Uma pesquisa demonstrou que o tratamento com ultravioleta (UV) sozinho não foi eficiente para a remoção de Bisfenol A de amostras de efluente, porém o UV associado com peróxido de hidrogênio teve uma remoção significativa.⁴

Dentre os vários itens avaliados, o nível de estradiol e de glicose dos organismos-testes apresentaram alterações, provavelmente ligadas à presença de algum composto químico com potencial desregulador do sistema endócrino, possivelmente o Nonilfenol ou outra substância semelhante. Também é importante salientar que o método de avaliação da

concentração de estradiol é baseado em uma reação de ligação hormônio-receptor, e pode estar ocorrendo uma interferência ou relação cruzada com o kit de dosagem de estradiol, devido à grande semelhança molecular entre estas moléculas com efeito estrogênico, principalmente em relação ao anel fenólico (Figura 2) que é a porção reconhecida pelo receptor de estrogênio no momento da ligação hormônio-receptor. Mas, independente se é realmente o próprio estradiol ou outra substância semelhante que está em concentrações elevadas, esses níveis aumentados no corpo dos animais poderão gerar os efeitos estrogênicos prejudiciais.

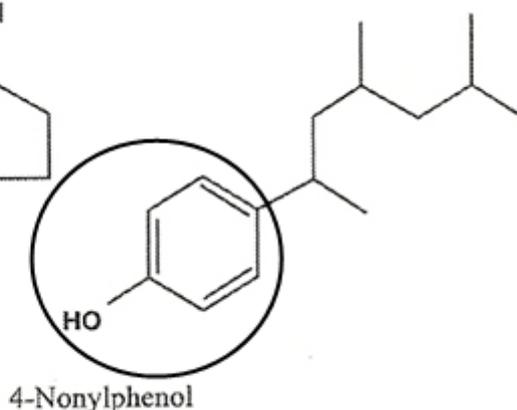
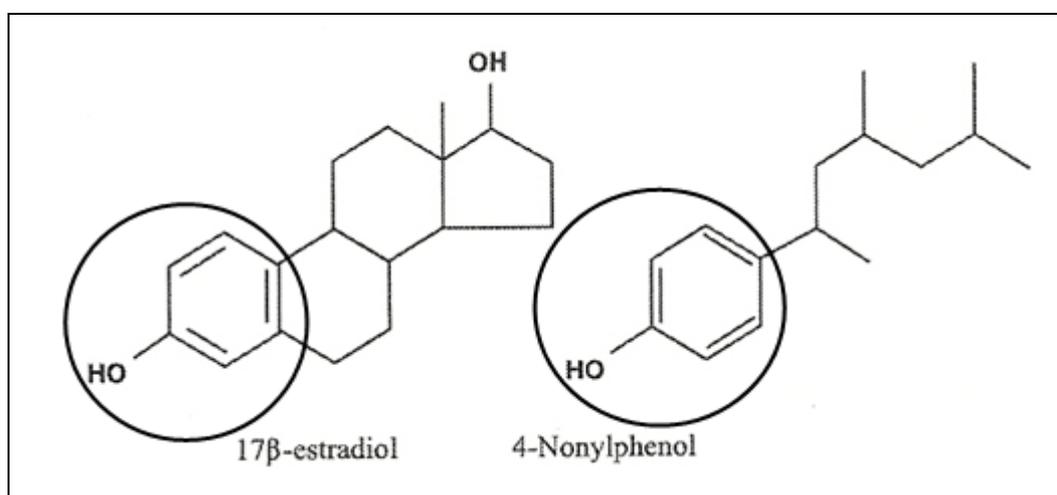


Figura 2. Semelhanças estruturais entre o Nonilfenol e o Estradiol (em destaque, o anel fenólico).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A preocupação com o recurso natural, a água, tem aumentado devido ao crescimento populacional e os consequentes aumentos no consumo e na poluição dos corpos hídricos, devido aos despejos de efluentes, tanto domésticos quanto industriais.

Assim, cada vez mais estão sendo exigidos parâmetros de avaliação da qualidade de água e os limites de cada um dos parâmetros a serem dispostos no ambiente. Além dos parâmetros de qualidade de água já exigidos pela legislação ambiental em nosso país, uma nova classe de contaminantes, os desreguladores endócrinos, deve ser levada em consideração para avaliação da qualidade da água.

O estudo realizado é de grande relevância no que diz respeito a utilização de substâncias químicas que possam acarretar em problemas em organismos expostos. Estudos ainda devem ser realizados nesta área, com o intuito de demonstrar os problemas relacionados a substâncias com potencial de interferência endócrina e os eventuais distúrbios que a exposição crônica podem ocasionar.

REFERÊNCIAS

- 1.Llopis - Gonzales, F. F.*et al.*; *Salud reproductiva y medio ambiente*, **2014**, 1,14.
- 2.Ghiselli, G.; Jardim, W.F.;*Química Nova*, **2007**,30, 695.
- 3.Hao,J.*et al.*;*Cellular Physiology and Biochemistry*, **2012**, 30, 382.
- 4.Chen, P. J. *et al.*; *Chemosphere* **2006**, 65, 1094.
- 5.Felix, F. F. *et al.*; *Revista da Fapese de Pesquisa e Extensão* **2007**, 3, 39.
- 6.Américo, J.H.P. *et al.*; *Pesticidas: ecotoxicologia e meio ambiente*, **2012**, 22, 17.
- 7.Bianco, B. *et al.*; *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde*, **2009**, 35,103.
- 8.Zini, J.; *et al.*; *Química Nova*, **2009**, 32, 833.
- 9.World Health Organization (WHO). *Endocrine Disrupting Chemicals. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals* **2012**.
- 10.Bila, D. M.; Dezotti, M.; *Química Nova* **2007**, 30, 666.
- 11.Brasil. *NBR ISO/IEC 17025*, **2005**
- 12.Moysés, F. S. *et al.*; *Physiology & behavior*, **2014**, 129, 160.
- 13.Jahn, M.P. *et al.*; *Steroids*, **2011**, 76, 564.
- 14.Rio Grande do Sul. *Resolução 128 do Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA)* **2006**
- 15.Costa, M.J.C.; *et al.* *Engenharia sanitária e ambiental* **2007**,12, 433.
- 16.Spadoto. M.; *Dissertação de Mestrado*. Universidade de São Paulo, Brasil, 2013.
- 17.Melo, D.S. *et al.*; *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2008**, 28,32.
- 18.Zhang, Y.; *et al.*;*Diabetes Care* **2002**, 25, 500.
- 19.Budroe, J.D. *et al.*; *TSD CancerPotency*, **2009**.
- 20.Song, L. *et al.*; *Journal of Endocrinology*, **2012**, 2, 311.
- 21.Jubendradass, R. *et al.*; *Human & experimental toxicology*, 2012, 31,876.

- 22.Fox, G.A.; *Environmental Health Perspectives* **2001**, 109, 853.
- 23.Guimarães, R.M. Asmus, C.I.R.F. ;*Cadernos de Saúde Coletiva*, **2010**, 2, 203.
- 24.Popkie, A. *et al.*; *Current Pathobiology Reports* **2014**, 2, 27.
- 25.Palermo, F.A. *et al.*; *Comparative Biochemistry e Physiology Part C* **2012**,156, 135.
- 26.Watanabe, H. *et al.*; *Journal of molecular endocrinology*, **2004**, 33, 252.
- 27.Laws, S. C. *et al.*; *Toxicological Sciences*, **2000**, 54, 167.
- 28.Brasil. *Resolução 357 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA)* **2005**.
- 29.Souza, F.G.C.; *Tese de Doutorado*. Universidade de São Paulo, Brasil, 2009.

5.2 ARTIGO 2:

REGULAMENTAÇÃO COM RELAÇÃO À DISPOSIÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Tássia Fingler Vidor

Bióloga e mestrandia em Engenharia e Ciências Ambientais pela Universidade de Caxias do Sul (UCS), e docente no Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial (SENAC)

Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS

tfvidor@gmail.com

Matheus Parmegiani Jahn

Doutor em fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), e docente no curso de Ciências Biológicas na Universidade de Caxias do Sul (UCS)

Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS

mpjahn@ucs.br

RESUMO

Os padrões de emissão de efluentes industriais estipulados no nosso país refere-se a contaminantes físicos, químicos e biológicos que podem ser emitidos para o meio ambiente após a realização de tratamento. A legislação pertinente em nosso país trata desses limites de emissões, mas não deixa claro no que se refere às substâncias consideradas como desreguladores endócrinos. Esta pesquisa tem como objetivo a obtenção de dados através de revisão da literatura, sobre normas de emissões toleráveis, que não prejudiquem as atividades vitais dos seres vivos. A legislação brasileira cita a proibição da utilização de certas substâncias com potencial de desregulação endócrina, mas sem uma abordagem satisfatória. A União Europeia (UE), os Estados Unidos e o Japão têm metas e regulamentações sobre o não-uso de substâncias com potencial de interferência endócrina.

Palavras-chave: legislação ambiental; desreguladores endócrinos; padrões de emissão; parâmetros físicos e químicos; efluente de indústria metalúrgica.

RULES REGARDING THE SUBSTANCE OF ARRANGEMENT WITH POTENTIAL ENDOCRINE DEREGULATION IN SURFACE WATER: A LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

The emission standards of industrial effluents stipulated in our country refers to physical, chemical and biological contaminants that may be emitted to the environment after the completion of treatment. The relevant legislation in our country comes to these emission limits, but does not make clear in relation to substances considered as endocrine disruptors. This research aims to obtain data through literature review on tolerable emission standards, which do not harm the vital activities of living organisms. Brazilian law cites the ban on the use of certain substances with endocrine disrupting potential, but without a satisfactory approach. The European Union (EU), the United States and Japan have goals and regulations on the non-use of substances with endocrine interference potential.

Keywords: *environmental legislation; endocrine disruptors; emission standards; physical and chemical parameters; metallurgical industry effluent*

INTRODUÇÃO

A água é um dos recursos indispensáveis para a sobrevivência humana e todas as espécies vivas. Também é um importante insumo para a grande maioria das atividades econômicas, dentre elas a agricultura e a indústria. A água exerce uma influência decisiva na qualidade de vida das populações, especialmente no que diz respeito a área do abastecimento, o qual tem forte impacto sobre a saúde pública.¹

Inúmeras são as substâncias que podem causar danos para as populações que consomem a água dos corpos hídricos para onde os contaminantes são lançados. Dentre estas substâncias que podem ocasionar estes problemas estão os compostos com potencial de interferência endócrina nos organismos presentes nestes mananciais, nos organismos que consomem a água destes locais ou ainda aqueles que acabam de forma indireta tendo contato através da alimentação ou de diferentes usos.

Serão apresentados dados referentes as principais causas de distúrbios na saúde, referentes a desreguladores endócrinos, tais como diferentes tipos de câncer e infertilidade, quais são os controles para a liberação de desreguladores endócrinos no meio ambiente, se há uma legislação estipulada para o uso destas substâncias e quais são os padrões de emissão de substâncias tóxicas nas águas brasileiras para sua utilização nas mais diferentes atividades.

Objetivando analisar, com relação às medidas regulamentadoras e legais que estão sendo aplicadas, vigentes em fase de discussão em nível nacional e internacional, este presente trabalho irá discutir sobre o que são estas substâncias com potencial de interferência endócrina quanto a: se existem limites seguros para a utilização destas substâncias, se realmente a não utilização destes produtos químicos é a solução para este problema. Este trabalho será feito através de revisão de literatura.

SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA: AÇÃO NO ORGANISMO E FONTES DE DISPERSÃO

Os desreguladores endócrinos são agentes ou substâncias químicas que promovem alterações no sistema endócrino. Podem ser considerados também como agentes exógenos que interferem na produção, liberação, transporte, metabolismo, ligação, ação e eliminação de

¹ FERNANDES NETO, Maria de Lourdes; PACHECO FERREIRA, Aldo. Perspectivas da sustentabilidade ambiental diante da contaminação química da água: desafios normativos. *InterfacEHS-Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade*, v. 2, n. 4, p.1,2007.

hormônios naturais do corpo de seres humanos e dos demais animais, alterando a homeostase de hormônios endógenos.²⁻³

Os desreguladores endócrinos estando presentes no organismo, mesmo em baixas concentrações, são capazes de gerar um efeito, e provocando conseqüentemente, uma resposta. Na Figura 1, nas etapas b e c, podem ser observadas as alterações no sistema endócrino que ocorrem quando o desregulador endócrino se liga com os receptores hormonais, alterando a sua resposta natural. A substância química pode interagir ao receptor hormonal produzindo uma resposta, como um mimetizador ou como um bloqueador.⁴

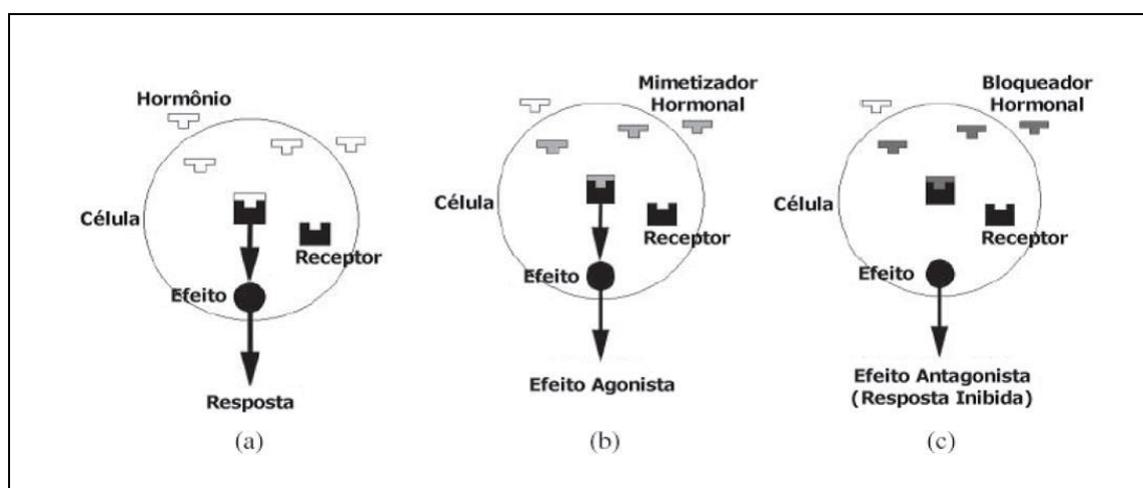


Figura 1-Disfunções endócrinas: a) resposta natural, b) efeito agonista, c) efeito antagonista.⁴

Grande quantidade de substâncias químicas têm sido identificados como desreguladores endócrinos, em diferentes proporções e efeitos causados no meio ambiente e são encontrados numa grande variedade de materiais, produtos e insumos. Durante a fabricação de produtos e insumos industriais, podem ocorrer formação de desreguladores endócrinos, sendo que podem ser conjugados e sofrer transformações biológicas no meio ambiente e formar outros desreguladores endócrinos, pois no meio ambiente podemos encontrar diversas outras substâncias químicas. Estes compostos persistentes são carregados pelo ar e pela água para regiões remotas, e muitas podem sofrer também biomagnificação na cadeia alimentar. Outras

² LLOPIS-GONZALEZ, Agustin et al. Efectos de la alteración endocrina durante la gestación: una revisión sistemática. *Revista de Salud Ambiental*, v. 14, n. 1, p. 29, 2014.

³ WAISSMANN, William. Health surveillance and endocrine disruptors. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 18, n. 2, p. 511, 2002.

⁴ GHISELLI, Gislaine; JARDIM, Wilson F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Química nova*, v. 30, n. 3, p. 695, 2007.

substâncias químicas têm pouca persistência no meio ambiente, mas tem sua emissão regular através de descarte de efluentes, causando efeitos de desregulação endócrina.⁵

Algumas das principais formas de ocorrência e de exposição a desreguladores endócrinos no meio ambiente estão expostas na Figura 2.

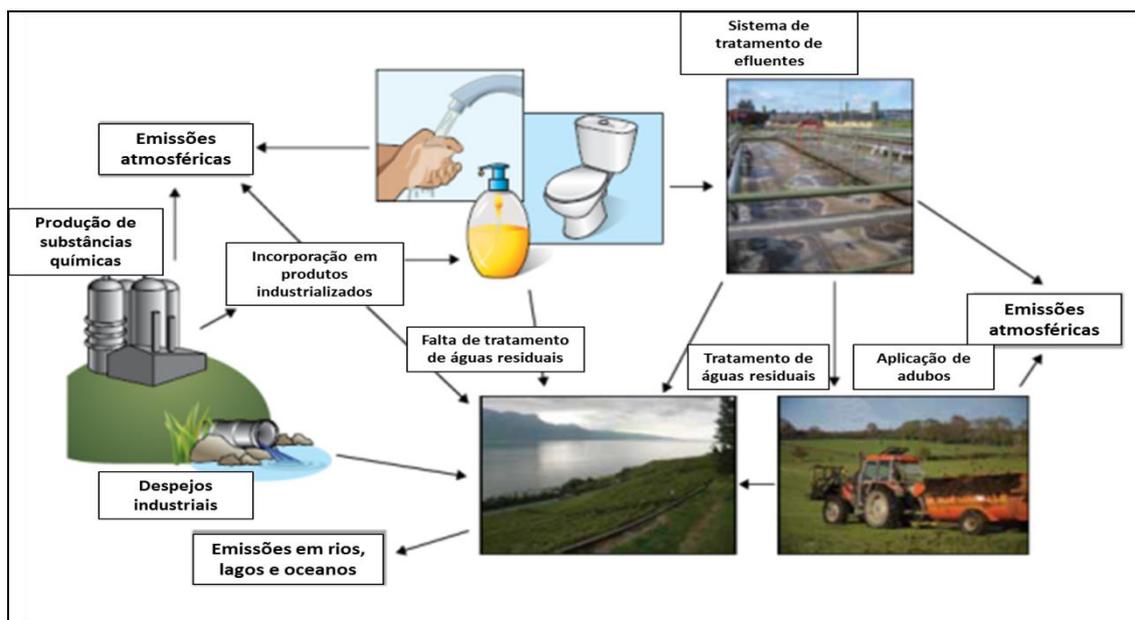


Figura 2- Pontos de difusão para o meio ambiente de substâncias com potencial de interferência endócrina.⁵

Os primeiros efeitos gerais relacionados aos desreguladores endócrinos se referem à diminuição da contagem espermática humana, ao aumento da incidência de câncer de testículo, mama e tireoide⁶ e a puberdade precoce.⁷

Muitos são os exemplos de desreguladores conhecidos e com seus efeitos já comprovados cientificamente:

Os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), tiveram seu uso suspenso por possuírem alta toxicidade, serem lipossolúveis e persistentes no meio ambiente. O uso destes poluentes, pode

⁵ WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) *et al.* State of the Science of Endocrine-Disrupting Chemicals. Geneva: International Programme on Chemical Safety, 2012.

⁶ LLOPIS-GONZALEZ, Agustin *et al.* Efectos de la alteración endocrina durante la gestación: una revisión sistemática. *Revista de Salud Ambiental*, v. 14, n. 1, p. 29, 2014.

⁷ GUIMARÃES, Raphael Mendonça; ASMUS, Carmen Ildes Rodrigues Fróes. Desreguladores endócrinos e efeitos reprodutivos em adolescentes. *Cadernos de Saúde Coletiva*, v. 18, n. 2, p.203, 2010.

contaminar o solo, de forma direta ou indireta, pelas aplicações realizadas nas plantações, e dependendo da concentração acumulada, interferir no solo. Alguns exemplos destas substâncias, os POPs são: aldrin, clordano, dieldrin, diclorodifeniltricloroetano (DDT), endrin, heptacloro, mirex, toxafeno, bifenilas policloradas (PCBs), hexaclorobenzeno. Estudos relatam que os POPs, estão associados com problemas reprodutivos, tipologia de determinados cânceres e disfunções no sistema imunológico.⁸⁻⁹

O Bisfenol A, é utilizado na produção de plásticos e resinas epóxis, sendo também usado na produção de poliéster e retardantes de chamas. Também é utilizado na fabricação de embalagens que acondicionam alimentos e conseqüentemente os alimentos tem contato com este desregulador endócrino, sendo que este composto está relacionado com diversos efeitos, como um aumento de incidência de tumores mamários em mulheres com idade igual ou superior a 40 anos.¹⁰⁻¹¹ e muitos outros relacionados à estrogenicidade deste composto.¹⁰⁻¹¹⁻¹²⁻¹³

O Nonilfenol, outro conhecido desregulador endócrino, pertence ao grupo dos alquilfenóis etoxilatos sendo utilizado na produção de tintas, cosméticos, pesticidas, surfactantes e detergentes industriais. No meio ambiente, este composto foi encontrado em sedimentos de rios e estações de tratamento de efluentes. Estudos demonstraram que o Nonilfenol, desencadeou problemas de obesidade relacionada a disfunções cardiovasculares, quando presente em sistemas aquáticos tem a capacidade de exercer efeitos estrogênicos nos organismos expostos.¹⁴⁻¹⁵ além de diversos outros efeitos estrogênicos, o nonilfenol pode

⁸ WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) *et al.* State of the Science of Endocrine-Disrupting Chemicals. **Geneva: International Programme on Chemical Safety**, 2012.

⁹ FELIX, F. F. *et al* Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) como Indicadores da Qualidade dos Solos. **Revista da Fapese de pesquisa e extensão**, v.3, n.2, p. 39, 2007.

¹⁰ CHEN, Pei-Jen *et al.* Biological assessment of bisphenol A degradation in water following direct photolysis and UV advanced oxidation. **Chemosphere**, v. 65, n. 7, p. 1094, 2006.

¹¹ POPKIE, Anthony; KAKARALA, Madhuri; GRAVEEL, Carrie. Genetic and Environmental Effects on Stem Cells and Breast Cancer. **Current Pathobiology Reports**, v. 2, n. 1, p. 27, 2014.

¹² LAWS, Susan C. *et al.* Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. **Toxicological Sciences**, v. 54, n. 1, p. 154, 2000.

¹³ GOLOUBKOVA, Tatiana; SPRITZER, Poli Mara. Xenoestrogênios: o exemplo do bisfenol A. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 4, p. 323, 2000.

¹⁴ HAO, C.-j *et al.* The endocrine disruptor 4-nonylphenol promotes adipocyte differentiation and induces obesity in mice. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 30, n. 2, p. 382, 2012.

interferir em vários tipos de células e órgãos, quanto habilidades de induzir diversas respostas, sendo imprevisível o conhecimento de todos os seus efeitos nos organismos¹⁴⁻¹⁵⁻¹⁶⁻¹⁷⁻¹⁸

As Dioxinas e os Furanos são substâncias causadoras ou que tem relação com determinados tipos de cânceres e por isso, consideradas substâncias que venham a intervir no sistema endócrino. O 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD), é considerado o composto mais tóxico desta classe, estando relacionado com incidência de diabetes e doenças cardiovasculares. Crianças expostas, no período de gestação, às dioxinas e furanos apresentaram sequelas no desenvolvimento e no comportamento neurológico.¹⁹

O Dietilestilbestrol (DES) é utilizado na elaboração de pílulas anticoncepcionais e em medicamentos para a menopausa, são os compostos que despertam maior preocupação, tanto pela potência como pela quantidade contínua introduzida no ambiente e conseqüentemente por agirem no sistema endócrino. Esses estrogênios vêm recebendo maior atenção por serem compostos extremamente ativos biologicamente e estarem relacionados à etiologia de vários tipos de cânceres.²⁰⁻²¹

¹⁵ PALERMO, Francesco Alessandro *et al.* Cortisol response to waterborne 4-nonylphenol exposure leads to increased brain POMC and HSP70 and reduced total antioxidant capacity in juvenile sole (*Solea solea*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 156, n. 3, p. 135, 2012.

¹⁶ JUBENDRADASS, R.; D'CRUZ, S. C.; MATHUR, P. P. Long-term exposure to nonylphenol affects insulin signaling in the liver of adult male rats. **Human & experimental toxicology**, v. 31, n. 9, p. 868, 2012.

¹⁷ SPADOTO, Mariângela. Análise dos efeitos tóxicos do nonilfenol e do bisfenol A em organismos de água doce. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2013.

¹⁸ WATANABE, H. *et al.* Tissue-specific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. **Journal of molecular endocrinology**, v. 33, n. 1, p. 243, 2004.

¹⁹ CANIZARES, E.M.P.N.; SANTANA, E.R.R.; SANTIAGO JR., W. **Implementação da metodologia da UNEP para identificação e quantificação das emissões de dioxinas e furanos no estado do Rio Grande do Sul-Brasil**. Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM, 2005.

²⁰ AMÉRICO, Juliana Heloisa Piné *et al.* Desreguladores endócrinos no ambiente e seus efeitos na biota e saúde humana. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 22, n. 1, p.17, 2012.

²¹ REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. **Journal Of The Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, p. 283, 2007.

CLASSIFICAÇÃO DOS MANANCIAIS DE ÁGUA DOCE QUANTO SEU USO: PADRÕES DE EMISSÃO DE EFLUENTES EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Os mananciais brasileiros são enquadrados em classes quanto aos usos a que se destina. No Brasil, a classificação das águas é definida pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) através da Resolução 357.²²

Na Tabela 1 estão resumidos os principais usos e a classificação das águas de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005.

Tabela 1- Classificação da água doce segundo seus usos preponderantes, de acordo com a Resolução do CONAMA 357 (BRASIL,2005)

CLASSIFICAÇÃO	CLASSE	USOS PREPONDERANTES
Água doce	Especial	Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção; à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.
	01	Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274/2000; à irrigação de hortaliças, plantas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; à aquicultura e à atividade de pesca.
	02	Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274/2000; à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques e jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, à aquicultura e à atividade de pesca.
	03	Águas destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; à pesca amadora; à recreação de contato

²² BRASIL. Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005.

CLASSIFICAÇÃO	CLASSE	USOS PREPONDERANTES
		secundário; à dessedentação de animais.
04		Águas destinadas à navegação e à harmonia paisagística.

A qualidade da água para consumo humano pode ser representada por alguns parâmetros que representam as características físicas, químicas e biológicas. Os padrões de qualidade da água para consumo humano são descritos na Portaria do Ministério de Saúde 2914/2011. No Estado do Rio Grande do Sul, a Resolução 129/2006, do Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA), dispõe sobre a definição de critérios e padrões de emissão para toxicidade de efluentes líquidos lançados em águas superficiais do Estado.

Com o objetivo de conservar os mananciais brasileiros, tornando uma maior quantidade de corpos hídricos próprios para uso e consumo humano, a legislação ambiental brasileira, baseada em estudos técnicos, estipulou parâmetros físicos e químicos de qualidade para que os efluentes industriais possam ser lançados nestes mananciais, que são os corpos hídricos receptores dos efluentes, pós tratamento.

De acordo com a Norma Brasileira - NBR 9800/1987²³, efluente líquido industrial é o despejo líquido proveniente do estabelecimento industrial, compreendendo emanções de processo industrial, “águas” de refrigeração poluídas, águas pluviais poluídas e esgoto doméstico.

Para a caracterização de efluentes industriais, e que a qualidade dos efluentes estejam de acordo para a emissão nos mananciais, conforme classificação na Tabela 2, os parâmetros comumente utilizados são: DBO₅ (Demanda Bioquímica de Oxigênio), DQO (Demanda Química de Oxigênio), COT (Carbono Orgânico Total), OD (Oxigênio Dissolvido), Nitrogênio Total, Fósforo Total e Sólidos, dentre os sólidos, dissolvidos, sedimentáveis (fixos e voláteis)²⁴⁻²⁵

²³ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR 9800**. Critérios para lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário – Procedimento. Disponível em: < www.abntcatalogo.com.br/norma> Acesso em: 20 de março de 2013.

²⁴ BENVENUTI, Tatiane. Avaliação da eletrodialise no tratamento de efluentes de processos de eletrodeposição de níquel. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

²⁵ GIORDANO, Gandhi. Tratamento e controle de efluentes industriais. **Apostila de Curso. Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente/UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2004.**

De acordo com a Resolução do CONAMA (357/2005)²⁶, os padrões de emissão relacionados a substâncias tóxicas, estão discriminados na Tabela 2.

Tabela 2 - Padrões de emissão de efluente. Adaptado CONAMA 357/2005 (BRASIL,2005)

LANÇAMENTO DE EFLUENTES	
Parâmetros Inorgânicos	Valor máximo
Arsênio total	0,5 mg/L As
Bário total	5,0 mg/L Ba
Boro total	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,2 mg/L Cd
Chumbo total	0,5 mg/L Pb
Cianeto total	1,0 mg/L CN
Cianeto livre	0,2 mg/L CN
Cobre dissolvido	1,0 mg/L Cu
Cromo total hexavalente	0,1 mg/L Cr6+
Cromo trivalente	1,0 mg/L Cr3+
Estanho total	4,0 mg/L Sn
Ferro dissolvido	15,0 mg/L Fe78
Fluoreto total	10,0 mg/L F
Manganês dissolvido	1,0 mg/L Mn
Mercurio total	0,01 mg/L Hg
Níquel total	2,0 mg/L Ni
Nitrogênio amoniacal total	20,0 mg/L N
Prata total	0,1 mg/L Ag
Selênio total	0,30 mg/L Se
Sulfeto	1,0 mg/L S
Zinco total	5,0 mg/L Zn
Parâmetros orgânicos	Valor máximo
Clorofórmio	1,0 mg/L
Dicloroetano (somatório de 1,1 + 1,2 cis + 1,2 trans)	1,0 mg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,5 mg/L C6H5OH
Tetracloroeto de Carbono	1,0 mg/L
Tricloroetano	1,0 mg/L

Estes limites de emissão dos parâmetros de algumas substâncias químicas são exigidos, pois a indústria em geral produz como consequência de seus processos, significativas quantidades de efluentes líquidos com altas concentrações de substâncias potencialmente tóxicas, como exemplo, os metais resultantes dos processos das indústrias metalúrgicas. Entre eles destacam-se o cromo, o ferro e o níquel, sendo que a indústria da galvanoplastia se apresenta como uma fonte geradora de efluentes contendo metais pesados.²⁷⁻²⁸⁻²⁹

²⁶ BRASIL. Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005.

²⁷ LUNARDI, Marina Monteiro *et al.* Tratamento de efluente de indústria metalúrgica com o uso de biosorventes naturais para remoção de metais pesados. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul- Salão de Iniciação Científica da PUCRS. Porto Alegre, 2009.

O descarte de efluentes para o meio ambiente, após o tratamento, deve estar de acordo com os limites de emissão, conforme a Tabela 02 da Resolução CONAMA 357/2005, com o objetivo de evitar ou minimizar a contaminação dos corpos hídricos. A resolução do CONAMA 430/2011,³⁰ complementa e altera as condições e padrões de emissão destes poluentes em águas superficiais. Houve a inclusão de três poluentes orgânicos e seus respectivos limites de emissão, de relevância a esta pesquisa, por se tratarem de compostos orgânicos: Benzeno, Tolueno e Xileno.

Não se pode afirmar que as substâncias citadas tanto na Resolução CONAMA 357/2005 quanto na Resolução do CONAMA 430/2011, sejam desreguladores endócrinos ou que até mesmo uma conjugação destes compostos cause alterações no sistema endócrino. Porém, o atendimento aos padrões de emissão destes compostos para o meio ambiente é importante, já que, não se tem conhecimento científico se estas substâncias causam perturbações endócrinas nos organismos, conservando assim a qualidade dos mananciais e das águas para consumo.

A indústria gera efluentes com elevadas concentrações de substâncias tóxicas. Durante o processo de tratamento, além das substâncias conhecidamente prejudiciais à saúde de seres vivos, dentre eles os humanos, o efluente pode conter substâncias com potencial de interferência endócrina, ou até mesmo, o próprio processo de tratamento dos efluentes industriais pode tornar as substâncias presentes no efluente, propensas a agir no sistema endócrino dos organismos vivos, desregulando algumas funções e causando alguns tipos de danos.

Outro exemplo é o que ocorre com os hormônios estrogênicos contidos nos anticoncepcionais. De acordo com Lopes (2008)³¹, alguns desses hormônios estão conjugados no momento da eliminação do corpo humano, e assim, encontram-se na forma inativa, pois perdem completamente a capacidade de ligação ao receptor de estrógeno. O processo de

²⁸ VAZ, Luiz Gustavo de Lima *et al.* Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. *Eclética Química*, v. 35, n. 4, p. 45, 2010.

²⁹ GIORDANO, Gandhi. Tratamento e controle de efluentes industriais. *Apostila de Curso. Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente/UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil*, 2004.

³⁰ BRASIL. *Resolução CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011.*

³¹ LOPES, Laudicéia Giacometti *et al.* Hormônios estrogênicos no ambiente e eficiência das tecnologias de tratamento para remoção em água e esgoto. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v. 13, n. 4, p. 123, 2008.

quebra da conjugação ocorre no percurso do esgoto entre as residências até ou dentro das Estações de Tratamento de Efluentes (ETE). Isso ocorre pelo contato com a elevada população de *Escherichia coli* produtora das enzimas glucuronidase e arilsulfatase. Dessa forma, a rede coletora e Estações de Tratamento de Efluentes (ETE), podem ser consideradas reatores que convertem estrogênios da forma inativa (conjugada) em ativa (livre).

A poluição e contaminação de efluentes por desreguladores endócrinos já é comprovada e tecnologias estão sendo empregadas para tentar minimizar os impactos causados por estas substâncias.

Segundo Souza (2009)³², processos oxidativos avançados, têm sido bastante utilizados, objetivando a remediação ambiental em poluentes orgânicos em efluentes domésticos e industriais. Processos Oxidativos Avançados (POA), envolvem operações com ozônio, peróxido de hidrogênio, sonólise, fotocátalise e radiação ultravioleta. Sendo que, o 17 β -estradiol foi bastante sensível, aos tratamentos de ozonização e fotocátalise heterogênia.

De acordo com Bila (2007)³³, a remoção de estradiol por processo de ozonização, foi bastante eficiente, sendo observada a remoção de 99% do composto. Estudos demonstraram que o tratamento com ultravioleta (UV) sozinho não foi eficiente para a remoção de Bisfenol A em amostras de efluentes. Porém o UV associado com peróxido de hidrogênio teve uma remoção significativa.³⁴

A não realização de tratamentos de efluentes ou até mesmo o tratamento ineficiente e conseqüentemente o lançamento nos corpos hídricos, é considerada uma conduta danosa ao meio ambiente e por esta razão, leis e decretos descrevem as prováveis punições aos responsáveis que realizar alguma conduta de natureza lesiva ao meio ambiente.

³² SOUZA, Francisco Glaucio Cavalcante de. Remoção de desreguladores endócrinos por fotocátalise heterogênea e ozonização. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2009.

³³ BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 651, 2007.

³⁴ CHEN, Pei-Jen *et al.* Biological assessment of bisphenol A degradation in water following direct photolysis and UV advanced oxidation. **Chemosphere**, v. 65, n. 7, p. 1094, 2006.

LEGISLAÇÃO AMBIENTAL BRASILEIRA REFERENTE A CONDUTAS LESIVAS AO MEIO AMBIENTE: PUNIÇÕES QUANTO À EMISSÃO DE CONTAMINANTES PARA O MEIO AMBIENTE

A fim de definir e estipular medidas de controle e punitivas com relação ao meio ambiente, a legislação vigente em nosso País e Estado, com o intuito de preservação e conservação ambiental.

A Constituição Federal, que norteia todas as demais leis em nosso país menciona em seu artigo 225º, que todos cidadãos, têm direito ao meio ambiente equilibrado, que possuem o direito de usufruir dos recursos deste meio ambiente, desde que também as futuras gerações possam usar estes recursos ambientais. Mas para que as futuras gerações possam ter um “meio ambiente equilibrado” e a “sadia qualidade de vida”, incube ao poder público prover este direito, através do controle da produção de substâncias químicas. Caso o cumprimento destas condicionantes não for cumprido, cabe punições e sanções administrativas aos infratores, sejam eles pessoas físicas ou jurídicas.³⁵

A Lei 9605/1998,³⁶ dispõe sobre as sanções penais e administrativas a respeito de condutas e atividades que venham prejudicar o meio ambiente. No decreto 6514/2008, é disposto sobre as infrações e sanções administrativas ao meio ambiente, estabelece o processo administrativo federal para averiguação destas infrações.³⁷⁻³⁸

CRIMES AMBIENTAIS REFERENTES A DESCARTE INADEQUADO DE EFLUENTES EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E PUNIÇÕES ATRIBUÍDAS

Especificamente no artigo 62 do decreto 6514/2008, que dispõe sobre as infrações e sanções administrativas, estabelecendo processo administrativo à nível federal com o objetivo de apurar as infrações relacionadas ao meio ambiente, é enfatizado a qualidade de água e possíveis atitudes consideradas como crimes ambientais, tais como: causar poluição hídrica

³⁵ FEDERAL, Senado. Constituição da República Federativa do Brasil. **Brasília: Senado**, 1988.

³⁶ BRASIL. **Lei n. 9605 de 12 de fevereiro de 1998**. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Diário Oficial da União, de 13 de fevereiro de 1998.

³⁷ BRASIL. **Lei n. 9605 de 12 de fevereiro de 1998**. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Diário Oficial da União, de 13 de fevereiro de 1998.

³⁸ BRASIL. **Decreto n. 6514 de 22 de julho de 2008**. Dispõe sobre as infrações administrativas ao meio ambiente, estabelece o processo administrativo federal para apuração destas infrações, e dá outras providências. Diário Oficial da União, de 23 de julho de 2008.

que torne necessária a interrupção do abastecimento público de água de uma comunidade; dificultar ou impedir o uso público das praias pelo lançamento de substâncias, efluentes, carreamento de materiais ou uso indevido dos recursos naturais, dentre outros crimes citados no decreto³⁹

Na lei de crimes ambientais (9605/1998) no artigo 33, determina pena de detenção ou multa para quem provocar, pela emissão de efluentes o carreamento de materiais, o esgotamento de espécimes da fauna aquática existentes em rios, lagos, açudes, lagoas, baías ou águas jurisdicionais brasileiras, incorrendo nas mesmas penas aquele que, segundo o artigo 54, causar poluição de qualquer natureza em níveis tais que resultem ou possam resultar em danos à saúde humana, ou que provoquem a mortandade de animais ou a destruição significativa da flora. Enfim danos ao meio ambiente em todas as suas formas de expressão.⁴⁰

O descarte de efluentes industriais e sanitários de maneira inadequada para o meio ambiente, é uma conduta criminosa. As substâncias com potencial de interferência no sistema endócrino que possam ser despejadas nos corpos hídricos, podem ser consideradas como condutas danosas para o meio ambiente. Devido a isso, existem regulamentações em nosso país, de modo a minimizar ou até mesmo eliminar a possibilidade de contaminação por estas substâncias.

DESREGULADORES ENDÓCRINOS: REGULAMENTAÇÕES E LEIS NO BRASIL E NO RIO GRANDE DO SUL

A Política Nacional do Meio Ambiente⁴¹, cita no seu artigo 9º o estabelecimento de diretrizes e procedimentos, objetivando a proteção do meio ambiente através de condições e medidas, e que sejam aceitos pela sociedade.

Tanto a Resolução do CONAMA 357/2005 e a Resolução do CONSEMA 128/2008 citam que devem ser implementadas pelas fontes potencialmente geradoras de Dibenzo-*p*-dioxinas

³⁹ BRASIL. **Decreto n. 6514 de 22 de julho de 2008**. Dispõe sobre as infrações administrativas ao meio ambiente, estabelece o processo administrativo federal para apuração destas infrações, e dá outras providências. Diário Oficial da União, de 23 de julho de 2008.

⁴⁰ FERNANDES NETO, Maria de Lourdes; PACHECO FERREIRA, Aldo. Perspectivas da sustentabilidade ambiental diante da contaminação química da água: desafios normativos. **InterfacEHS-Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 2, n. 4, p.1 2007.

⁴¹ BRASIL. **Lei n.6938, de 31 de agosto de 1981**. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 1981.

Policloradas (Dioxinas) e Dibenzofuranos Policlorados (Furanos), a melhor tecnologia disponível visando a redução desta emissão até a completa eliminação. Também são considerados desreguladores endócrinos, o DDT e seus derivados e as Bifenilas policloradas (PCBs). Para o caso de contaminação através de efluentes líquidos com poluentes orgânicos, fica o órgão ambiental competente responsável por fixar padrão de emissão destes compostos químicos com potencial de interferência endócrina.⁴²⁻⁴³

Foram relatados em linhas gerais, e citados alguns conhecidos desreguladores endócrinos, e quais são as normativas, a nível estadual e nacional, sobre alguns desreguladores endócrinos. Mais especificamente, os agroquímicos serão discutidos, sobre as regulamentações e limites de dispersão no meio ambiente e águas superficiais.

AGROQUÍMICOS QUE PODEM AGIR COMO DESREGULADORES ENDÓCRINOS: REGULAMENTAÇÕES NO BRASIL E NO RIO GRANDE DO SUL

Alguns agroquímicos também podem ser considerados desreguladores endócrinos, pelas conhecidas disfunções que causam nos organismos e danos causados ao meio ambiente. Dentre os agroquímicos, estudos mais específicos falam a respeito dos Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs).

A legislação brasileira proíbe o uso de agroquímicos que revelem características teratogênicas, carcinogênicas ou mutagênicas e substâncias que provoquem distúrbios hormonais e danos ao sistema reprodutor, características dos desreguladores endócrinos, porém os limites de lançamento não estão definidos. No artigo 5º desta lei, pode ser solicitado o cancelamento ou impugnação de substâncias que modifiquem o comportamento genético bem como possuam efeito sobre os mecanismos hormonais,⁴⁴

A Resolução do Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA) 128/2006, determina que não podem ser lançados nos corpos hídricos superficiais (rios, arroios entre

⁴² BRASIL. Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005.

⁴³ RIO GRANDE DO SUL. CONSEMA n.128, de 24 de novembro de 2006.

⁴⁴ BRASIL. Lei n.7802 de 11 de junho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 1989.

outros) direta ou indiretamente, efluentes líquidos com presença de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs). Na Tabela 3, estão discriminados os POPs.⁴⁵

Tabela 3 - Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) de acordo com a CONSEMA 128/2006

Aldrin
Bifenilas policloradas (PCB's)
Clordano (sis e trans)
DDT (4,4'DDT + 4,4' DDE + 4,4' DDD)
Dieldrin
Endrin
Heptacloro
Heptacloro epóxido
Hexaclorobenzeno
Mirex
Toxafeno

Foram mencionadas substâncias com potencial de interferência no sistema endócrino, dentre elas os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), Dioxinas e Furanos, com relação a regulamentação no Brasil e no Estado do Rio Grande do Sul, quanto à emissão em efluentes industriais e águas superficiais.

Medidas regulamentadoras, com relação a outros compostos que já se têm seus problemas conhecidos por causarem disfunções no sistema endócrino, tais como Nonilfenol, Bisfenol A, Ftalatos, componentes de pílulas anticoncepcionais, dentre eles 17- α -etinilestradiol (EE2), 17- β -estradiol, não foram citadas. Tem-se conhecimento que estes compostos causam danos para o meio ambiente e para a sanidade dos seres vivos, que consomem as águas dos corpos hídricos para onde estas substâncias acabam sendo descartadas. Porém não se tem ciência se existem limites toleráveis para o despejo destes produtos químicos, de maneira a não prejudicar a utilização da água, com relação à saúde de quem usa este recurso natural, a água, para diferentes atividades vitais.

SUBSTÂNCIAS COM POTENCIAL DE DESREGULAÇÃO ENDÓCRINA: REGULAMENTAÇÃO INTERNACIONAL

Discussões, medidas preventivas e de combate às substâncias com potencial de intervenção no sistema endócrino estão sendo tomadas com a intenção de evitar danos à saúde humana e com relação ao meio ambiente.

⁴⁵ RIO GRANDE DO SUL. CONSEMA n.128, de 24 de novembro de 2006.

São criadas anualmente diversas novas substâncias químicas com possível contaminação de recursos hídricos, durante a produção e utilização, sendo que a legislação vem acompanhando este desenvolvimento. Entretanto, uma grande quantidade de contaminantes emergentes ainda não estão regulados. Isto deve-se às limitações analíticas ou devido à falta de estudos que comprovem se realmente estas novas substâncias causam ou não perturbações à saúde pública.⁴⁶

CONVENÇÕES E CONFERÊNCIAS MUNDIAIS

Convenção de Estocolmo

Em 1972, foi realizada uma reunião com o intuito de estabelecer medidas de proteção em relação ao meio ambiente com o objetivo de trazer benefícios também aos humanos, já que somos parte do meio ambiente. Em 2001, em uma nova convenção em Estocolmo, foram definidos os 12 principais compostos classificados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs): nove agrotóxicos (aldrin, clordano, DDT, dieldrin, endrin, heptaclor, mirex e toxafeno), dois químicos industriais (bifenilas policlorinadas – PCBs – e hexaclorobenzeno) e subprodutos gerados durante processos (PCBs, dioxinas e furanos, e hexaloroexano).⁴⁷

Baseada na Convenção de Estocolmo, o CONAMA através da Resolução 357 cita a proibição do lançamento de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) em mananciais.⁴⁸ As substâncias proibidas que estão mencionadas na Convenção de Estocolmo estão ratificadas no Decreto Legislativo n. 204, de 7 de maio de 2004, no Estado do Rio Grande do Sul.⁴⁹

Conferência Internacional Sobre Gestão De Substâncias Químicas

Na Conferência Internacional sobre Gestão de Substâncias Químicas (SAICM) em fevereiro 2006, foi estipulado que deve ser realizada a gestão de produtos químicos durante todo seu ciclo de vida. Até o ano de 2020 os compostos químicos que forem produzidos, devem apresentar metas com o intuito de minimizar os efeitos adversos sobre à saúde humana e meio ambiente. Vários grupos de interesse já se pronunciaram a respeito do assunto.

⁴⁶ DE FARIA, Afonso Lobato. Água e Resíduos: desafios comuns. *Revista Indústria e Meio Ambiente*, n.84, p.1, Portugal, 2014.

⁴⁷ SUÉCIA. *Stockholm convention on persistent organic pollutants*, 2001.

⁴⁸ BRASIL. *Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005*.

⁴⁹ RIO GRANDE DO SUL. *Decreto Legislativo n. 204, de 7 de maio de 2004*. Aprova o texto da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, adotada, naquela cidade, em 22 de maio de 2001. Ministério Público do Rio Grande do Sul, 2004.

Existem estudos apontando os problemas irreversíveis causados por algumas substâncias químicas, porém, estudos a respeito são importantes para melhor avaliação dos riscos destas substâncias.⁵⁰

Convenção de Roterdã

Dentre os instrumentos de controle do comércio de substâncias que possam vir a causar danos ao meio ambiente e à saúde humana está a Convenção de Roterdã que aconteceu em de 10 de setembro de 1998, que objetiva controlar e compartilhar a responsabilidade a nível internacional de certas substâncias químicas perigosas. Tem por finalidade a utilização correta de produtos químicos com relação a proteção ambiental, promovendo a troca de informações, particularidades dos compostos químicos, instituindo procedimentos de decisões nacional para sua importação e exportação, divulgando internacionalmente as informações obtidas.^{51 -}

52

REGULAMENTAÇÕES E ORIENTAÇÕES TERRITORIAIS

União Europeia

Em 4 de Março de 1999, o Comitê Científico da Toxicidade, Ecotoxicidade Ambiente (CCTEA) da Comissão Europeia apresentou o seu parecer considerando já ter conhecimento deste problema, que segundo a comissão, é um “problema global potencial” para a fauna. As relações entre a reprodução e o desenvolvimento considera os desreguladores endócrinos como responsáveis por alterações a nível local e populacional⁵³

Alguns países membros, como a Dinamarca, Finlândia e Reino Unido, divulgaram programas nacionais de verificação a respeito de desregulação endócrina. Outros países introduziram medidas específicas objetivando limitar ou banir pouco a pouco o uso de

⁵⁰ WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) *et al.* State of the Science of Endocrine-Disrupting Chemicals. Geneva: International Programme on Chemical Safety, 2012.

⁵¹ HOLANDA. Rotterdam Convention, 1998.

⁵² BRASIL. Decreto n. 5360 de 31 de janeiro de 2005. Promulga a convenção sobre procedimento de consentimento prévio informado para o comércio internacional de certas substâncias químicas e agrotóxicos perigosos, adotada em 10 de setembro de 1998, na cidade de Roterdã. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

⁵³ E.U. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES COM (2001) 262 final-Communication from the commission to the council and the European parliament on the implementation on the Community Strategy for Endocrine disruptors – a range substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. Bruxelas, Bélgica, 2001.

determinadas substâncias suspeitas, com base em relatos de efeitos tóxicos, como na Suécia, Bélgica, Reino Unido, Holanda e Dinamarca.

De acordo com (COM (1999)706)⁵⁴ a Comunidade Europeia assinou, em junho de 1998, um Protocolo sobre os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) no âmbito da Convenção sobre a Poluição Atmosférica Transfronteiras a Longa Distância, de 1979, da Comissão Econômica para a Europa das Nações Unidas, e participa atualmente em negociações internacionais para a criação de um instrumento mundial sobre os POPs.

Visando o atendimento a (COM (1999)706), que durante esta convenção, no ano de 1999, foram elencadas algumas substâncias com potencial de interferência endócrina e também discutidas estratégias para minimizar os problemas causados por estas substâncias, a COM (2001)⁵⁵, no ano de 2001, que objetiva o atendimento a (COM (1999)706, aborda três (03) etapas para a análise de substâncias com potencial de interferência endócrina: etapa de identificação do perigo, avaliação dos riscos e gestão dos riscos.

Em 12 de agosto de 2013, a Comissão Europeia, através da Diretiva 2013/39/UE incluiu o Bisfenol A, 17- α -etinilestradiol (EE2), 17- β -estradiol (E2) e o Nonilfenol na lista de substâncias que necessitam de pesquisas para que seus prováveis efeitos negativos à saúde humana sejam avaliados.⁵⁶⁻⁵⁷

Japão

Em 1997, o Japão iniciou procedimentos de estudos com relação a desreguladores endócrinos. A Agência Ambiental do Japão começou pesquisas a respeito de desreguladores endócrinos objetivando coletar, revisar e organizar dados científicos sobre estes componentes. Em 1998, foram estabelecidas por esta agência algumas políticas sobre desreguladores endócrinos, dentre elas: promover investigações na área de poluição ambiental e os efeitos

⁵⁴ E.U. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES COM (1999)706 final- **Community Strategy for Endocrine disruptors – a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife** Bruxelas, Bélgica, 1999.

⁵⁵ E.U. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES COM (2001) 262 final-**Communication from the commission to the council and the European parliament on the implementation on the Community Strategy for Endocrine disruptors – a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife**. Bruxelas, Bélgica, 2001.

⁵⁶ CUSTÓDIO, Ana Filipa Silva *et al.* Efeito da temperatura na bioacumulação e eliminação do metilmercúrio em robalo (*Dicentrarchus labrax*). **Dissertação de Mestrado**. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 2014.

⁵⁷ E.U. Diretiva 2013/39/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 12 de agosto de 2013 que altera as Diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que respeita às substâncias prioritárias no domínio da política da água. **Jornal Oficial da União Europeia**. L226/1, 2013.

adversos na fauna silvestre com relação a desreguladores endócrinos; organizar métodos de triagem e testes com relação a estes poluentes; avaliar os riscos ambientais, quanto a gestão e divulgação de informação; e por fim fortalecer as relações internacionais com relação a estes compostos.⁵⁸

Estados Unidos

A Agência de Proteção Ambiental do Estados Unidos (EPA) foi uma das primeiras agências reguladoras a desenvolver e aplicar técnicas para avaliação de substâncias químicas potencialmente envolvidas com o câncer.⁵⁹

A Agência de Proteção Ambiental do Estados Unidos (EPA), criou um grupo na década de 1990, o *Endocrine Disruptor Screening Program* (EDSP), com a intenção de realizar avaliação de substâncias suspeitas de interferir na homeostase hormonal através de série de ensaios. Esta bateria consiste de cinco ensaios *in vitro* e de seis ensaios *in vivo*. Depois da realização dos primeiros testes iniciais é estipulado se a substância pode ter interferência endócrina nos organismos vivos e então deverá ser submetida a outros testes *in vivo* com níveis tróficos mais altos. Estes testes também estão sendo aplicados em países como Japão e na União Europeia (UE) com o interesse de demonstrar os riscos da utilização destes compostos químicos com relação a saúde nos humanos.⁶⁰⁻⁶¹

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação aos parâmetros físicos, químicos e biológicos, a legislação sobre qualidade das águas em nosso país está bem definida, quanto aos padrões de emissão no meio ambiente e eventuais problemas que possam a vir causar à saúde dos seres vivos, em especial aos seres

⁵⁸ HECKER, Markus; HOLLERT, Henner. Endocrine disruptor screening regulatory perspectives and needs. *Environmental Sciences Europe*, v. 23, n. 1, p. 1, 2011.

⁵⁹ BUDROE, J. *et al.* Technical Support Document for Cancer Potency Factors. **Appendix H [WWW document]**. URL http://www.OEHHA.ca.gov/air/hot_spots/2009/TSDCancerPotency.pdf (accessado em 02 de abril de 2015).

⁶⁰ HECKER, Markus; HOLLERT, Henner. Endocrine disruptor screening regulatory perspectives and needs. *Environmental Sciences Europe*, v. 23, n. 1, p. 1, 2011.

⁶¹ BISHOP, Patricia L.; WILLETT, Catherine E. The Use and Acceptance of Other Scientifically Relevant Information (OSRI) in the US Environmental Protection Agency (EPA) Endocrine Disruptor Screening Program. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**, v. 101, n. 1, p. 3, 2014.

humanos. Com relação aos desreguladores endócrinos, os padrões de emissão destas substâncias e as formas de monitoramento ainda estão sendo discutidas, principalmente em relação à quanto e quais substâncias podem ser descartadas para a natureza, e quais os níveis seguros. Têm-se discutido quanto à proibição de determinadas substâncias, porém os níveis de emissão e seus possíveis efeitos, ainda não foram estipulados.

Na comunidade internacional, existem muitas discussões e metas para a implantação de políticas ambientais, com o intuito de minimizar os impactos destas substâncias para o meio ambiente, sendo o alvo principal o descarte de desreguladores endócrinos, em águas superficiais. O Brasil, ainda não aderiu às discussões sobre os chamados poluentes emergentes. Durante este trabalho, foi evidenciado que o Brasil, baseado nas decisões internacionais sobre o assunto, acaba aprovando medidas de controle destas substâncias. Porém inúmeras substâncias das quais estudos comprovam seus danos ao sistema endócrino, nem ao menos são mencionadas pela legislação brasileira e nem medidas ou regulamentações foram definidas em nosso país, sendo que desde a fabricação de novas substâncias químicas até a sua utilização, deve-se ter um rigoroso controle, regulamentado e baseado em uma legislação para que seu uso seja controlado e os níveis toleráveis para o meio ambiente e para a saúde humana.

Estudos a respeito dos verdadeiros malefícios destes contaminantes devem continuar a ser feitos, e assim padrões de emissão em águas superficiais serem estipulados, para que então leis sejam implantadas e cumpridas em prol do meio ambiente.

REFERÊNCIAS

AMÉRICO, Juliana Heloisa Piné *et al.* Desreguladores endócrinos no ambiente e seus efeitos na biota e saúde humana. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 22, n. 1, p.17, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR 9800**. Critérios para lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário – Procedimento. Disponível em: < [www.abntcatalogo.com.br norma](http://www.abntcatalogo.com.br/norma)> Acesso em: 20 de março de 2013.

BENVENUTI, Tatiane. Avaliação da eletrodialise no tratamento de efluentes de processos de eletrodeposição de níquel. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 651, 2007.

BISHOP, Patricia L.; WILLETT, Catherine E. The Use and Acceptance of Other Scientifically Relevant Information (OSRI) in the US Environmental Protection Agency (EPA) Endocrine Disruptor Screening Program. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**, v. 101, n. 1, p. 3, 2014.

BRASIL. **Decreto n. 6514 de 22 de julho de 2008**. Dispõe sobre as infrações administrativas ao meio ambiente, estabelece o processo administrativo federal para apuração destas infrações, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, de 23 de julho de 2008.

BRASIL. **Decreto n. 5360 de 31 de janeiro de 2005**. Promulga a convenção sobre procedimento de consentimento prévio informado para o comércio internacional de certas substâncias químicas e agrotóxicos perigosos, adotada em 10 de setembro de 1998, na cidade de Roterdã. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

BRASIL. **Lei n.6938, de 31 de agosto de 1981.** Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 1981.

BRASIL. **Lei n.7802 de 11 de junho de 1989.** Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 1989.

BRASIL. **Lei n. 9605 de 12 de fevereiro de 1998.** Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 1998.

BRASIL. **Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005.**

BRASIL. **Resolução CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011.**

BUDROE, J. *et al.* Technical Support Document for Cancer Potency Factors. **Appendix H [WWW document]. URL [http://www. OEHHA. ca. gov/air/hot_spots/2009/TSDCancerPotency. pdf](http://www.OEHHA.ca.gov/air/hot_spots/2009/TSDCancerPotency.pdf) (accessado em 02 de abril de 2015).**

CANIZARES, E.M.P.N.; SANTANA, E.R.R.; SANTIAGO JR., W. **Implementação da metodologia da UNEP para identificação e quantificação das emissões de dioxinas e furanos no estado do Rio Grande do Sul-Brasil.** Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM, 2005.

CHEN, Pei-Jen *et al.* Biological assessment of bisphenol A degradation in water following direct photolysis and UV advanced oxidation. **Chemosphere**, v. 65, n. 7, p. 1094, 2006.

CUSTÓDIO, Ana Filipa Silva *et al.* Efeito da temperatura na bioacumulação e eliminação do metilmercúrio em robalo (*Dicentrarchus labrax*). **Dissertação de Mestrado**. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 2014.

DE FARIA, Afonso Lobato. Água e Resíduos: desafios comuns. **Revista Indústria e Meio Ambiente**, n.84, p.1, Portugal, 2014.

E.U. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES COM (1999)706 final- **Community Strategy for Endocrine disruptors – a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife** Bruxelas, Bélgica, 1999.

E.U. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES COM (2001) 262 final- **Communication from the commission to the council and the European parliament on the implementation on the Community Strategy for Endocrine disruptors – a range substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife**. Bruxelas, Bélgica, 2001.

E.U. Diretiva 2013/39/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 12 de agosto de 2013 que altera as Diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que respeita às substâncias prioritárias no domínio da política da água. **Jornal Oficial da União Europeia**. L226/1, 2013.

FEDERAL, Senado. Constituição da República Federativa do Brasil. **Brasília: Senado**, 1988.

FERNANDES NETO, Maria de Lourdes; PACHECO FERREIRA, Aldo. Perspectivas da sustentabilidade ambiental diante da contaminação química da água: desafios normativos. **InterfacEHS-Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 2, n. 4, p.1, 2007.

FELIX, Fabiana Ferreira *et al.* Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) como Indicadores da Qualidade dos Solos. **Revista da Fapese de pesquisa e extensão**, v.3, n.2, p. 39, 2007.

GHISELLI, Gislaine; JARDIM, Wilson F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 695, 2007.

GIORDANO, Gandhi. Tratamento e controle de efluentes industriais. **Apostila de Curso. Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente/UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil**, 2004.

GOLOUBKOVA, Tatiana; SPRITZER, Poli Mara. Xenoestrogênios: o exemplo do bisfenol A. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 4, p. 323, 2000.

GUIMARÃES, Raphael Mendonça; ASMUS, Carmen Ildes Rodrigues Fróes. Desreguladores endócrinos e efeitos reprodutores em adolescentes. **Cadernos de Saúde coletiva**, v. 18, n. 2, p.203, 2010.

HAO, C.-j *et al.* The endocrine disruptor 4-nonylphenol promotes adipocyte differentiation and induces obesity in mice. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 30, n. 2, p. 382, 2012.

HECKER, Markus; HOLLERT, Henner. Endocrine disruptor screening regulatory perspectives and needs. **Environmental Sciences Europe**, v. 23, n. 1, p. 1, 2011.

HOLANDA. **Rotterdam Convention**, 1998.

JUBENDRADASS, R.; D'CRUZ, S. C.; MATHUR, P. P. Long-term exposure to nonylphenol affects insulin signaling in the liver of adult male rats. **Human & experimental toxicology**, v. 31, n. 9, p. 868, 2012.

LAWS, Susan C. *et al.* Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. **Toxicological Sciences**, v. 54, n. 1, p. 154, 2000.

LLOPIS-GONZALEZ, Agustin *et al.* Efectos de la alteración endocrina durante la gestación: una revisión sistemática. **Revista de Salud Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 29, 2014.

LOPES, Laudicéia Giacometti *et al.* Hormônios estrogênicos no ambiente e eficiência das tecnologias de tratamento para remoção em água e esgoto. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 13, n. 4, p. 123, 2008.

LUNARDI, Marina Monteiro *et al.* **Tratamento de efluente de indústria metalúrgica com o uso de biosorventes naturais para remoção de metais pesados.** Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul- Salão de Iniciação Científica da PUCRS. Porto Alegre, 2009.

PALERMO, Francesco Alessandro *et al.* Cortisol response to waterborne 4-nonylphenol exposure leads to increased brain POMC and HSP70 mRNA expressions and reduced total antioxidant capacity in juvenile sole (*Solea solea*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 156, n. 3, p. 135, 2012.

POPKIE, Anthony; KAKARALA, Madhuri; GRAVEEL, Carrie. Genetic and Environmental Effects on Stem Cells and Breast Cancer. **Current Pathobiology Reports**, v. 2, n. 1, p. 27, 2014.

REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. **Journal Of The Brazilian Society Of Ecotoxicology**, v. 2, p. 283-288, 2007.

RIO GRANDE DO SUL. CONSEMA n.128, de 24 de novembro de 2006.

RIO GRANDE DO SUL. **Decreto Legislativo n. 204, de 7 de maio de 2004.** Aprova o texto da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, adotada, naquela cidade, em 22 de maio de 2001. Ministério Público do Rio Grande do Sul, 2004.

SPADOTO, Mariângela. Análise dos efeitos tóxicos do nonilfenol e do bisfenol A em organismos de água doce. **Tese de Doutorado.** Universidade de São Paulo, 2013.

SOUZA, Francisco Glaucio Cavalcante de. Remoção de desreguladores endócrinos por fotocatalise heterogênea e ozonização. **Tese de Doutorado.** Universidade de São Paulo, 2009.

SUÉCIA. **Stockholm convention on persistent organic pollutants**, 2001.

VAZ, Luiz Gustavo de Lima *et al.* Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 45, 2010.

WAISSMANN, William. Health surveillance and endocrine disruptors. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 2, p. 511, 2002.

WATANABE, H. *et al.* Tissue-specific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. **Journal of molecular endocrinology**, v. 33, n. 1, p. 243, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) *et al.* State of the Science of Endocrine-Disrupting Chemicals. **Geneva: International Programme on Chemical Safety**, 2012.

6 CONCLUSÃO

A água tem sido uma preocupação cada vez maior, já que este recurso vem se tornando cada vez mais escasso, devido ao aumento populacional que e conseqüentemente eleva o consumo também. A poluição dos corpos hídricos devido aos despejos de efluentes, tanto domésticos quanto industriais nos mananciais de água, vem acarretando sérios problemas ambientais.

Devido a isto, cada vez mais são exigidos parâmetros de avaliação da qualidade de água, objetivando a conservação deste recurso natural de grande importância para todas formas de vida, e os limites de cada um dos parâmetros a serem dispostos no ambiente. Além dos parâmetros de qualidade de água já exigidos pela legislação ambiental em nosso país, uma nova classe de contaminantes, os desreguladores endócrinos, devem ser levados em consideração para avaliação da qualidade da água.

Por isso, esta pesquisa realizou análises experimentais *in vivo*, com intuito de analisar possíveis distúrbios em organismos vivos. Foram percebidos que os níveis de estradiol e de glicose apresentaram diferenças significativas, com relação as amostras de plasma sanguíneo analisadas em ratos *Wistar* machos, que consumiram efluente tratado, o que leva a crer que produtos utilizados para o tratamento de efluentes industriais, que atendem a legislação ambiental hoje estabelecida em nosso país, pode levar a problemas com relação a desreguladores endócrinos, já que nos ratos que consumiram efluente bruto, não houve diferenças significativas nas amostras de plasma analisadas. Para o atendimento aos parâmetros físicos e químicos, neste caso, são utilizados detergentes industriais, que em grande parte destes produtos, em sua composição, possuem Nonilfenol, que é um desregulador endócrino já bastante estudado. Houve um aumento da quantidade de surfactantes, no efluente tratado.

Não se pode afirmar que apenas o Nonilfenol, presente em produtos químicos utilizados em tratamentos de efluentes, é o causador de interferência nos níveis de estradiol e também de glicose no plasma sanguíneo dos ratos *Wistar*

machos analisados, pois para se afirmar isto, testes a longo prazo devem ser feitos para verificar o efeito crônico, já que inúmeros compostos estão presentes neste efluente e também a conjugação destes produtos químicos poderiam ter levado a este resultado, além de uma análise química detalhada para identificação de compostos. Independentemente de qual substância tenha levado a estes resultados, leva-se a crer que, os tratamentos de efluentes utilizados hoje, podem estar contribuindo para este problema, por utilizar certas substâncias no processo, ou então não estão sendo eficientes para a remoção de substâncias com potencial de interferência no sistema endócrino.

Conclui-se então, com relação à pesquisa experimental realizada e a revisão de literatura com respeito às medidas regulamentadoras, com relação a desreguladores endócrinos que, diversas substâncias utilizadas largamente em nosso dia-a-dia, podem intervir no organismo de seres vivos, acarretando em diferentes tipos de disfunções, desde problemas relacionados à fertilidade até tipologias de cânceres. Ações objetivando a não utilização de diversas substâncias com potencial de interferência endócrina estão sendo tomadas, principalmente em nível internacional, sendo que no Brasil, algumas dessas medidas também estão sendo tomadas, baseadas nas regulamentações internacionais, de maneira a evitar ou pelo menos minimizar estas disfunções comprovadamente relacionados a estes produtos químicos que possuem em sua composição desreguladores endócrinos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, Míriam Cristina Santos *et al.* Avaliação do emprego de microfiltração para remoção de fibras do efluente de branqueamento de polpa celulósica. **Engenharia sanitária ambiental** v. 18, n. 1, p. 65-74, 2013.

ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; DE OLIVEIRA, Rosilene Santos. **Animais de laboratório: criação e experimentação [online]**. Rio de Janeiro Editora FIOCRUZ, 2002. ISBN: 85-7541-015-6. Available from SciELO Books <http://books.scielo.org>

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR 9800**. Critérios para lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário – Procedimento. Disponível em: < [www.abntcatalogo.com.br norma](http://www.abntcatalogo.com.br/norma)> Acesso em: 20 de março de 2013

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR ISO/IEC 17025**.

BENVENUTI, Tatiane. Avaliação da eletrodialise no tratamento de efluentes de processos de eletrodeposição de níquel. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

BREMAUNTZ, Adrián Fernández *et al.* **Las sustancias tóxicas persistentes**. Instituto Nacional de Ecología. México D.F., 2004.

BILA, Daniele Maia. Degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino 17 β -estradiol pelo processo de ozonização. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 651, 2007.

BRASIL. **Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005**.

BRASIL. **Resolução CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011**.

CANIZARES, E.M.P.N.; SANTANA, E.R.R.; SANTIAGO JR., W. **Implementação da metodologia da UNEP para identificação e quantificação das emissões de dioxinas e furanos no estado do Rio Grande do Sul-Brasil.** Fundação Estadual de Proteção Ambiental - FEPAM, Porto Alegre, 2005.

CHEN, Pei-Jei *et al.* Biological assessment of bisphenol a degradation in water following direct photolysis and UV advanced oxidation. **Chemosphere**, v. 65, n.7, p. 1094, 2006.

CLEMENTS, William H. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: an overview. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v.7, n.2, p.113, 2000.

FELIX, Fabiana Ferreira *et al.* Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) como Indicadores da Qualidade dos Solos. **Revista da Fapese**, v.3, n.2, p. 39, 2007.

FORLIN, Flávio J.; FARIA, José de Assis F. Considerações sobre a reciclagem de embalagens plásticas. **Polímeros: ciência e tecnologia**, v. 12, n. 1, p. 1, 2002.

GHISELLI, Gislaine; JARDIM, Wilson F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 695, 2007.

FOX, Glen A. Wildlife as sentinels of human health effects in the Great Lakes--St. Lawrence basin. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. Suppl 6, p. 853, 2001.

GIORDANO, Gandhi. Tratamento e controle de efluentes industriais. **Apostila de Curso. Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente/UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil**, 2004.

GOLOUBKOVA, Tatiana; SPRITZER, Poli Mara. Xenoestrogênios: o exemplo do bisfenol A. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 4, p. 323, 2000.

HAO, C.-j *et al.* The endocrine disruptor 4-nonylphenol promotes adipocyte differentiation and induces obesity in mice. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 30, n. 2, p. 382, 2012.

JAHN, Matheus Parmegiani *et al.* The effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on renal function and metabolism in diabetic rats. **Steroids**, v. 76, n. 6, p. 564, 2011.

JUBENDRADASS, R.; D'CRUZ, S. C.; MATHUR, P. P. Long-term exposure to nonylphenol affects insulin signaling in the liver of adult male rats. **Human & experimental toxicology**, v. 31, n. 9, p. 868, 2012.

LAWS, Susan C. *et al.* Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. **Toxicological Sciences**, v. 54, n. 1, p. 154, 2000.

LLOPIS-GONZALEZ, Agustin *et al.* Efectos de la alteración endocrina durante la gestación: una revisión sistemática. **Revista de Salud Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 29, 2014.

LOPES, Laudicéia Giacometti *et al.* Hormônios estrogênicos no ambiente e eficiência das tecnologias de tratamento para remoção em água e esgoto. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 13, n. 4, p.123, 2008.

LUNARDI, Marina Monteiro *et al.* **Tratamento de efluente de indústria metalúrgica com o uso de biosorventes naturais para remoção de metais pesados**. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul- Salão de Iniciação Científica da PUCRS. Porto Alegre, 2009

MELO, Daniela Séfora de *et al.* Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a atividade das enzimas AST, ALT, FA e lipídios hepáticos de ratos *Wistar*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p.32, 2008

MOREIRA, Danna Rodrigues. Desenvolvimento de adsorventes naturais para tratamento de efluentes de galvanoplastia. **Dissertação de Mestrado**. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2010.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica: princípios e interpretações**. Editora: Médica Massau, 2000.

MOYSÉS, Felipe dos Santos *et al.* Exposition to tannery wastewater did not alter behavioral and biochemical parameters in *Wistar* rats. **Physiology & behavior**, v. 129, p. 160, 2014.

OLIVEIRA, M.; LIMA, E.M. Identificação e quantificação de parabenos em matérias-primas farmacêuticas por cromatografia líquida de alta eficiência. **Anais eletrônicos do III Seminário de Pesquisa e Pós-Graduação/ III CONPEEX [CD-ROM]**, Universidade Federal de Goiás, 2006.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Disponível em: <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>. Acesso em: 27 de setembro de 2013.

PALERMO, Francesco Alessandro *et al.* Cortisol response to waterborne 4-nonylphenol exposure leads to increased brain POMC and HSP70 mRNA expressions and reduced total antioxidant capacity in juvenile sole (*Solea solea*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 156, n. 3, p. 135, 2012.

PENTEADO, José Carlos Pires; VAZ, Jorge Moreira. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 390, 2001.

PEREIRA, Wellington S.; FREIRE, Renato S. Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 130, 2005.

PESTANA, Cezar Rangel *et al.* Risco ambiental da aplicação de éteres de difenilas polibromadas como retardantes de chama. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 21, n. 2, p. 41, 2008.

POPKIE, Anthony *et al.* Genetic and Environmental Effects on Stem Cells and Breast Cancer. **Current Pathobiology Reports**, v. 2, n. 1, p. 27, 2014.

REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. **Journal Of The Brazilian Society Of Ecotoxicology**, v. 2, p. 283, 2007.

RIO GRANDE DO SUL. **CONSEMA nº128, de 24 de novembro de 2006.**

SCHIAVINI, Joyce de Araújo; CARDOSO, Carlos Eduardo; RODRIGUES, William Costa Desreguladores endócrinos no Meio Ambiente e o Uso de Potenciais Bioindicadores. **Revista Eletrônica TECEN**, v. 4, n. 3, p. 33, 2011.

SILVA, Carla G.A. da; COLLINS, Carol H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665, 2011.

SOUZA, Francisco Glaucio Cavalcante de. Remoção de desreguladores endócrinos por fotocatalise heterogênea e ozonização. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2009.

SPADOTO, Mariângela. Análise dos efeitos tóxicos do nonilfenol e do bisfenol A em organismos de água doce. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2013.

VAZ, Luiz Gustavo de Lima *et al.* Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 45, 2010.

WAISSMANN, William. Health surveillance and endocrine disruptors. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 2, p. 511, 2002.

WATANABE, H. *et al.* Tissue-specific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. **Journal of molecular endocrinology**, v. 33, n. 1, p. 243, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) *et al.* State of the Science of Endocrine-Disrupting Chemicals. **Geneva: International Programme on Chemical Safety**, 2012.

ZINI, Josiane *et al.* Estudo de metais e de substâncias tóxicas em brinquedos. **Química nova**, v. 32, n. 4, p. 833, 2009.