



Avaliação do risco de potencial ecotoxicológico de resíduos de 17 β estradiol obtidos pós-processo oxidativo a base de peróxido de hidrogênio destinados a remoção deste hormônio

Luciano Henrique Pinto²; Heloísa Steinbach¹; Vitória Maria Krüger^{1*}; Luana Soares Schuler¹; Rafaela Sierth¹; Lineu Del Ciampo³; Gilmar Sidnei Erzinger²

¹ Alunas de graduação do curso de Farmácia da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, Joinville, SC, Brasil.

² Professor do Departamento de Farmácia da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, Joinville, SC, Brasil.

³ Pesquisador Inovaparc, Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, Joinville, SC, Brasil.

RESUMO

Com o crescente descarte de medicamentos no meio ambiente, observa-se o aumento da preocupação com o impacto ambiental que tal ação pode acarretar, tanto a médio como em longo prazo. Os estrogênios vêm sendo encontrados no solo, em águas superficiais e subterrâneas. O objetivo deste estudo foi avaliar a ecotoxicidade dos resíduos químicos originados a partir da oxidação do 17 β estradiol, via peróxido de hidrogênio, em um processo destinado à remoção química destes hormônios em solução de acetona, e em diferentes pHs. As análises foram feitas utilizando cromatografia gasosa de alta resolução e bioteste com algas do gênero *Euglenas gracillis*. Os resultados foram baseados nas comparações de análises pré-processo oxidativo avançado (POA) e pós POA. Observou-se que os resultados obtidos na condição de pH 5,0, com tempo de 20 minutos, apresentou um bom rendimento, porém com mudança de comportamento dos bioindicadores. Em pH 7,0, com tempo de 20 minutos, o rendimento foi menor, porém não houve demonstração de atividade ecotoxicológica.

Palavras-chave: Estrógeno. Processos oxidativos avançados. Poluentes emergentes. Peróxido de hidrogênio. Ecotoxicidade.

INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, os medicamentos vencidos ou as sobras de tratamento vêm sendo descartados de qualquer maneira no ambiente, sem maiores preocupações com o impacto ambiental que tal ação pode acarretar (Valcárel et al, 2012). Apesar de se ter legislações e regulamentações que se apresentam como objeto à destinação adequada dos resíduos de uma forma geral, a existência de risco ecotoxicológico para os produtos medicamentosos vem despertando interesse da comunidade científica (Bila & Dezotti, 2003). A ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos das substâncias nos diversos ecossistemas e organismos vivos (Zagatto, 2008), incluindo a interação destas com o meio nos quais os organismos vivem, podendo resultar na ecotoxicidade – que representa um efeito nocivo ao meio ambiente e que serve de alerta para um dado risco ambiental (Azevedo & Chasin, 2013). No caso específico das medicações, as fontes de contaminação são provenientes do descarte inadequado, do uso veterinário fora das recomendações e também da excreção inalterada pelo ser humano dos medicamentos consumidos. Em termos gerais, torna-se importante estimar o risco à saúde e ao meio ambiente do descarte inadequado de medicamentos, considerando efeitos a médio e longo prazo.

Quanto à remoção destes resíduos, existem variados estudos, merecendo destaque à questão dos hormônios femininos, principalmente o 17 α etinilestradiol e 17 β estradiol, que são excretados em sua forma inalterada na urina e que também chegam ao meio ambiente pelo descarte inadequado, causando danos ao meio ambiente. O uso veterinário destes hormônios vem contribuindo para o aumento deste tipo de contaminação. Para remoção da atividade estrogênica destes compostos, utiliza-se de processos oxidativos avançados (POA), processos estes que vêm apresentando bons resultados para o objetivo proposto de cessação da atividade biológica a eles atribuídas. Estes processos são definidos como a promoção de uma condição química que gere radicais hidroxila em quantidade suficiente para afetar uma molécula contaminante, de modo

Autor correspondente: Vitória Maria Krüger, Departamento de Farmácia, Universidade da Região de Joinville, Rua Paulo Malschitzki, 10 - Zona Industrial Norte, Joinville, SC, Brasil. E-mail: lucianohp.pq@gmail.com

a remover sua atividade biológica conhecida e promover assim o tratamento de purificação de água. Pelo ataque do radical hidroxila, se iniciam complexas reações em cascata que podem levar a mineralização de compostos orgânicos (Dalmázio, 2007).

Um dos processos empregados envolve o uso de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), devido ao seu alto poder oxidante, tanto na forma isolada como também na forma combinada à outras substâncias. Trata-se de um reagente amplamente empregado em diversas situações, como na obtenção de água potável. Esta aplicação em específico ocorre devido ao seu alto poder de degradação de compostos considerados poluentes em um espaço de tempo relativamente curto.

O H₂O₂ pode ser utilizado como agente oxidante sozinho ou combinado à radiação ultravioleta (UV). A radiação UV, junto ao peróxido de hidrogênio, aumenta a eficiência do processo oxidativo (Dalmázio, 2007). Entretanto, tal combinação (H₂O₂/UV) torna o processo mais dispendioso, o que abre espaço para pesquisas que utilizem apenas o peróxido de hidrogênio em condições variáveis de tempo e pH, e que objetivem encontrar condições mais favoráveis utilizando apenas este reagente.

Na remoção da atividade hormonal dos estradióis, estudos sugerem que há somente um encaixe perfeito de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol ao receptor de estrogênio, por meio do anel fenólico presente no esteróide, que compõe tanto o 17 β -estradiol quanto o 17 α -etinilestradiol. Um processo capaz de degradar ou alterar a parte fenólica das moléculas desses estrogênios pode ser efetivo na remoção da estrogenicidade ecotóxica indesejada (Ferreira, 2008). O H₂O₂ tem tal capacidade de degradar ou alterar a parte fenólica das moléculas pela oxidação que promove. Segundo Ferreira (2008), estudos demonstram que o processo oxidativo com H₂O₂ foi eficaz na degradação de fenóis, com eficácia de remoção em torno de 80%.

O pH é uma condição importante no processo de oxidação, que resulta em significativas alterações no processo de remoção de estrógenos em água. Em testes envolvendo ozônio, no pH 7,0 a remoção da estrogenicidade da água foi menor quando comparada ao pH 3,0. Também em pH 7,0, houve aumento da estrogenicidade e geração de uma quantidade maior de subprodutos intermediários formados pela oxidação via radical OH. Já em pH 3,0 houve a remoção total da atividade estrogênica das amostras, mesmo em baixas concentrações de oxidante.

Dentre os microorganismos utilizados em biotestes, têm-se as algas do gênero *Euglena gracillis*. Elas pertencem à classe das *Euglenophyceae*, sendo seres fotossintéticos encontradas tanto em ambientes marinhos como dulcícolas. O gênero *Euglena* possui características de plantas – autotrófico - e de animais - heterotrófico (Martins, 2009).

Elas apresentam muitos plastos contendo clorofilas e carotenos, e armazenam óleos e polissacarídeos como reserva. Ainda, utilizam carbono como fonte de energia (Vidotti & Rollemberg, 2012).

A espécie *Euglena* é um bioindicador de poluição orgânica, devido a sua ocorrência em tanques de oxidação de esgotos (Martins, 2009).

Portanto, estudos de alterações celulares e bioquímicas que ocorrem em *Euglenas* em diferentes condições ambientais têm sido empregados como parâmetros indicativos de mudanças ambientais por matéria orgânica, metais pesados e outros contaminantes como fármacos.

O problema a ser investigado está no que se diz respeito aos compostos formados a partir dos processos oxidativos envolvendo o uso de H₂O₂, e se estes podem ou não apresentar certo grau de ecotoxicidade aguda ou crônica ao meio ambiente. Não é propósito deste estudo avaliar apenas a eficiência da remoção, mas sim a possibilidade de formação de resíduos de igual ou pior ecotoxicidade que a molécula original de 17 α etinilestradiol e 17 β estradiol.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras contendo 5mg/ml de 17 β estradiol (reagente padrão do laboratório Sigma – Aldrich®) foram submetidas a processo oxidativo via peróxido de hidrogênio, utilizando 20mg/L deste oxidante para o tempo de 10 minutos, e 10 mg/L para o tempo de 20 minutos. A quantidade menor de oxidante para o tempo de 20 minutos se justifica pelos resultados já encontrados na literatura, pois trata-se de um tempo maior de exposição em que se tem maior chance de reação com menor gasto de reagentes (Vidotti & Rollemberg, 2012). Os testes foram realizados nos valores de pH 5,0 e 7,0 – sendo estes os de melhor desempenho na remoção (Pires, 2009). Os pHs foram ajustados utilizando H₂SO₄ concentrado para acidificar o meio e NaOH solução 1M para alcalinizar. Após a realização do processo, as amostras foram guardadas em geladeira para posterior análise. Para a detecção dos hormônios, foi promovida a extração da fase orgânica, conforme proposto por Araújo (2006) para posterior análise em Cromatografia Gasosa acoplada ao espectro de massa – CG-MS, obedecendo as condições propostas por Pires (2009). A quantidade de peróxido residual também foi medida utilizando permanganato de potássio, não sendo detectada em quantidade significativa.

Os experimentos ecotoxicológicos / comportamentais foram feitos utilizando os microorganismos para bioteste *Euglena gracillis*, utilizando a ferramenta de biomonitoramento em tempo real chamada NG-TOX, desenvolvida e homologada pela Ecobabitonga Tecnologia Ltda (Erzinger et al., 2011). A ferramenta monitorou, através de análise de imagem em tempo real, o comportamento das algas, usando diferentes parâmetros de movimento do flagelado unicelular fotossintetizante, nos diferentes tempos destinados à remoção, bem como nos diferentes valores de pH (Figura 3). Foram retiradas alíquotas de 1 ml de cada amostra, diluídas em 50 ml de água para a posterior análise.

As análises estatísticas neste estudo foram feitas pelo software ImagingTox®. Trata-se de um programa especialmente desenvolvido e escrito em plataforma Microsoft. *Net 64-bit*, multilíngue e banco de dados MS SQL Server. Possui sete *threads* (sendo uma principal, três para vídeo 1 e três para vídeo 2), dois serviços (um para controle de conexão PC e NG-TOX, e um de conexão e validação com o banco de dados), permitindo armazenamento de bioensaios realizados para “análise forense” e tela de exibição de resultados em tempo real. Os dados e informações obtidos e armazenados são criptografados. O ImagingTox® realiza análise estatística 5-PL integrada.

RESULTADOS

Os cromatogramas apresentaram que nas amostras que continham os hormônios houve a remoção dos mesmos, conforme demonstra as figuras que seguem:

Observa-se que na condição de pH igual a 5,0 não houve a identificação de 17 β estradiol durante a exposição de 20 minutos, sendo que no tempo correspondente a 10 minutos, tem-se ainda a detecção do hormônio, mostrando que nesta condição a remoção não foi completa (Figura 2).

Quanto à condição de pH igual a 7,0 – tanto no tempo de 10 minutos quanto no tempo de 20 minutos – não foi observada uma remoção total do hormônio, assim como a identificação de um intermediário formado nas duas condições (Figura 3).

Os parâmetros alterados nas algas *E. gracillis* foram: a velocidade de subida, a superfície e a velocidade de locomoção geral.

Conforme a Figura 4, a inibição da velocidade de subida permanece semelhante nas seguintes condições: (1) controle do pH 5,0 no - tempo 10 minutos, (2) controle do pH 7,0 - no tempo 10 minutos, e no teste pH 5,0 com peróxido de hidrogênio - no tempo 10 minutos. Já na condição teste envolvendo pH 7,0, os hormônios forma removidos com peróxido de hidrogênio, - no tempo 10 minutos, – no qual foi observado um comportamento diferente, com uma não inibição da velocidade de subida.

Na Figura 5, observa-se que a inibição da velocidade de subida nos controles do pH 5,0 e do pH 7,0 no tempo de 20 minutos permaneceu similar, sendo tal inibição em ambos os casos de aproximadamente 60%. No pH 7,0 com peróxido de hidrogênio no tempo 20 minutos, foi observado que, em comparação ao estado inicial das algas, houve inibição da velocidade de subida em cerca de 20%. Os resultados foram significativamente inferiores aos do controle – que continha apenas hormônios.

Na Figura 6, observa-se que houve inibição da velocidade de movimento médio geral dos microorganismos de 19% e 18% nos pHs 5,0 e 7,0, respectivamente, com tempo de 10 minutos dos ensaios controle. Porém, a inibição da velocidade de movimento médio geral foi menor se comparada à inibição da velocidade de subida. Nos pHs 5,0 e 7,0 com adição de peróxido de hidrogênio, no tempo de 10 minutos,

pode-se observar que não houve inibição da velocidade de movimento, mas sim, uma melhora de 25% em ambos pHs.

A Figura 7 sugere que no tempo de 20 minutos ocorreu inibição da velocidade de movimento médio geral em todos os pHs, sendo que no pH 5,0, com adição de peróxido, houve a maior inibição da velocidade de movimento médio geral com 77% de inibição. Já no pH 7,0 a inibição do controle foi semelhante à inibição da amostra contendo peróxido de hidrogênio, com inibição de 24% no controle e 25% na amostra com H₂O₂. O controle em pH 5,0 apresentou 22% de inibição da velocidade de movimento dos microorganismos.

A Tabela 1 é um resumo dos resultados encontrados. Como se pode observar tanto no pH 5,0 como no pH 7,0, para os controles houve inibição dos microorganismos no sentido de velocidade de subida para a superfície e na velocidade geral da *E. gracillis*. Em pH 5,0, – no tempo de 10 minutos, – houve inibição da velocidade de subida, mas não houve inibição da velocidade geral do microorganismo. Já no pH 5,0, no – tempo de 20 minutos, – não ocorreu inibição da velocidade de subida para a superfície, mas ocorreu inibição da velocidade geral.

Tabela 1: Resumo dos resultados

| pH | Condição do teste (min) | Remoção | Intermediário | Velocidade de subida | Velocidade geral |
|----|-------------------------|------------|---------------|----------------------|------------------|
| 5 | Controle | - | - | Inibição | Inibição |
| 5 | 10' teste | Incompleta | Não detectado | Inibição | Sem inibição |
| 5 | 20' teste | Total | Não detectado | Sem inibição | Inibição |
| 7 | Controle | - | - | Inibição | Inibição |
| 7 | 10' teste | Incompleta | Detectado | Sem inibição | Sem inibição |
| 7 | 20' teste | Incompleta | Detectado | Inibição | Inibição |

Para o pH 7,0, no - tempo de 10 minutos, – não houve inibição da velocidade de subida, nem inibição da velocidade geral. No pH 7,0, no – tempo de 20 minutos, - ocorreu o contrário. Houve inibição da velocidade de subida e também houve inibição da velocidade geral do microorganismo.

DISCUSSÃO

A primeira etapa das análises teve como objetivo avaliar se houve a remoção esperada dos estrógenos nas amostras estudadas. Os testes apresentaram a remoção esperada dentro do que havia na literatura quanto aos procedimentos. Esta etapa permitiu a obtenção de amostras que apresentavam a remoção de estrógenos em tempos diferentes, mas com o objeto de estudo deste trabalho: os resíduos formados em diferentes formas de conduzir este processo e o seus possíveis riscos ambientais. Vale ressaltar que a maioria dos procedimentos de remoção são altamente eficazes na remoção química da molécula, mas pouco se avalia sobre o que pode ser formado a partir de então.

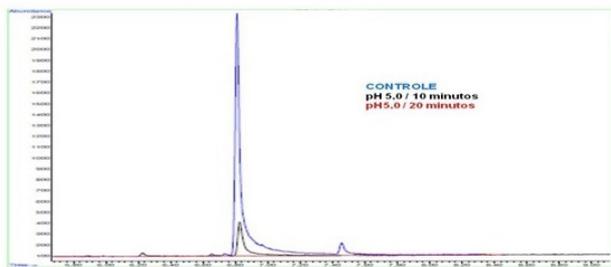


Figura 1. Cromatograma das amostras submetidas a oxidação e controle nas condições de pH igual a 5,0. Tempos de 10 e 20 minutos.

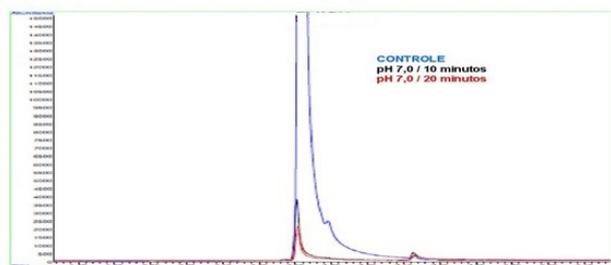


Figura 2. Cromatograma das amostras submetidas a oxidação e controle nas condições de pH igual a 7,0. Tempos de 10 e 20 minutos.

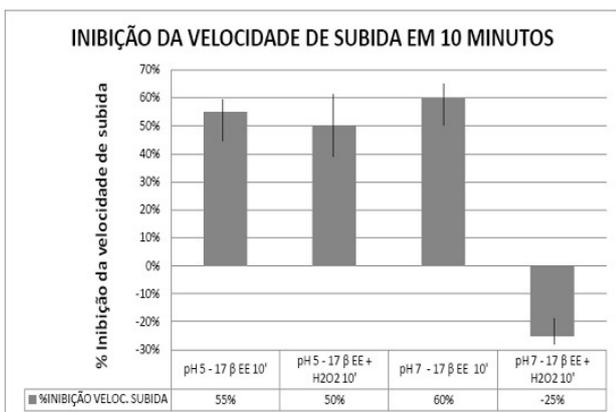


Figura 3. Inibição da velocidade de subida a superfície frente à exposição ao hormônio 17β estradiol e aos produtos pós adição de peróxido de hidrogênio no tempo de 10 minutos.

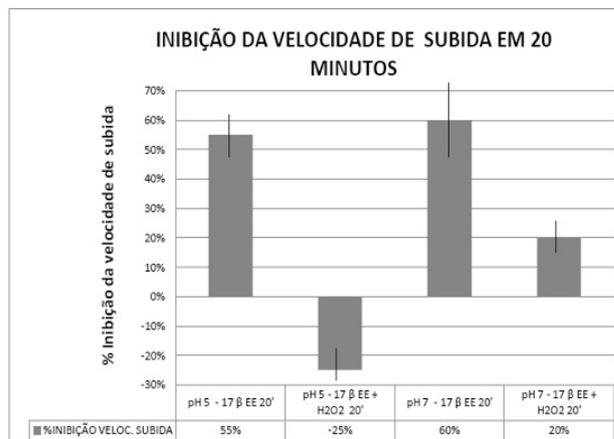


Figura 4. Inibição da velocidade subida a superfície frente à exposição ao hormônio 17β estradiol e aos produtos pós adição de peróxido de hidrogênio no tempo de 20 minutos. As barras denotam intervalo de confiança de 95% em torno da média (P<0,005). Gráficos gerados pelo sistema ImagingTox. Teste realizado em duplicata.

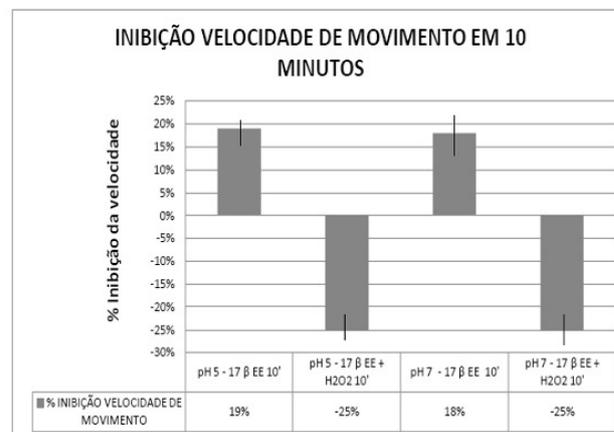


Figura 5. Inibição da velocidade média celular frente à exposição ao hormônio 17β estradiol e aos produtos pós adição de peróxido de hidrogênio no tempo de 10 minutos. As barras denotam intervalo de confiança de 95% em torno da média (P<0,005). Gráficos gerados pelo sistema ImagingTox. Teste realizado em duplicata.

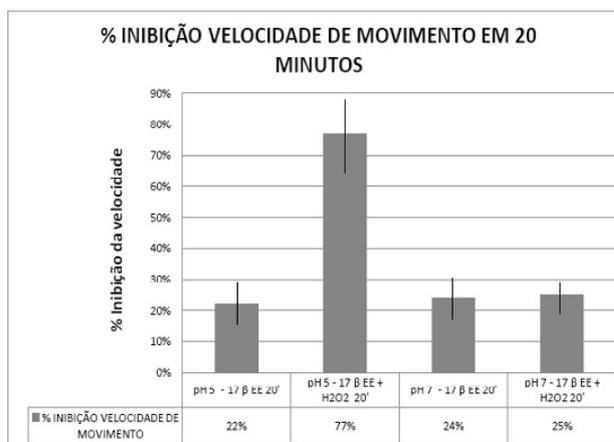


Figura 6. Inibição da velocidade média celular frente à exposição ao hormônio 17β estradiol e aos produtos pós adição de peróxido de hidrogênio no tempo de 20 minutos. As barras denotam intervalo de confiança de 95% em torno da média (P<0,005). Gráficos gerados pelo sistema ImagingTox. Teste realizado em duplicata.

Na Figura 2, observa-se que na condição de pH igual a 5,0 não houve a identificação de 17 β estradiol durante a exposição de 20 minutos, sendo que no tempo correspondente a 10 minutos, tem-se ainda a detecção do hormônio, mostrando que nesta condição a remoção não foi completa. Isto evidencia o que já havia sido apontado por Pires⁸, no qual se referia a necessidade de menor quantidade de reagente para um processo mais eficaz, considerando um tempo maior de exposição. Este dado demonstra que trata-se do processo mais eficiente em termos de remoção, e que a priori seria um dos mais indicados para o emprego da eliminação do produto de risco ambiental, classificado pelos autores deste trabalho como primário.

Na Figura 3 verifica-se que quanto a condição de pH igual a 7,0 – tanto no tempo de 10 minutos quanto no tempo de 20 minutos – não se observa uma remoção total do hormônio, assim como a identificação de um intermediário formado nas duas condições. Em termos de remoção, esta condição não aparenta ser a mais indicada pela detecção dos hormônios pós-processo (Tabela 1). Tal resultado não credenciaria este método como útil, mas sua análise neste estudo deu-se pela necessidade de verificar o seu potencial de risco ecotoxicológico, comparando com a condição inicialmente citada, para assim apontar um outro parâmetro para o estudo dos processos oxidativos: o risco dos resíduos formados de serem também potencialmente tóxicos, e a ponderação de tal condição como critério de escolha do processo, não se limitando apenas a remoção em si do contaminante.

Os testes de biomonitoramento apontaram para diferentes comportamentos, não existindo um padrão definido nas amostras pós-descontaminação. Os parâmetros alterados nas algas *E. gracillis* foram: a velocidade de subida a superfície e velocidade de locomoção geral. Isto demonstra que o tempo de reação, e o pH envolvido levaram à condições que contribuíram para formação de intermediários químicos distintos, e que influenciaram de forma distintas nos microorganismos utilizados no teste. Isto reforça a ideia de que não se pode ater a eficiência, nem os riscos dos resíduos.

Conforme a Figura 3, a inibição da velocidade de subida permanece semelhante nas seguintes condições: (1) controle do pH 5,0 no - tempo 10 minutos (2) controle do pH 7,0 - no tempo 10 minutos, e no teste pH 5 com peróxido de hidrogênio - no tempo 10 minutos. Já na condição teste envolvendo pH 7,0, tendo-se hormônios removidos com peróxido de hidrogênio, no - tempo 10 minutos, - observou-se um comportamento diferente, com uma não inibição da velocidade de subida.

A inibição da velocidade de subida já foi um fenômeno observado e atribuído aos estrógenos em estudo realizado por Pinto (2012). Tal situação está diretamente envolvida com a utilização destes hormônios como fonte de carbono e pelas características de lipofilia destes compostos, ou seja, como microorganismos que utilizam de carbono para obtenção de energia, a formação de compostos orgânicos mais simples, a partir de uma molécula mais

complexa (no caso o 17 β estradiol) influi na capacidade de uso destes compostos, pois moléculas carbônicas mais simples não necessitariam ser metabolizadas, como acontece com as complexas. Isto levaria a uma abundância de fonte de carbono simples, provenientes da reação de oxidação, o que influenciaria nas atividades das algas, como a velocidade de subida.

O 17 β estradiol é um composto altamente lipofílico, sendo praticamente insolúvel em água. As algas *E. gracillis* possuem a capacidade de armazenar compostos lipofílicos em seu interior para reserva energética, fato este já demonstrado por Reviere (Reviere, 2006). A inibição da velocidade de subida pode estar associada ao fato de 17 β estradiol não apresentar as condições exigidas para ser uma fonte ideal de carbono, devido a sua complexidade estrutural, visto que, segundo explicado anteriormente, as *E. gracillis* preferem fontes menos complexas em estrutura, como etanol e glicose para obtenção de energia (Fujita et al., 2008).

O fenômeno observado na condição pH 7,0, no tempo 10 minutos via presença de peróxido de hidrogênio, – é que nesta condição pode ter ocorrido a formação de um intermediário menos complexo do ponto de vista estrutural, que se tornou uma fonte útil de carbono mais aproveitável e para formação de energia, o que refletiu na sua mobilidade. Nesta condição, além da remoção, poderia haver a formação de intermediários que não interfeririam na velocidade de subida de forma negativa e, conseqüentemente, na fotossíntese.

Estes fenômenos ligados à alteração da velocidade podem não significar toxicidade aguda ou risco imediato, mas é um alerta para alterações futuras. A velocidade de subida à superfície está diretamente relacionada com a fotossíntese, pois se trata de um comportamento que visa a busca de energia luminosa no local onde esta é mais acessível. Organismos que não conseguem chegar à superfície, tendem a ter complicações fotossintéticas (Hader & Lebert, 1985). Quanto mais lenta for a velocidade de subida de uma população de algas, mas riscos ela pode apresentar para a sua sobrevivência, e a sua diminuição ou ausência influencia na quantidade de oxigênio produzida, visto que as algas são grande produtoras de oxigênio. Pelo contrário, uma velocidade aumentada pode levar a uma melhor eficiência, o que pode aumentar a população de algas, que também geraria um desequilíbrio em outros níveis tróficos.

Na Figura 5, observa-se que a inibição da velocidade de subida nos controles do pH 5,0 e do pH 7,0 no tempo de 20 minutos permaneceu similar. No pH 7,0, com peróxido de hidrogênio, no tempo 20 minutos, percebe-se que em comparação ao estado inicial das algas, houve inibição da velocidade de subida em cerca de 20%. Os resultados foram significativamente inferiores aos do controle – que continha apenas hormônios.

No pH 5,0 - 20 minutos com peróxido - os produtos da degradação dos estrógenos não promoveram inibição da velocidade de subida por provavelmente formarem

compostos menos complexos e mais indicados para serem fontes de carbono.

Na Figura 6, observa-se a inibição da velocidade de movimento médio geral dos microorganismos, de 19% e 18% nos pHs 5,0 e 7,0, respectivamente, no tempo de 10 minutos dos ensaios controle. Porém, a inibição da velocidade de movimento médio geral foi menor se comparada à inibição da velocidade de subida. Nos pHs 5,0 e 7,0 com adição de peróxido de hidrogênio, no tempo de 10 minutos, pode-se observar que não houve inibição da velocidade de movimento, mas sim uma melhora de 25% em ambos pHs, o que indica que não ocorreu a formação de subproduto de interferência neste tipo de comportamento. Vale ressaltar que a diferença entre a velocidade de subida e a velocidade de movimento médio geral se distinguem no gasto energético envolvido. A velocidade de subida à superfície exige um movimento contra o sentido da força gravitacional, o que exige maior gasto energético pois requer superar essa força contrária ao movimento desejado (Hader & Lebert, 1985; Pleakhov & Chemeris, 2008), fenômeno esse que não acontece em velocidades de movimentos que não existem forças oponentes.

Em termos de biomonitoramento de risco ecotoxicológico, a velocidade de subida à superfície assume um papel importante quando comparado à velocidade média geral, pois existem indícios de que a atividade fotossintética poderá ser comprometida caso o contaminante persista ou caso a alga não consiga se adaptar a esta adversidade (Ekelund & Nilsson, 2008). Em caso de adaptação, não há risco ecotoxicológico. Em termos de decisão sobre a avaliação de impacto ambiental, este parâmetro é extremamente útil, pois direciona para a necessidade de tomadas de decisões que visem novas análises de risco ambiental (Azevedo, 2003).

A Figura 7 sugere que no tempo de 20 minutos ocorreu inibição da velocidade de movimento médio geral em todos os pHs, sendo que no pH 5,0, com adição de peróxido, houve a maior inibição da velocidade de movimento médio geral, com 77% de inibição, indicando que esta é a pior condição para o processo, pois sugere que houve a maior formação de intermediário pós-processo oxidativo. Já no pH 7,0, a inibição do controle foi semelhante a inibição da amostra contendo peróxido de hidrogênio, com inibição de 24% no controle e 25% na amostra com H₂O₂. O controle em pH 5,0 apresentou 22% de inibição da velocidade de movimento dos microorganismos.

A tabela 1 é um resumo dos resultados encontrados, no qual mudanças comportamentais foram observadas e indícios de riscos podem ser levantados, o que demonstra que os resíduos apresentam alguma atividade no meio ambiente que merece ser avaliada, e questões relativas a ecotoxicidade devem ser pautadas em estudos envolvendo processos oxidativos que removam medicamentos, e não se limitar apenas à eficiência da remoção da molécula contaminante.

Esses resultados sugerem que a melhor condição para utilização do processo é o pH 7,0 no tempo de 10

minutos. A condição menos favorável do ponto de vista de risco ambiental seria a que envolve o pH 7,0 no tempo de 20 minutos. Visto que, a inibição da velocidade de subida e a inibição da velocidade de movimento médio geral interferem negativamente no desenvolvimento da *E. gracillis*, por comprometimento da fotossíntese.

CONCLUSÃO

Ao concluir as análises, pode-se observar que houve um bom rendimento nos processos de remoção de estrógeno. Nas condições pH 5,0, no tempo de 20 minutos, verificou-se uma melhor remoção de estrógenos. A remoção do hormônio impediu a inibição do sentido do movimento para superfície, fenômeno este que ocorre na presença do 17 β estradiol. A remoção foi positiva para a atividade fotossintética do organismo, podendo evitar algum risco ecotoxicológico crônico do 17 β estradiol. Já em pH 7,0, no tempo de 20 minutos, o rendimento foi menor e ainda, observou-se alterações comportamentais dos microorganismos, indicando que houve um maior risco de ação ecotóxica dos produtos formados nessas condições. A remoção de estrogênio pode implicar em variação da atividade estrogênica, porém, os subprodutos formados podem ter ações sobre os microorganismos e influenciar no equilíbrio ambiental. A realização de outros testes de ecotoxicidade crônica fazem-se necessários, principalmente em condições similares a que foi encontrada em pH 7,0, no tempo de 20 minutos. Testes com *Daphnia* e com outros organismos de nível trófico superior podem ser conclusivos quanto ao real risco ecotoxicológico que os testes de biomonitoramento deste trabalho apontam.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial a Universidade da Região de Joinville, que, através de seu fundo de pesquisa FAP, possibilitou a execução deste projeto, e ao CNPQ que fomentou o projeto através da chamada universal.

Ao Programa de Pós Graduação em Saúde e Meio Ambiente da UNIVILLE

ABSTRACT

Assessment of potential ecotoxicological risk from products of estradiol 17 β after process of oxidation with hydrogen peroxide for environmental removal of this hormone

The increasing disposal of medicines into the environment has increased concern about the possible environmental impact of such actions, in both the medium and long term. Estrogens have been found in soil, surface water and groundwater. The aim of this study was to assess the ecotoxicity of chemical residues originating from in situ oxidation of 17 β estradiol with hydrogen peroxide, a process of chemical remediation which is used to remove these hormones in acetone

solution, at various pHs. Analyses were carried out by high resolution gas chromatography and a bioassay in which the single-cell species *Euglena gracilis* was the test organism. The results were obtained by comparing analyses done before and after the AOP (advanced oxidation process). It was observed that at pH 5.0, with a treatment time of 20 minutes, there was a good yield, but with some change in the behavior of the test organism. With a pH of 7.0, with 20 minutes time, the yield was low but there was no demonstration of ecotoxicological activity.

Keyword: Estrogen. Advanced oxidation processes. Emerging pollutants. Hydrogen peroxide. Ecotoxicity.

REFERÊNCIAS

- Araújo J C. Estudo da eficiência do tratamento de efluentes domésticos da cidade de Araraquara-SP na remoção de hormônios sexuais. [Dissertação] – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo; 2006.
- Azevedo F A, Chasin A A. M. As Bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Paulo: Intertox; 2003.
- Bila, D M; Dezotti, M. Fármacos no meio ambiente. Química Nova [Internet] 2003 [citado em 22/06/2012] vol.36, n4. 523-530. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v26n4/16435.pdf>.
- Dalmázio I. Aplicação da espectrometria de massa com ionização electrospray no monitoramento de processos oxidativos avançados de interesse ambiental: degradação de fármacos, avaliação de sistemas oxidativos e oxidação do isopreno [Tese]. Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte; 2007.
- Ekelund NGA, Nilsson L. Effects of estrogenic substances on the movement of *Euglena gracilis* Verh. [Internet] 2008 [citado 22/06/2012]. Verein. Limnol. 2008, vol. 30, Part 2, p.
- Erzinger GS, Del Ciampo & Häder DP. Equipamento e processo para análise de toxicidade em sistemas aquáticos. Instituto nacional de propriedade industrial – inpi. N°. 0000221105523696. 2011.
- Ferreira M G M. Remoção da atividade estrogênica de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol pelos processos de ozonização e O₃/H₂O₂. [Tese] Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008.
- Fujita, T.; James C. Hideo T. Effects of reactive oxygen species on α -tocopherol production in mitochondria and chloroplasts of *Euglena gracilis*. J Appl Phycol [Internet]. 2008 [citado 22/06/2012]; 21:185–191. Available from www.springerlink.com. DOI: 10.1007/s10811-008-9349-x.
- Häder, D-P.; Lebert, M. Real time computer controlled tracking of motile microorganisms. Pubmed – indexado por Medline [Internet] 1985 [citado 15/08/2012]; v. 42, p. 509-514.
- Martins AVC. Caracterização molecular e morfológica de isolados brasileiros do gênero *Euglena* [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2009 [acesso 2012 fev. 15]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42135/tde-16072009-151925/>.
- Pinto, L.H. Estudo das alterações promovidas pelos hormônios 17 α etinilestradiol e 17 β estradiol na atividade fotossintética e no comportamento das algas do gênero *Euglenas gracillis*. [Dissertação]. Joinville, Universidade da Região de Joinville, UNIVILLE; 2012.
- Pires J. Avaliação do processo oxidativo avançado H₂O₂ na remoção do hormônio 17- β -estradiol presente em efluente de produção de medicamentos hormonais de uso veterinário. [Dissertação]. Universidade de Ribeirão Preto; 2009.
- Plekhanov, S. E. & Chemeris, Y. K. Early effect of sodium pentachlorophenate on photosynthetic activity of the alga *Chlorella pyrenoidosa* Chick S-39. Plant Physiol. [Internet] 2008 [citado 15/08/2012]. 35, 248-254.
- Reviere, B. de. Biologia e filogenia das algas. Porto Alegre: Artmed, 2006. p.280.
- Valcárcel Y, González Alonso S, Rodriguez-Gil JL, Romo R, Gil A, Catalá M. Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic drugs in fluvial and drinking water of the Madrid Region in Spain. Chemosphere [Internet] 2011 [citado 2012 jun. 22]; 82(7):1062-71.
- Vidotti E C, Rollemberg M C E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. Rev Quím Nova [Internet] 2004 [citado 2012 jun. 22]; 27(1):139-45. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422004000100024&lng=en&tlng=pt.
- Zagatto P A. Ecotoxicologia. In: Zagatto P A, Bertoletti E. (Editores.) Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. 2. ed. São Carlos: RiMa; 2008. p. 1-13.

Recebido em 10 de abril de 2013

Aceito em 18 de setembro de 2013

