

Avaliação da Atividade Estrogênica na Bacia do Rio Guandu (Rj): Uma Década de Observações Ambientais

Allan dos Santos Argolo¹; Júlia Paiva Almeida¹; Vanessa Lins da Silva¹; Louise da Cruz Felix¹; Giselle Gomes²; Daniele Maia Bila¹

✉ argolo.allan@posgraduacao.uerj.br

1. Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Maracanã, Rio de Janeiro – Brasil

2. Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago – Aveiro, Portugal

Histórico do Artigo: O autor detém os direitos autorais deste artigo.

Recebido em: Outubro de 2025

Aceito em: Novembro de 2025

Publicado em: Dezembro de 2025

Resumo: O Rio Guandu é um dos principais mananciais do estado do Rio de Janeiro, embora enfrente uma pressão ambiental devido a poluição associada à falta de saneamento. Efluentes domésticos e industriais aportam uma mistura de poluentes que não são completamente removidos pelos sistemas de tratamento convencionais, incluindo desreguladores endócrinos estrogênicos. Neste contexto, aplicou-se o bioensaio *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES) para avaliar a presença de micropoluentes em amostras de água superficial da bacia do Rio Guandu através de sua atividade estrogênica. Considerou-se tanto a fase dissolvida quanto o material particulado suspenso (MPS), permitindo uma avaliação abrangente da amostra. Os resultados foram comparados a estudos no Rio Guandu realizados na década anterior e tiveram sua significância ambiental interpretada segundo o valor de EBT (*effect-based trigger*) de 1,17 ng L⁻¹, que indica o limiar de segurança para o ecossistema aquático avaliado com o ensaio YES. Os resultados indicam elevada atividade estrogênica, com equivalente-estradiol (EQ-E2) de até 21,5 ng L⁻¹ no Rio Guandu. A quase totalidade das amostras excederam o valor de EBT, sugerindo possível risco ao ecossistema aquático. A fase dissolvida foi responsável pela maior fração da atividade estrogênica total e a análise comparativa indica ainda uma piora na qualidade da água no curso do Rio Guandu, com aumento da mediana de EQ-E2. Os resultados reforçam a urgência do controle da poluição na região, bem como a relevância do monitoramento ambiental abrangente, contribuindo para o entendimento da evolução da contaminação por estrogênios no Rio Guandu ao longo da última década.

Palavras-chave: Desreguladores Endócrinos, Micropoluentes, Água superficial, Bioensaio *in vitro*, *Yeast Estrogen Screen*, Monitoramento Ambiental.

Assessment of Estrogenic Activity in the Guandu River Basin (Rj): A Decade of Environmental Observations

Abstract: The Guandu River is one of the main water sources in the Rio de Janeiro State, although it faces environmental pressure due to pollution associated with poor sanitation. Domestic and industrial effluents carry a mixture of pollutants that are not completely removed by conventional treatment systems, including estrogenic endocrine disruptors. In this context, the *in vitro* Yeast Estrogen Screen (YES) bioassay was applied to assess the presence of micropollutants in surface water samples from the Guandu River basin via their estrogenic activity. Both the dissolved phase and suspended particulate matter (SPM) were considered, allowing a comprehensive evaluation of the sample. The results were compared to studies on the Guandu River conducted in the previous decade, and their environmental significance was interpreted based on the effect-based trigger (EBT) value of 1.17 ng L⁻¹, which indicates the safety threshold for the aquatic ecosystem assessed with the YES assay. The results indicate high estrogenic activity, with estradiol equivalent (EQ-E2) levels of up to 21.5 ng L⁻¹ in the Guandu River. Almost all samples exceeded the EBT value, suggesting a potential risk to the aquatic ecosystem. The dissolved phase accounted for the largest fraction of the total estrogenic activity, and comparative analysis also indicates a worsening of water quality in the Guandu River, with an increase in the median EQ-E2. The results reinforce the urgency of pollution control in the region, as well as the importance of comprehensive environmental monitoring, and aids to understand the evolution of estrogen contamination in the Guandu River over the last decade.

Keywords: Endocrine Disruptors, Micropollutants, Surface Water, In Vitro Bioassay, Yeast Estrogen Screen, Environmental Monitoring.

Evaluación de la Actividad Estrógena en la Cuenca del Río Guandu (Rj): Una Década de Observaciones Ambientales

Resumen: El río Guandu es una de las principales fuentes de agua en el estado de Río de Janeiro, aunque enfrenta presión ambiental debido a la contaminación asociada con el saneamiento deficiente. Los efluentes domésticos e industriales aportan una mezcla de contaminantes que no se eliminan completamente mediante los sistemas de tratamiento convencionales, incluidos los disruptores endocrinos estrogénicos. En este contexto, se aplicó el bioensayo *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES) para evaluar la presencia de microcontaminantes en muestras de agua superficial de la cuenca del río Guandu a través de su actividad estrogénica. Se consideraron tanto la fase disuelta como la materia particulada suspendida (SPM), lo que permitió una evaluación integral de la muestra. Los resultados se compararon con estudios sobre el río Guandu realizados en la década anterior, y su significancia ambiental se interpretó con base en el valor EBT (*effect-based trigger*) de $1,17 \text{ ng L}^{-1}$, que indica el umbral de seguridad para el ecosistema acuático evaluado con el ensayo YES. Los resultados indican una alta actividad estrogénica, con niveles de equivalente de estradiol (EQ-E2) de hasta $21,5 \text{ ng L}^{-1}$ en el río Guandu. Casi todas las muestras superaron el valor de EBT, lo que sugiere un riesgo potencial para el ecosistema acuático. La fase disuelta representó la mayor fracción de la actividad estrogénica total, y el análisis comparativo también indica un empeoramiento de la calidad del agua en el río Guandu, con un aumento en la mediana de EQ-E2. Los resultados refuerzan la urgencia del control de la contaminación en la región, así como la importancia de un monitoreo ambiental integral, lo que contribuye a comprender la evolución de la contaminación por estrógenos en el río Guandu durante la última década.

Palabras clave: Disruptores endocrinos, Microcontaminantes, Aguas superficiales, Bioensayo *in vitro*, *Yeast Estrogen Screen*, Monitoreo ambiental.

INTRODUÇÃO

O Rio Guandu é um dos principais mananciais do estado do Rio de Janeiro, sendo a fonte de água de mais de 9 milhões de habitantes. Desta maneira, a Estação de Tratamento de Água (ETA) Guandu fornece cerca de 80% da água potável para a região metropolitana do Rio de Janeiro (CEDAE, 2025).

Apesar da importância deste manancial, o Rio Guandu tem enfrentado graves problemas ambientais, como eutrofização. Este cenário ocorre devido aos altos níveis de poluição causados, principalmente, pelo crescimento demográfico e industrial na região, bem como pela ineficiência dos serviços de saneamento básico (BACHA *et al.*, 2022). Efluentes domésticos e industriais lançados nos corpos hídricos *in natura* ou após tratamento incompleto podem contribuir com o aporte de Desreguladores Endócrinos (DEs), impactando a qualidade das águas e o equilíbrio do ecossistema aquático (METCALFE *et al.*, 2022a). Os DEs são substâncias exógenas que causam alterações no funcionamento do sistema endócrino de seres vivos, causando efeitos adversos para a saúde do organismo exposto, de sua progênie ou de (sub)populações (WHO, 2012). Vale ressaltar que estas substâncias, mesmo em baixas concentrações, da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , podem causar efeito adverso (BILA e DEZOTTI, 2007).

O sistema endócrino é responsável pela produção de hormônios – substâncias químicas com funções essenciais para o funcionamento dos organismos (KATZUNG *et al.*, 2014). Especial

atenção tem sido dada no âmbito ambiental e toxicológico aos desreguladores endócrinos estrogênicos, isto é, aqueles que interferem no eixo estrogênico do sistema endócrino (ROBITAILLE *et al.*, 2022). Estes podem ser agrupados em duas classes: (I) naturais, que engloba hormônios femininos e fitoestrogênios e (II) sintéticas, compreendendo alguns tipos de pesticidas e seus subprodutos, dioxinas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, ftalatos, bisfenol-A, metais e fármacos (BILA e DEZOTTI, 2007; KABIR *et al.*, 2015).

Nesse contexto, a literatura científica alerta para o potencial de DEs em provocar efeitos adversos aos seres vivos (MARLATT *et al.*, 2022; VILELA *et al.* 2018). Na perspectiva animal, têm sido observadas consequências como a diminuição na eclosão de ovos de pássaros, peixes e tartarugas; feminização de peixes machos; problemas no sistema reprodutivo em peixes, répteis, pássaros e mamíferos; e alterações no sistema imunológico de mamíferos marinhos (VILELA *et al.*, 2018). Em alguns casos, tais efeitos podem levar ao declínio da população (MARLATT *et al.*, 2022). No caso dos seres humanos, os efeitos relatados incluem a redução da contagem de esperma; aumento da incidência de câncer de mama, testículo e próstata; endometriose, síndrome do ovário policístico; e aumento da liberação de prolactina em mulheres (VILELA *et al.*, 2018).

As reduzidas concentrações ambientais das substâncias estrogênicas constituem um desafio analítico para sua detecção e quantificação em matrizes complexas (METCALFE *et al.*, 2022b). Neste contexto, bioensaios *in vitro* são apontados como métodos alternativos para avaliação dessa classe de substâncias, possuindo mecanismos de ação específicos para detecção e quantificação do efeito da mistura de micropoluentes (ESCHER *et al.*, 2021). Segundo Wangmo *et al.* (2018), a vasta gama de bioensaios *in vitro* para avaliação de atividade estrogênica inclui ensaios de ligante, como ELRA e ELISA, ensaios de proliferação de células, como o *E-screen* com células do carcinoma humano MCF-7, e ensaios com gene repórter, que consistem na transfecção de um construto repórter em células de mamíferos ou leveduras.

No caso de ensaios com células de mamífero, há aqueles com receptor de estrogênio endógeno, como o ensaio MELN com células MCF-7 e T47D-KBluc e T47Dluc com células T47D, e aqueles cujas células não contêm o receptor de estrogênio endógeno, necessitando da transfecção tanto de um construto de expressão do receptor de estrogênio, quanto de um construto repórter para o elemento de resposta de estrogênio (ERE) (ROBITAILLE *et al.*, 2022; WANGMO *et al.*, 2018). São exemplos o ensaio ER-CALUX[®], com células de osteosarcoma U2-OS, o ensaio ER-GeneBLAzer, com células de rim embrionárias humanas HEK293, e aquele com a linhagem hER α -HeLa-9903. Neste grupo, existem ainda ensaios com leveduras, disponíveis com

estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* (YES), *Arxula adenivorans* (A-YES) e *Photorhabdus luminescens* (BLYES) (ROBITAILLE *et al.*, 2022; WANGMO *et al.*, 2018).

O bioensaio *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES) destaca-se pela capacidade de detectar e quantificar a atividade estrogênica de DEs em amostras ambientais, constituindo uma ferramenta para prever a possibilidade de efeitos em organismos expostos; compreender os mecanismos de ação envolvidos (GOMES *et al.*, 2023). Além de ser de fácil aplicação para o monitoramento de compostos estrogênicos e seus efeitos no ambiente, o ensaio apresenta elevada reprodutibilidade, repetibilidade e sensibilidade em relação às matrizes ambientais (GOMES *et al.*, 2023).

Para amostras ambientais, as respostas de atividade estrogênica obtidas através de bioensaios *in vitro* são usualmente traduzidas em termos de concentração equivalente-estradiol (EQ-E2), que relaciona o efeito do hormônio 17 β -estradiol como substância de referência ao efeito induzido pela mistura de substâncias contida na amostra (ESCHER *et al.*, 2021). Este resultado pode ser interpretado por meio da comparação com valores de concentração limite baseada em efeito (*effect-based trigger value* - EBT) específicos para cada ensaio (NEALE *et al.*, 2023a). Desta forma, amostras com EQ-E2 superior ao valor de EBT tem probabilidade aumentada de induzir um efeito adverso. Valores de EBT estão disponíveis para diversos ensaios e *endpoints* e podem ser aplicados no gerenciamento de recursos hídricos e normativas regulatórias, para proteção de ecossistemas aquáticos, incluindo a saúde humana (NEALE *et al.*, 2023b).

Ao longo da última década, diversos estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar a qualidade da água e os impactos ambientais no Rio Guandu, incluindo aqueles destinados a determinar a ocorrência de micropoluentes estrogênicos (SILVA, 2015; LICURGO, 2016). Essas pesquisas apontaram a contaminação do manancial, atribuída principalmente ao lançamento de efluentes domésticos e industriais, o que contribui para a degradação da qualidade da água (SOTERO-MARTINS *et al.*, 2021). Diante desse contexto de poluição contínua, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade estrogênica de águas superficiais em um trecho da bacia do Rio Guandu, no estado do Rio de Janeiro, por meio do ensaio *in vitro* *Yeast Estrogen Screen* (YES), realizando uma análise comparativa dos dados de monitoramento obtidos ao longo da última década.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Todos os reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Pureza > 98%) e os solventes utilizados (Grau HPLC) foram adquiridos da Tedia. A água ultrapura foi obtida de um sistema Milli-Q Biocell (Millipore). A solução-estoque de 17β -estradiol foi preparada na concentração de $54,48 \mu\text{g L}^{-1}$ em etanol e armazenada a 4°C .

Área de estudo

A área de estudo compreende um recorte da bacia hidrográfica do Rio Guandu, localizado no estado do Rio de Janeiro (Figura 1). A bacia hidrográfica do Rio Guandu drena uma área de aproximadamente 1385 km^2 e é formada pelo Ribeirão das Lajes que, após confluência com o Rio Santana, passa a se chamar Rio Guandu, com extensão total de 48 km até a foz na Baía de Sepetiba.



Figura 1: Área de estudo e localização dos pontos de coleta de amostra nos rios Guandu (G1, Q2 e G3), Poços (P1) e Queimados (Q1). São ilustrados em azul o curso do rio principal e em roxo o curso dos afluentes.

Fonte: Elaboração própria

Devido à transposição do Rio Paraíba do Sul, o Rio Guandu possui elevada vazão, com valores nominais de 207 e $139 \text{ m}^3/\text{s}$ nas estações chuvosa e seca de 2023. Desta forma, o Rio Guandu é um dos principais mananciais do estado do Rio de Janeiro, sendo a fonte responsável pelo abastecimento de aproximadamente 10 milhões de pessoas na região metropolitana do Rio de Janeiro.

O crescimento demográfico e industrial na região, aliado a uma falta de saneamento básico, tem sido motivo de preocupação, em especial quanto a qualidade da água bruta afluyente

à Estação de Tratamento de Água (ETA) Guandu (BACHA *et al.*, 2022). A qualidade da água bruta coletada no Rio Guandu é notadamente impactada pelos rios Poços, Queimados e Ipiranga, que desaguam na lagoa formada pela barragem na tomada d'água da ETA Guandu (Figura 1). Estes rios recebem constante despejo de efluentes domésticos e industriais, contribuindo com elevada carga orgânica que, eventualmente, favorece a eutrofização e a floração de cianobactérias na lagoa (SOTERO-MARTINS *et al.*, 2021). Portanto, a poluição da água bruta é um fator de pressão nos recursos hídricos que não pode ser desconsiderado na avaliação da segurança hídrica na região (FORMIGA-JOHNSSON e BRITTO, 2020).

Para obter um panorama da qualidade da água bruta, foram selecionados pontos de amostragem na bacia localizados a montante da captação da ETA Guandu, nos Rios Guandu (G1), Poços (P1) e Queimados (Q1) (Figura 1 e Tabela 1). Foram também selecionados dois pontos no Rio Guandu a jusante da captação, um logo após a barragem principal (G2) e outro no Canal de São Francisco (G3), próximo ao distrito industrial de Santa Cruz (Figura 1 e Tabela 1).

Tabela 1 – Identificação e coordenadas geográficas dos pontos de coleta de amostra na Bacia do Rio Guandu e sua posição relativa à tomada d'água da Estação de Tratamento de Água Guandu.

Ponto	Corpo Hídrico	Coordenadas	Posição relativa
G1	Rio Guandu	22°43'40"S 43°38'26"W	A montante da ETA Guandu
P1	Rio Poços	22°43'46"S 43°37'47"W	
Q1	Rio Queimados	22°43'49"S 43°32'32"W	
G2	Rio Guandu	22°43'41"S 43°37'43"W	A jusante da ETA Guandu
G3	Rio Guandu	22°53'43"S 43°43'54"W	

Fonte: Elaboração própria

Coleta e preparo de amostra

Foram realizadas 5 campanhas de coleta de amostra entre janeiro e julho de 2023 compreendendo as estações chuvosa e seca. Amostras de água superficial foram coletadas em frascos de vidro âmbar de 1L, previamente descontaminados. Os volumes coletados foram acidificados com HCl até pH 2, e o preparo das amostras foi iniciado em até 24h após a coleta, conforme descrito por Argolo *et al.* (2021). Cada amostra foi filtrada sucessivamente com membranas de fibra de vidro (0,7 µm, Merck) e de nitrocelulose (0,45 µm, Merck). Após a filtração, as membranas de fibra de vidro foram transferidas para um béquer de 250 mL descontaminado para que o material particulado suspenso (MPS) retido nas membranas fosse submetido a extração com solvente assistida por ultrassom. Em cada béquer foram adicionados

10 mL de metanol (grau HPLC), sendo coberto com papel alumínio e mantido em banho ultrassônico por 10 minutos. Foram realizados três ciclos de extração, ao final de cada um o extrato em metanol foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL, o qual foi avolumado com água ultrapura. O extrato final diluído foi acidificado com HCl até, para posterior extração em fase sólida (EFS).

A EFS das amostras filtradas e dos extratos de MPS foi realizada em sistema de Manifold à vácuo (Agilent Technologies®). Utilizou-se o cartucho Strata-X (sorvente à base de sílica, 500mg/6mL), adquirido da Phenomenex. Os cartuchos foram condicionados com 3x2 mL de hexano, 2 mL de acetona, 3x2 mL de metanol e 2x5 mL de água ultrapura ajustada para pH 3 com HCl. A percolação das amostras foi realizada sob vácuo, seguida por um procedimento de *clean-up* com 10 mL de uma solução metanol e água ultrapura (1:9), visando a remoção de possíveis interferentes. A eluição dos analitos foi realizada com 4 mL de acetona e os eluatos foram secos até a evaporação completa do solvente. Por fim, os resíduos foram ressolubilizados com 1 mL de etanol, obtendo-se um fator de concentração (FC) de 500, para posterior aplicação no ensaio YES.

Ensaio *in vitro* YES

O ensaio YES para avaliação da atividade estrogênica foi realizado segundo Gomes *et al.* (2023) e as soluções manuseadas no ensaio (meio mínimo, glicose, ácido L-aspártico, L-treonina, sulfato de cobre, vitamina, CPRG, meio de cultivo e meio de análise) foram preparadas de acordo com Routledge e Sumpter (1996).

Previamente ao ensaio (24 horas), foi realizado o inóculo da levedura, adicionando-se 10 mL de meio de cultivo e 100 µL do pré-inóculo em um novo frasco de cultivo. Este foi mantido em incubadora com agitação orbital (modelo Q816M20, Quimis) a 28°C e 150 rpm. Todos os procedimentos do ensaio YES, assim como o procedimento de preparo da levedura, foram realizados na cabine de segurança biológica classe II A1 (Filterflux® SBIIA1) e com materiais estéreis descartáveis, como placas, ponteiras, pipetas graduadas, ou esterilizados, como frascos de vidro.

O ensaio YES foi realizado em microplacas de 96 poços, com diluição seriada dos extratos das amostras em etanol. O controle negativo consistiu em etanol puro, enquanto o 17β-estradiol (E2) foi utilizado como controle positivo, na concentração final de 2724 – 1,33 ng L⁻¹. Numa placa de ensaio, 10 µL de cada diluição da amostra foram transferidos em duplicata para evaporação e, então, 200 µL de meio de análise contendo meio de cultivo, leveduras (1,35 × 10⁶ células mL⁻¹)

e CPRG (100 mg L⁻¹) foram adicionados em cada poço da placa. Para evitar contaminação cruzada, os controles negativos foram intercalados entre as fileiras contendo amostras ou controle positivo. As placas foram lacradas, agitadas por 120 segundos em um agitador de placas (IKA® MS-3) e incubadas a 30 °C por 72 horas em estufa (Nova Ética 410). Após o período de incubação, foram lidas as absorbâncias nos comprimentos de onda de 575 nm e 620 nm, para avaliar a cor e a turbidez, respectivamente, com o espectrofotômetro leitor de microplacas VersaMax (Molecular Devices).

Processamento de dados e análise dos resultados

Os dados foram analisados em termos de absorbância corrigida com a Equação 1.

$$Abs_{corr\ Amostra} = Abs_{575\ Amostra} - (Abs_{620\ Amostra} - Abs_{620\ CN}) \quad (1)$$

O controle da absorbância a 620 nm foi usado como ferramenta de quantificação do efeito de inibição do crescimento da levedura devido à citotoxicidade, de acordo com a Equação 2 e utilizando um fator de 3 desvios-padrão (σ) do controle negativo como parâmetro.

$$Citotoxicidade = 1 - \left(\frac{Abs_{620\ Amostra}}{Abs_{620\ CN}} \right), \quad Abs_{620\ Amostra} < Abs_{620\ CN} - 3\sigma \quad (2)$$

Curvas concentração-resposta do controle positivo E2 e das amostras foram geradas com software GraphPad Prism 10, usando absorbâncias corrigidas de diluições válidas, i.e. não citotóxicas, *versus* concentrações (em ng L⁻¹ para E2 e em FC para amostras) em escala logarítmica, e ajustadas a uma função logística simétrica (equação 3, Figura 2).

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{x_0}{x}\right)^p} + A_2 \quad (3)$$

Onde, A1 e A2 são os valores de absorbância corrigida máxima e mínima da curva de E2 ajustada, x_0 é a concentração de efeito mediana (CE₅₀), p é o termo relacionado à inclinação da curva sigmoidal e (x, y) é o par ordenado relacionado a uma concentração de amostra e sua resposta em absorbância corrigida. Para amostras ambientais, as respostas em absorbância corrigida foram transformadas em percentual de ativação, considerando com os valores de máximo e mínimo do E2.

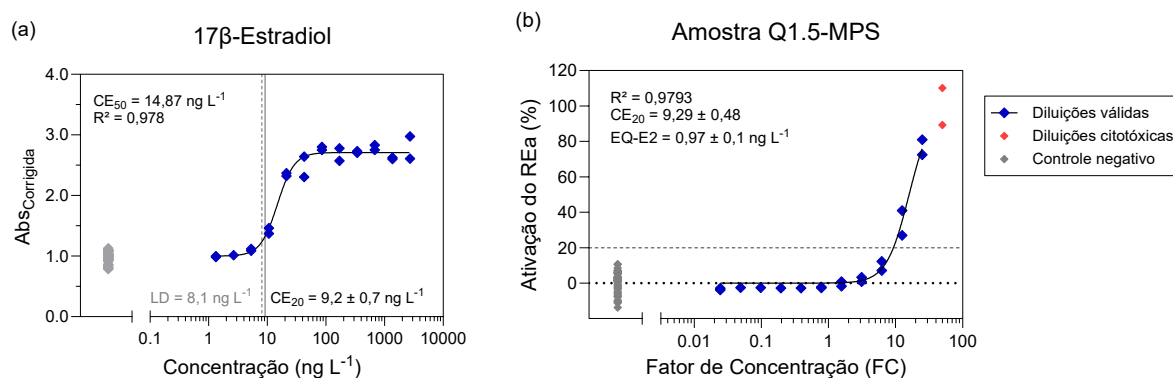


Figura 2: Exemplos de curva concentração-resposta obtidas com o ensaio YES para (a) o controle positivo 17 β -estradiol (E2) e (b) o extrato do MPS de amostra coletada no ponto Q1 em maio de 2023. LD é o limite de detecção derivado da curva do E2. Diluições citotóxicas (em vermelho) são concentrações-teste da amostra que inibiram o crescimento da levedura e, portanto, são desconsideradas para o ajuste sigmoidal e o cálculo da CE₂₀ da amostra.

Fonte: Elaboração própria

O limite de detecção (LD) foi calculado a partir da curva do controle positivo segundo adaptação da norma ISO 19040-1:2018 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2018), sendo a concentração de E2 que induz o efeito igual à média do controle negativo mais três desvios-padrão. Concentrações de equivalente-estradiol (EQ-E2) das amostras ambientais foram calculadas diretamente em ng L⁻¹ dividindo a CE₂₀ do E2 pela CE₂₀ da amostra avaliada (Figura 2.b),

Os resultados de atividade estrogênica em equivalente-estradiol (EQ-E2) foram então comparados, de forma exploratória e descritiva, com dados obtidos por Silva (2015) e Licurgo (2016), que investigaram a atividade estrogênica de amostras coletadas ao longo de 2014 e 2015 no Rio Guandu e na Lagoa de Captação e Tomada d'água da ETA Guandu com o ensaio YES. A magnitude dos resultados foi ainda interpretada considerando o valor de EBT acima do qual é considerado que há risco para o ecossistema aquático, calculado segundo metodologia proposta por Escher *et al.* (2018) com valores de potência relativa reportados por Gomes *et al.* (2023) para o ensaio YES.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade estrogênica total e fracionada

Os resultados obtidos demonstram heterogeneidade nos níveis de atividade estrogênica entre os rios avaliados, observadas tanto na fase dissolvida quanto na de material particulado

suspensão (MPS). Os valores de EQ-E2 obtidos para as amostras estão apresentados na Figura 3, contemplando o valor total resultante das análises de ambas as fases.

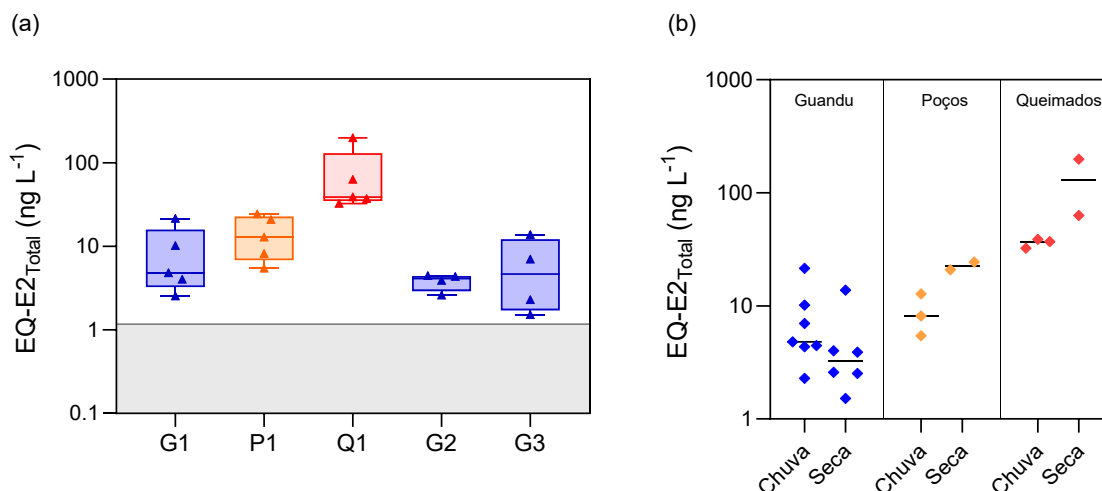


Figura 3: Valores de equivalente-estradiol total (EQ-E2_{Total}) em ng L⁻¹, considerando as fases dissolvida e material particulado suspensão (MPS) obtidos para amostras dos Rios Guandu (G1, G2 e G3), Poços (P1) e Queimados (Q1) realizadas em 2023. (a) *Boxplot* de todos os valores com *whiskers* indicando máximo e mínimo. (b) Gráfico de dispersão com medianas dos valores obtidos em estações chuvosa e seca nos rios investigados.

Fonte: Elaboração própria

No trecho investigado do Rio Guandu, os valores de EQ-E2 total variaram de $1,5 \pm 0,1$ ng L⁻¹ a $21,5 \pm 2,3$ ng L⁻¹, com uma amostra apresentando concentração abaixo do limite de detecção do ensaio ($1,6$ ng L⁻¹) em ambas as fases. Nos rios Poços e Queimados, as faixas observadas foram de $5,4 \pm 0,7$ ng L⁻¹ a $24,4 \pm 5,3$ ng L⁻¹ e $32,4 \pm 2,6$ ng L⁻¹ a $198 \pm 19,9$ ng L⁻¹, respectivamente, indicando maior ocorrência de substâncias estrogênicas em consequência a uma poluição mais acentuada. Esses valores ultrapassam o limite do valor de EBT de $1,17$ ng L⁻¹ (Figura 3.a), sugerindo potencial risco ecológico e exposição crônica de organismos aquáticos a compostos com atividade estrogênica.

Em contraste ao Rio Guandu, as medianas dos valores de EQ-E2 total em períodos de chuva e de estiagem apresentadas na Figura 3.b sugerem ainda uma maior suscetibilidade dos Rios Poços e Queimados a variações sazonais, com intensificação da resposta observada no período de seca. Contudo, esta avaliação preliminar poderia ser confirmada com um estudo mais robusto compreendendo o ciclo hidrológico de forma mais ampla.

De modo geral, a maior parte da atividade estrogênica foi quantificada na fase aquosa, com contribuição média de aproximadamente 70% no EQ-E2 total e frequentemente superior a 50% (Figura 4). A menor contribuição do MPS ($> 0,7$ μm) na atividade estrogênica foi consistente

com observações em amostras de água superficial de Rio Maracanã (RJ) (ARGOLO *et al.*, 2021), embora os autores tenham relatado concentrações mais elevadas associadas a partículas finas ($< 0,7 \mu\text{m}$). Resultados semelhantes foram descritos por Kuschik-Maczollek *et al.* (2024), também reportaram atividade estrogênica e ativação do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) associadas ao MPS, ainda que sem avaliar a contribuição relativa.

O fracionamento de substâncias estrogênicas entre a água (fase dissolvida) e o MPS está associado a vários fatores ambientais e físico-químicos. Entre eles estão a concentração e a granulometria dos sólidos suspensos, a área de superfície que essas partículas oferecem para adsorção, o teor de matéria orgânica na amostra, e as características químicas dos próprios compostos, como a afinidade por água ou por gordura, expressa pelo coeficiente de partição octanol-água (MA e YATES, 2018).

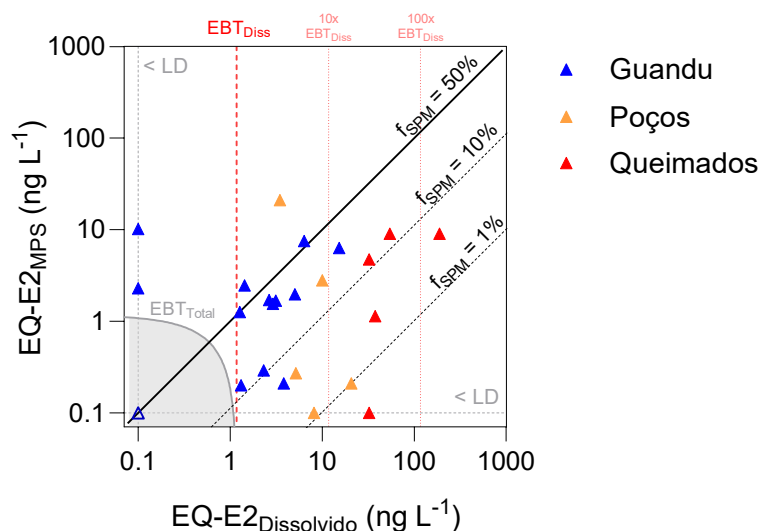


Figura 4: Fração (f_{SPM}) do equivalente estradiol total associado ao material particulado suspenso (MPS) nas amostras avaliados dos rios Guandu, Poços e Queimados. A linha contínua cinza representa o valor de EBT de $1,17 \text{ ng L}^{-1}$ considerando as fases dissolvida e MPS ($\text{EBT}_{\text{Total}}$) para o ensaio YES, enquanto a linha tracejada vermelha representa o valor de EBT considerando apenas a fase dissolvida ($\text{EBT}_{\text{Disso}}$).

Fonte: Elaboração própria

Os resultados demonstram que, embora a fase dissolvida responda pela maior parcela da atividade estrogênica total, o material particulado suspenso também contribui de modo relevante para o transporte e a disponibilidade ambiental desses compostos. A combinação desses fatores reforça a importância de considerar ambos os compartimentos na avaliação de risco e no monitoramento ambiental em corpos d'água superficiais.

Atividade estrogênica associada a fase dissolvida e significância ambiental

Considerando apenas a fase dissolvida, os valores de EQ-E2 variaram de $1,3 \pm 0,1 \text{ ng L}^{-1}$ a $15,2 \pm 2,2 \text{ ng L}^{-1}$ no Rio Guandu, enquanto no Rio dos Poços os valores variaram de $3,5 \pm 0,3 \text{ ng L}^{-1}$ a $20,7 \pm 2,5 \text{ ng L}^{-1}$ e no Rio Queimados a variação foi entre $32,4 \pm 4,0 \text{ ng L}^{-1}$ e $190 \pm 19,8 \text{ ng L}^{-1}$. Em todos os casos, os valores de EQ-E2 superaram o valor de EBT de $1,17 \text{ ng L}^{-1}$, indicando potencial risco ao ecossistema aquático decorrente da presença de compostos estrogênicos. Observa-se que, além de representar a maior parcela da atividade estrogênica total, a fase dissolvida, por si só, já ultrapassa o valor de EBT nas amostras, evidenciando sua contribuição significativa para a biodisponibilidade destes compostos.

Esse comportamento foi consistente com um estudo realizado no Rio Guandu, no qual amostras ambientais apresentaram respostas positivas principalmente na fase dissolvida, em diversos ensaios *in vitro* com células de mamífero – incluindo ativação do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR), neurotoxicidade e estrogenicidade avaliada por meio do ensaio GeneBLAzer (ARGOLO *et al.*, 2025).

No presente estudo, destacam-se os valores obtidos para o rio Queimados, cujas concentrações foram de 10 e 100 vezes superiores ao valor de EBT (Figura 4), evidenciando um elevado grau de degradação e poluição do corpo hídrico. O rio dos Poços também apresentou mediana superior à observada no Rio Guandu, o que confirma que os afluentes possuem qualidade inferior ao rio principal. Ambos drenam áreas densamente urbanizadas da Baixada Fluminense, caracterizadas por baixos índices de saneamento básico, o que reforça a associação entre a presença da atividade estrogênica e o lançamento de esgoto *in natura*.

É importante salientar que o valor de EBT utilizado para interpretação dos resultados de atividade estrogênica obtidos com bioensaios deve ser específico para cada ensaio *in vitro*, uma vez que ensaios com diferentes linhagens de célula apresentam sensibilidades distintas aos contaminantes avaliados. Essa consideração foi ilustrada na Figura 5, que relaciona os resultados obtidos no presente estudo com o ensaio YES e aqueles avaliados com o ensaio GeneBLAzer em Argolo *et al.* (2025). Embora os valores de EQ-E2 em ambos os ensaios apresentem correlação positiva (Figura 5a), com um coeficiente de Pearson $r = 0,8214$ ($p\text{-valor} < 0,0001$), a normalização pelo valor de EBT revela maior concordância entre os ensaios, havendo variação em um fator 3 em relação à linha de identidade (Figura 5b).

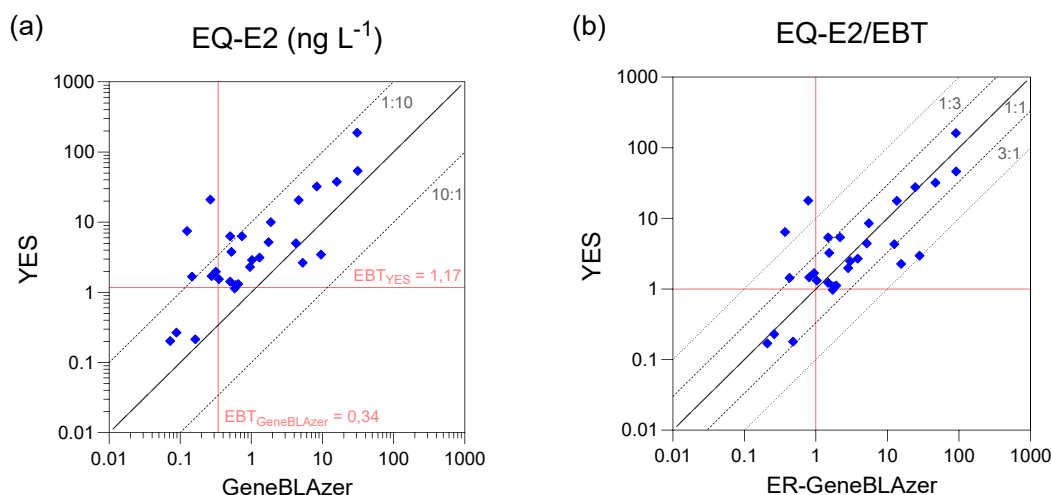


Figura 5: Relação entre resultados de atividade estrogênica obtidos para os extratos das fases dissolvida e material particulado suspenso (MPS) das amostras dos rios Guandu, Poços e Queimados obtidos com os ensaios *in vitro* YES e GeneBLAzer. (a) Relação entre valores de equivalente-estradiol (EQ-E2) em ng L^{-1} , (b) Relação entre valores de EQ-E2 normalizados com o respectivo valor de EBT (*effect-based trigger*). A linha vermelha indica o limiar de EBT.

Fonte: Elaboração própria

Ademais, três amostras do Rio Guandu apresentaram valores de EQ-E2 abaixo do limite de detecção do ensaio, resultando em uma frequência de resposta positiva de 69%. Por sua vez, nos rios Poços e Queimados, todas as amostras apresentaram resposta estrogênica, atingindo 100% de ocorrência.

Os resultados obtidos neste estudo para o Rio Guandu são comparáveis aos reportados por Archer *et al.* (2020), que identificaram valores de EQ-E2 na faixa de 0,2 a 18,9 ng L^{-1} de águas superficiais da África do Sul usando o ensaio YES. Resultados semelhantes também foram observados no Rio Paraíba do Sul, com valores EQ-E2 máximo de 16 ng L^{-1} (DIAS *et al.*, 2015), e em estudo abrangendo 217 amostras de águas superficiais na China, que registrou a faixa de 0,01 a 40,27 ng L^{-1} (YAO *et al.*, 2018). Tais comparações confirmam que as concentrações observadas na bacia do Guandu, especialmente nos afluentes Poços e Queimados, estão entre as mais elevadas reportadas internacionalmente, refletindo condições críticas de contaminação por compostos estrogênicos em ambientes urbanos.

Comparação após uma década

Uma década atrás, Silva (2015) avaliou a atividade estrogênica de amostras coletadas em 2014 nas proximidades da margem da Lagoa de Captação da ETA Guandu, alimentada pelo Rio Guandu e por afluentes como o rio dos Poços (via rio Queimados) e rio Ipiranga. Naquele estudo,

foram reportados valores de EQ-E2 variando de 0,47 – 82,87 ng L⁻¹ (Figura 6a). Embora 90% das amostras tenham apresentado resposta positiva ao ensaio (Figura 6b) e a mediana dos valores de EQ-E2 tenha sido superior a 10 vezes o valor de EBT (Figura 6a), observou-se elevada variabilidade entre as amostras. Essa variação pode estar associada às flutuações de vazão do Rio Guandu, que diluem a contribuição dos afluentes mais poluídos.

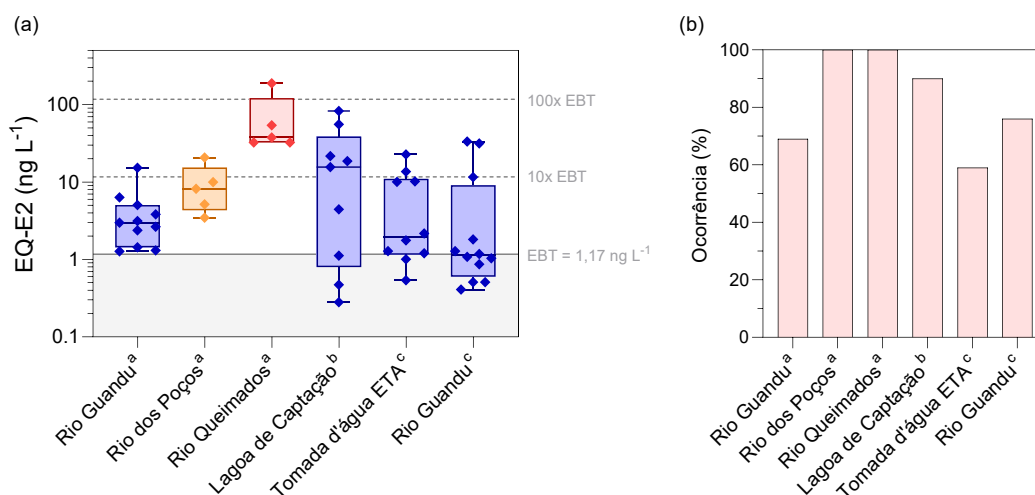


Figura 6: Síntese da análise comparativa da atividade estrogênica de amostras da bacia do Rio Guandu avaliadas com o ensaio YES. (a) Ocorrência de amostras com resposta positiva e equivalente-estradiol (EQ-E2) quantificado em fase aquosa; (b) Valores de EQ-E2 em ng L⁻¹ e sua distribuição representada em *boxplot* com *whiskers* indicando mínimo e máximo. A área abaixo da linha contínua cinzenta representa concentrações inferiores ao valor de EBT (*effect-based trigger*) de 1,17 ng L⁻¹ proposto para o ensaio YES. Legenda: ^a Este estudo; ^b Silva (2015); ^c Licurgo (2016).

Fonte: Elaboração própria

Contemporaneamente, Licurgo (2016) avaliou amostras coletadas na tomada d'água da ETA Guandu e no curso do Rio Guandu, em ponto equivalente ao G2 do presente estudo, cujas medianas foram 1,97 e 1,12 ng L⁻¹, respectivamente. A comparação temporal dos resultados revela que, após uma década, a mediana dos valores de EQ-E2 é mais elevada atingindo 2,9 ng L⁻¹ (Figura 6a), o que sugere deterioração da qualidade da água e potencial intensificação da poluição por compostos estrogênicos, possivelmente em decorrência de poucos avanços nos serviços de saneamento na região apesar de um aumento populacional.

Não obstante, a análise estatística pelo teste de Kruskal-Wallis não resultou em diferença significativa ($p < 0,05$) entre as medianas dos valores de EQ-E2 para o Guandu nos estudos considerados. Ademais, Licurgo (2016) identificou dois agrupamentos distintos de amostras: um com altas concentrações de EQ-E2 (> 10 vezes o valor de EBT) e outro com níveis mais baixos de poluição. Essa distinção se deve, em parte, à estiagem histórica de 2014, que

reduziu significativamente a vazão do Rio Guandu (BRITTO *et al.*, 2016), comprometendo a qualidade da água bruta. Considerando apenas as amostras coletadas sob no regime de vazão normalizado, as medianas seriam ainda menores, o que acentuaria a diferença em relação ao cenário atual e a reforça a tendência na extrapolação do valor de EBT, configurando um quadro preocupante de persistência ou agravamento da poluição por compostos estrogênicos.

Vale ressaltar que o presente estudo não incluiu um ciclo hidrológico completo com replicação temporal dos estudos anteriores, o que pode comprometer a representatividade do ano investigado e sua comparação. Ainda assim, uma ampliação da base de dados com novas coletas sazonais é necessária para consolidar uma avaliação mais robusta do panorama atual.

Consequências para o abastecimento de água

Neste estudo, avaliou-se apenas a água superficial ao longo do curso do Rio Guandu, não havendo informação sobre a eficiência da ETA Guandu na remoção de substâncias estrogênicas, nem sobre a atividade estrogênica residual na água tratada. Não obstante, Tang *et al.* (2023) investigaram estações de tratamento de água na China com configuração de processos semelhantes à da ETA Guandu, compreendendo coagulação e floculação, filtração e cloração, e reportaram eficiência de remoção de EQ-E2 de 68,2 a 99,9%.

Considerando esse intervalo, e adotando uma abordagem conservadora (68,2 a 99,9% de eficiência de tratamento), pode-se estimar que as águas do Rio Guandu, que apresentaram um valor máximo de EQ-E2 dissolvido de 15,2 ng L⁻¹, poderiam alcançar níveis de aproximadamente 4,8 a 1,52 ng L⁻¹ após o tratamento convencional. Esse valor permanece acima do EBT proposto para o ensaio YES (1,17 ng L⁻¹), sugerindo um potencial risco associado, caso concentrações semelhantes persistam na água distribuída.

Contudo, esta avaliação teórica baseia-se em extrapolações e deve ser interpretada com cautela, visto que a eficiência real da ETA Guandu pode variar em função das condições operacionais, características físico-químicas da água e sazonalidade das fontes de captação. Portanto, para uma avaliação mais conclusiva, seriam necessárias investigações específicas na ETA Guandu, bem como um valor de EBT para avaliação de água potável com o ensaio YES visando a saúde humana.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam níveis preocupantes de atividade estrogênica nos corpos hídricos da bacia do Rio Guandu. As concentrações de equivalente-estradiol (EQ-E2)

foram frequentemente superiores ao valor de EBT de 1,17 ng L⁻¹, indicando potencial risco ao ecossistema aquático. Entre os rios avaliados, o Rio Queimados foi o mais impactado, o qual apresentou valores até 100 vezes superiores ao EBT. Tal cenário pode ser atribuído, em grande parte, ao lançamento de esgoto *in natura* e à precariedade do saneamento básico em áreas circunvizinhas.

A análise comparativa com estudos anteriores sugere uma possível deterioração da qualidade da água do Rio Guandu em relação à década passada. Tal fato pode ser observado pelo aumento da mediana dos valores de EQ-E2. A variabilidade temporal observada reforça a influência de fatores hidrológicos, como a vazão do Rio Guandu, sobre a concentração de compostos estrogênicos nos pontos de amostragem. Além disso, os resultados demonstram que a fase aquosa respondeu pela maior parcela da atividade estrogênica total, corroborando estudos anteriores, embora o fracionamento entre as fases dissolvida e particulada deva continuar sendo considerado para uma avaliação mais abrangente do risco ambiental.

Diante da relevância da bacia do Rio Guandu como manancial estratégico para o abastecimento público, os resultados reforçam a necessidade de ações integradas voltadas ao controle de poluentes estrogênicos, incluindo investimentos em infraestrutura de saneamento, monitoramento contínuo e a implementação de políticas públicas de gestão da qualidade da água. Adicionalmente, recomenda-se a realização de novas investigações abrangendo diferentes períodos hidrológicos e condições sazonais, de modo a aprimorar a compreensão sobre a dinâmica espacial e temporal das substâncias estrogênicas na bacia e subsidiar estratégias efetivas de mitigação de seus impactos

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCHER, E.; WOLFAARDT, G.M.; VAN WYK, J.H.; VAN BLERK, N. Investigating (anti)estrogenic activities within South African wastewater and receiving surface waters: Implication for reliable monitoring. *Environmental Pollution*, v. 263, p. 114424, 2020.
- ARGOLO, A.S.; GOMES, G.; BILA, D.M. Insights into total estrogenic activity in a sewage-impacted urban stream assessed via ER transcriptional activation assay: Distribution between particulate and dissolved phases. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 208, p. 111574, 2021.
- ARGOLO, A.S.; GOMES, G.; BILA, D.M. (Anti)estrogenic activity impacted by complex environmental matrices: A DOM and multiphase distribution approach. *Chemosphere*, v. 310, p. 136917, 2023.
- ARGOLO, A.S.; ESCHER, B.I.; BRAUN, G.; KÖNIG, M.; HEUVEL, J.P.V.; BILA, D.M. Dissolved and particulate micropollutant mixtures in surface waters: in vitro and chemical assessment in Rio de Janeiro versus global trends. *Environment International*, v. 201, p. 109578, 2025.
- BACHA, L.; VENTURA, R.; BARRIOS, M.; SEABRA, J.; TSCHOEKE, D.; GARCIA, G.; MASI, B.; MACEDO, L.; GODOY, J.M. O.; COSENZA, C.; REZENDE C.E. de; LIMA, V.; OTTONI, A.B.; THOMPSON, C.; THOMPSON, F. Risk of Collapse in Water Quality in the Guandu River (Rio de Janeiro, Brazil). *Microbial Ecology*, v. 84, n. 1, p. 314–324, 2022.

Avaliação da Atividade Estrogênica na Bacia do Rio Guandu (Rj): Uma Década de Observações Ambientais

BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: Efeitos e conseqüências. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.

BRITTO, A.L.; FORMIGA-JOHNSON, R.M.; CARNEIRO, P.R.F.. Water supply and hydrosocial scarcity in the Rio de Janeiro Metropolitan Area. *Ambiente & Sociedade*, v. 19, n. 1, 2016.

CEDAE. Sistema Guandu. Disponível em: <<https://www.cedae.com.br/SOCIOAMBIENTAL/0-mapas-das-%C3%Alguas/Sistema-Guandu>>. Acesso em: 7 nov. 2025.

DIAS, A.C.V.; GOMES, F.W.; BILA, D.M.; JUNIOR, G.L.S.; DEZOTTI, M. Analysis of estrogenic activity in environmental waters in Rio de Janeiro state (Brazil) using the yeast estrogen screen. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 120, p. 41-47, 2015.

ESCHER, B.I.; AIT-ISSA S.; BEHNISCH, P.A.; BRACK, W.; BRION, F.; BROUWER, A.; BUCHINGER, S.; CRAWFORD, S.E.; PASQUIER, D.D.; HAMERS, T.; HETTWER, K.; HILSCHEROVA, K.; HOLLERT, H.; KASE, R.; KIENLE, C.; TINDALL, A.J.; TUEK, J.; VAN DER OOST, R.; VERMEIRSEN, E.; NEALE, P.A. Effect-based trigger values for in vitro and in vivo bioassays performed on surface water extracts supporting the environmental quality standards (EQS) of the European Water Framework Directive. *Science of the Total Environment*, v. 628-629, 2018.

ESCHER, B.I.; NEALE, P.A.; LEUSCH, F.D.L. Bioanalytical Tools in Water Quality Assessment. 2. ed., IWA Publishing, 2021.

FORMIGA-JOHNSON, Rosa Maria; BRITTO, Ana Lucia. Water security, metropolitan supply and climate change: some considerations concerning the Rio de Janeiro case. *Ambiente e Sociedade*, v. 23, p. 1-24, 2020.

GOMES, G.; ARGOLLO, A.; FELIX, L.; BILA, D.M. Interferences in the yeast estrogen screen (YES) assay for evaluation of estrogenicity in environmental samples, chemical mixtures, and individual substances. *Toxicology in Vitro*, v. 88, p. 105551, 2023.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 19040-1:2018. Water Quality - Determination of the Estrogenic Potential of Water and Waste Water - Part 1: Yeast Estrogen Screen (*Saccharomyces cerevisiae*), 2018.

KABIR, E.R.; RAHMAN, M.S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 40, n. 1, p. 241-258, 2015.

KATZUNG, B.W.; MASTERS, S.B.; TREVOR, A.J. Farmacologia Básica e Clínica. 12. ed. AMGH, 2014.

KUSCHIK-MACZOLLEK, N.; GLOCK, M.; HOLLERT, H.; KRAUSS, M.; PIOTROWSKA, A.; BRACK, W.; OEHLMANN, J. In vitro effect-based monitoring of water, sediment and soil from a floodplain restoration site in Central Europe. *Environmental Sciences Europe*, v. 36 (1), p. 119, 2024.

LICURGO, F.M.S. Desenvolvimento de metodologia para detecção de ftalatos e alquilfenóis em águas superficiais utilizando cromatografia gasosa e espectrometria de massas e avaliação de seus potenciais estrogênicos, 2016. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

MA, L.; YATES, S.R. Dissolved organic matter and estrogen interactions regulate estrogen removal in the aqueous environment: A review. *Science of the Total Environment*, v. 640-641, p. 529-542, 2018.

MARLATT, V.L.; BAYEN, S.; CASTANEDA-CORTÉS, D.; DELBÈS, G.; GRIGOROVA, P.; LANGLOIS, V.S.; MARTYNIUK, C.J.; METCALFE, C.D.; PARENT, L.; RWIGEMERA, A.; THOMSON, P.; VAN DER KRAAK, G. Impacts of endocrine disrupting chemicals on reproduction in wildlife and humans. *Environmental Research*, v. 208, p. 112584, 2022.

METCALFE, C.D.; BAYEN, S.; DESROSIERS, M.; MUÑOZ, G.; SAUVÉ, S.; YARGEAU, V. An introduction to the sources, fate, occurrence and effects of endocrine disrupting chemicals released into the environment. *Environmental Research*, v. 207, p. 112658, 2022a.

METCALFE, C.D.; BAYEN, S.; DESROSIERS, M.; MUÑOZ, G.; SAUVÉ, S.; YARGEAU, V. Methods for the analysis of endocrine disrupting chemicals in selected environmental matrixes. *Environmental Research*, v. 206, p. 112313, 2022b.



NEALE, P.A.; ESCHER, B.I.; DE BAAT, M.L.; ENAULT, J.; LEUSCH, F. Effect-Based Trigger Values Are Essential for the Uptake of Effect-Based Methods in Water Safety Planning. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 42, n. 3, p. 714-726, 2023a.

NEALE, P.A. ESCHER, B.I.; DE BAAT, M.L.; DECHESNE, M.; DINGEMANS, M.M.L.; ENAULT, J.; PRONK, G.J.; SMEETS, P.W.M.H.; LEUSCH, F. Application of Effect-Based Methods to Water Quality Monitoring: Answering Frequently Asked Questions by Water Quality Managers, Regulators, and Policy Makers. *Environmental Science and Technology*, v. 57, n. 15, p. 6023-6032, 2023b.

ROBITAILLE, J.; DENSLOW, N.D.; ESCHER, B.I.; KURITA-OYAMADA, H.G.; MARLATT, V.; MARTYNIUK, C.J.; NAVARRO-MARTÍN, L.; PROSSER, R.; SANDERSON, T.; YARGEAU, V.; LANGLOIS, V.S. Towards regulation of Endocrine Disrupting chemicals (EDCs) in water resources using bioassays – A guide to developing a testing strategy. *Environmental Research*, 205, p.112483, 2022.

ROUTLEDGE, E.J.; SUMPTER, J.P. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 15, n. 3, p. 241-248, 1996.

SILVA, G.G.M. Avaliação da qualidade de águas superficiais e de sedimentos quanto à toxicidade e atividade estrogênica, 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SOTERO-MARTINS, A; FERRÃO-FILHO, A. S.; SANTOS, J. A. A.; et al. Quality of raw water in the Guandu Basin of Rio de Janeiro state during water crisis of 2020. *Revista Ambiente e Água*, v. 16, n. 4, e2703, 2021.

TANG, Z.; LIU, Z.H.; WANG, H.; WAN, Y.P.; DANG, Z.; GUO, P.R.; SONG, Y.M.; CHEN, S. Twelve natural estrogens and ten bisphenol analogues in eight drinking water treatment plants: Analytical method, their occurrence and risk evaluation. *Water Research*, v. 243, p. 120310, 2023.

VILELA, C.L.S.; BASSIN, J.P.; PEIXOTO, R.S. Water contamination by endocrine disruptors: impacts, microbiological aspects and trends for environmental protection. *Environmental Pollution*, v. 235, p. 546-559, 2018.

WANGMO, C.; JARQUE, S.; HILSHEROVÁ, K.; BLÁHA, L.; BITTNER, M. In vitro assessment of sex steroids and related compounds in water and sediments—a critical review. *Environmental Science: Processes and Impacts*, v. 20, n. 2, p. 270-287, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Possible developmental early effects of endocrine disruptors on child health. WHO, 2012.

YAO, B.; LI, R.; YAN, S.; CHAN, S.; SONG, W. Occurrence and estrogenic activity of steroid hormones in Chinese streams: A nationwide study based on a combination of chemical and biological tools. *Environment International*, v. 118, p. 1-8, 2018.