

## Otimização e Detecção de Atividade Estrogênica nas Águas do Rio Douro – Porto/Portugal utilizando Yeast Estrogen Screen (YES)

Adriana Sotero-Martins<sup>1\*</sup>, Giselle Gomes M. da Silva<sup>2</sup>, Daniele M. Bila<sup>3</sup>, Ana Gavina<sup>4</sup>, Ruth Pereira<sup>5</sup>, Maria Natividade R. Vieira<sup>5</sup>

1. Pós-doutoranda e Pesquisadora da FIOCRUZ, ENSP, DSSA, Rio de Janeiro/RJ/Brasil; \* adrianasotero@ensp.fiocruz.br
2. Estudante de doutorado do Programa de Engenharia Ambiental da Fac. Engenharia da UERJ, Rio de Janeiro/RJ/Brasil.
3. Pesquisador do Depto.de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da UERJ, Rio de Janeiro/RJ/Brasil.
4. Estudante de doutorado do Programa de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto/Portugal.
5. Pesquisadora e Professora do Dep. de Biologia, & CIIMAR-UP, Porto/Portugal.

Palavras Chave: qualidade das águas, desreguladores endócrinos, rio Douro.

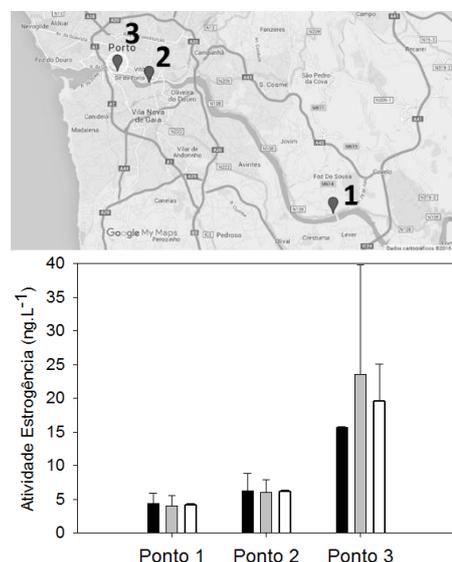
### Introdução

Desreguladores endócrinos (DE) são definidos como substâncias exógenas capazes de causar efeitos adversos à saúde. Diversos trabalhos desenvolveram métodos para determinação e quantificação dos DE e avaliação de sua atividade estrogênica em ambientes aquáticos<sup>1</sup>. A persistência da atividade dos estrogênios tem origem na contínua introdução em ambientes aquáticos por meio da disposição inadequada de esgoto sanitário e industrial<sup>2</sup>. O crescimento populacional nos grandes centros urbanos gera aumento no consumo de água e intensifica a contaminação das águas dos rios, colocando em risco o meio ambiente e a saúde pública, sendo crucial a sua monitorização em matrizes ambientais<sup>3,4</sup>. O ensaio YES proposto inicialmente por Routledge e Sumpter (1997)<sup>5</sup> utilizou uma cepa recombinante de *Saccharomyces cerevisiae*, contendo aparato genético sensível para detecção da presença de diferentes compostos com atividade estrogênica, sendo por isso utilizado como biosensor específico. Contudo este ensaio foi sendo melhorado<sup>6</sup>. Este trabalho objetivou assim utilizar o ensaio YES modificado na detecção de atividade estrogênica de amostras de água recolhidas em três pontos distintos no Rio Douro, localizado na cidade do Porto, em Portugal.

### Resultados e Discussão

Foram coletados dois litros de água em três pontos distintos do Rio Douro (Fig. 1), na cidade do Porto em Portugal, em 02/02/16, entre as 9 e 11 horas da manhã. Para o ensaio YES modificado foram utilizadas amostras de água do rio diretamente no ensaio, sem passar por processo de concentração. Outros diferenciais, em relação ao ensaio YES clássico, foram: (i) separação de duas etapas (1ª. indução pela exposição e 2ª. de cinética enzimática); (ii) utilização de maior número maior de células integras (mortas, como protoplastos) no início da etapa de cinética ( $7 \times 10^6$  células); (iii) redução do tempo de reação para 6 horas de cinética; (iv) consideração da etapa de velocidade inicial da enzima produzida após a exposição da célula a diferentes concentrações da amostra. Foram realizadas duas formas de análise dos dados, uma que desconta inteiramente toda absorvância do branco, tanto em 575 nm, como em 620 nm (Estrog. relativa); e outra que utiliza a Absorvância corrigida (Acorr). Foi possível detectar atividade estrogênica nas amostras coletadas no rio Douro, a qual foi comparada com curva padrão de referência preparada seguindo o mesmo procedimento descrito para as amostras de água

do rio, utilizando o  $17\beta$ -estradiol (E2) para uma gama de concentrações de 0,6 a 2,9 ng.L-1.



**Figura 1.** Localização dos pontos de coleta de água e gráfico de comparação da atividade estrogênica detectada por dois métodos de análise nos três pontos de coleta de água no rio Douro.. □ - Média das atividades analisadas; ■ - pela Acorr; ▒ - por Estrog. relativa.

### Conclusões

O ensaio YES modificado demonstrou sensibilidade na detecção de atividade estrogênica em matriz ambiental não concentrada, e possível uso no monitoramento da qualidade das águas. As águas do rio Douro à medida que correm para locais de maior ação antrópica, apresentam níveis superiores de atividade estrogênica.

### Agradecimentos

Instituições de fomento: UPorto – FCUP e CNPq Processo 200628/2015-1 – Pós-doutorado no Exterior - PDE.

- 1.Chang, H.-S. et al. *J. Hazard. Mater.*,172, 1. 2009.
- 2.Verninen, R.T et al., *W.M..Quim. Nova*, 33(9), 1837-42, 2010.
- 3.Kookana, R.; Williams, M.; Waller, N., 2007. Australian Government – Land & Water Australia. 2007. Disponível em: <http://www.lwa.gov.au>.
4. Luo, Y. et al. *The Science of the total environment*, 473-74, 619–41. 2014.
- 5.Routledge, E.J. and Sumpter, J.P. *Biol. Chem.* 272, 3280-88, 1997.
- Schultz, T.W.; Seward, J.R.; Sinks, G.D. *Env.Tox. Chemistry*, 19 (2),301–4, 2000.
6. Frische, T. et al. *Environ Sci Pollut Res Int.*16(5):593-603; 2009