

IV-286 - AVALIAÇÃO DA ESTROGENICIDADE E ECOTOXICIDADE AGUDA EM AMOSTRAS DE SEDIMENTO DO CANAL DO CUNHA (RIO DE JANEIRO, BRASIL)

Rejany Ferreira dos Santos⁽¹⁾

Geógrafa pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (2012). Mestre pela Universidade Federal Fluminense em Dinâmicas dos Oceanos e da Terra (2016). Bolsista Fiotec (Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde), atuando na Coordenadoria de Cooperação Social da Presidência da Fiocruz, no projeto Pólo de Tecnologias Sociais para o Desenvolvimento Equânime, Territorializado e Sustentável em Manguinhos.

Giselle Gomes⁽²⁾

Graduada em Biologia pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (2012), mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (2015); doutoranda em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Louise Felix⁽²⁾

Graduada em Gestão Ambiental pelo Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca (2012), graduada em Engenharia Cartográfica pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (2015). Atualmente é bolsista PROATEC (Programa de apoio técnico as atividades de ensino, pesquisa e extensão) Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro

José Baptista Neto⁽¹⁾

Graduado em Geografia pela Universidade Federal Fluminense (1990), Especialização e mestrado em Geologia e Geofísica Marinha pela Universidade Federal Fluminense (1993) e doutorado em Geociências - Queens University, Belfast (1996). Atualmente é professor Associado da Universidade Federal Fluminense. Coordenador do programa de Pós-graduação em Dinâmica dos Oceanos e da Terra.

Daniele Maia Bila⁽²⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Mestre, Doutora em Engenharia Química pela COPPE/UFRJ. Prof. Associado no Depto. de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da FEN/UERJ

Endereço⁽¹⁾: Av. Gen. Milton Tavares de Souza s/n – Gragoatá - Campus da Praia Vermelha – Niterói – Rj – CEP. 24210-346 – Brasil – TEL. (21) 2629-5930 – Email: re_geoffp@yahoo.com.br

Endereço⁽²⁾: Rua Rua São Francisco Xavier 524, 5029-F., Maracanã - Rio de Janeiro - Cep: 20550-900 – Brasil.

RESUMO

Os desreguladores endócrinos são substâncias exógenas que provocam distúrbios na função hormonal e efeitos agonistas e antagonistas na saúde de um organismo ou sua descendência. Esses micropoluentes podem ser naturais ou sintéticos e atingem o meio ambiente, principalmente, pelo despejo de esgoto *in natura*. Essas substâncias são responsáveis por causar anomalias no sistema reprodutivo de animais e humanos, tais como câncer, redução na quantidade de esperma, infertilidade, feminização de algumas espécies entre outros, mesmo em baixíssimas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}) no ambiente aquático. A área de estudo foi o canal do Cunha que faz parte da bacia hidrográfica da Baía de Guanabara localizada na zona norte da cidade do Rio de Janeiro em uma região com alta densidade populacional e com a presença de algumas indústrias. O presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de atividade estrogênica e a toxicidade aguda nos sedimentos do canal do Cunha. Os resultados mostram um nível elevado de toxicidade nos sedimentos em todos os pontos de coleta. O valor máximo de EQE2 encontrado foi de 17 ng g^{-1} .

PALAVRAS-CHAVE: Desreguladores endócrinos, toxicidade, ensaio *in vitro* YES, sedimentos.

INTRODUÇÃO

A sub bacia hidrográfica do Canal do Cunha é uma das principais responsáveis pelo lançamento de grande volume de resíduos sólidos e esgoto na Baía de Guanabara (PEREIRA, 2012). Há problemas gravíssimos acumulados ao longo do tempo nessa região, como a poluição causada pelo antigo aterro sanitário do Caju, a proximidade da refinaria de Manguinhos e a intensa ocupação de suas margens. Segundo Amaral (2006), a sub

bacia conta com 133 favelas e 24 loteamentos clandestinos ou irregulares dos 7.015,99 hectares que ocupa somente 415,43 hectares são áreas naturais. Com uma ausência maciça de vegetação, forma-se uma imensa ilha de calor sobre a região, que é aliviada pelas constantes trocas propiciadas por sua proximidade com a Baía de Guanabara.

O termo micropoluentes vem sendo empregado na literatura em referência aos poluentes encontrados no ambiente em baixíssimas concentrações e que oferecem sérios riscos aos seres vivos (YOON et al., 2010). Esses compostos incluem produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, hormônios naturais e sintéticos, subprodutos industriais e drogas ilícitas (RODIL et al., 2012).

A grande dificuldade de determinar a forma como esses micropoluentes atuam em amostras ambientais suscitou o desenvolvimento de metodologias analíticas para identificar e quantificar essas substâncias em matrizes ambientais complexas. Desta forma, para melhor compreensão dos efeitos potenciais dos micropoluentes ocorreu uma demanda por métodos de ensaios biológicos *in vitro* e *in vivo* para identificar os efeitos de uma grande variedade de substâncias naturais e sintéticas presentes no meio ambiente. (SODRÉ et al., 2010).

O interesse da comunidade científica sobre essa classe de contaminantes presentes no meio ambiente advém do potencial de seus efeitos adversos na saúde dos seres humanos e de animais. À esses contaminantes são atribuídos efeitos cancerígenos, alterações crônicas no desenvolvimento e na reprodução de várias espécies, perturbação nos sistemas cardiovascular e no neuroendócrino de acordo com Waye et al. (2011).

O objetivo do estudo foi analisar a presença de atividade estrogênica e ecotoxicidade em sedimentos do Canal do Cunha, contribuindo para o entendimento do nível de contaminação nesta área e discutir os dados para avaliação dos níveis de contaminação e sua correlação com as influências antropogênicas e os danos para a população da sub baciada e a sua contribuição na poluição da baía de Guanabara. Os ensaios ecotoxicológicos são de suma importância para o estudo de contaminação do sedimento, pois essa matriz tem a capacidade de acumular poluentes já que podem ser um testemunho dos impactos sofridos pelo ambiente ao longo dos anos (ARAÚJO et al., 2006; ESTEVES, 1988).

Foi realizado um estudo para avaliação do nível da estrogenicidade dos sedimentos coletados no canal, assim como, a avaliação do estudo ecotoxicológico na região através de ensaios agudos com a bactéria (*Aliivibrio fischeri*). Para análise da atividade estrogênica pelo ensaio YES (*Yeast Estrogen Screen*), foram utilizadas duas metodologias de extração nas amostras de sedimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma campanha de campo onde foram coletadas 10 amostras de sedimento em diferentes áreas do Canal do Cunha. As amostras coletadas foram submetidas a ensaios de ecotoxicidade e avaliação de potenciais compostos que provocam desregulação endócrina. Os ensaios ecotoxicológicos são de suma importância para o estudo de contaminação do sedimento, pois essa matriz tem a capacidade de acumular poluentes já que podem ser um testemunho dos impactos sofridos pelo ambiente ao longo dos anos (ARAÚJO et al., 2006; ESTEVES, 1988).

Para avaliação da ecotoxicidade utilizou-se o ensaio de toxicidade aguda com metodologia descrita na norma NBR 15411-3 (ABNT, 2012), a qual descreve a utilização da espécie de bactéria luminescente *Aliivibrio fischeri* para determinação da concentração que promove um efeito inibitório da produção de luz na metade da população do organismo-teste utilizado (CE50).

A avaliação da presença de atividade estrogênica foi realizada pelo ensaio YES, o qual faz uso da levedura, geneticamente modificada, *Saccharomyces cerevisiae*. A levedura contém um receptor de estrogênio humano ligado a um gene repórter que codifica β – galactosidase. A cultura de levedura e o ensaio foram realizados como descrito por Routledge e Sumpter (1996) com algumas modificações.

Foram utilizadas duas metodologias de preparo das amostras para o ensaio YES, chamadas de método 1 e método 2, onde a metodologia 1 foi de acordo com EMBRAPA (2008) nos 10 pontos das amostras e a metodologia 2 foi de acordo com Lorenzen et al (2004) com algumas modificações nos pontos 1, 2, 5 e 10.

Para o preparo dos sedimentos para a análise de ecotoxicidade aguda foi aplicado o método 3, descrito na sequência.

Método 1: Inicialmente para o preparo dos sedimentos foram separados 100g de cada sedimento em um becker de 250 mL e adicionado 100 mL de água Mili-Q, essa suspensão ficou em repouso por 24h. O pH foi medido no início e após 24h, a água foi descartada e a suspensão foi levada para estufa (TENNEY ENGINEERING INC) a temperatura de 60° até secagem completa (aproximadamente 48h). Após esse procedimento, os sedimentos foram mantidos em um dessecador até a próxima etapa de preparo. As amostras foram maceradas com o auxílio do gral e do pistilo até obter um pó. Deste, foram separados 10 g e adicionados 10 mL de metanol. A mistura permaneceu no ultrassom por 5 min, em seguida a parte líquida foi separada por centrifugação (2500 giros por 5 minutos) (Nova Técnica, NT 810) e transferida para um balão volumétrico de 200 mL. Esse procedimento foi realizado 03 vezes e aos líquidos combinados, somando um volume final de 30 ml, foram adicionados 170 mL de água ultrapura, acidificada com H₂SO₄ para ajuste do pH 2.

Método 2: Inicialmente para o preparo dos sedimentos foram separados 30 g de sedimentos úmidos que foram colocados em cadinhos e deixados por 5 horas no dessecador. Posteriormente, foram separados 10 g deste sedimento de cada ponto de coleta, os quais foram adicionados 10 mL de metanol, deixando por 5 minutos no ultrassom. As amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 2500 giros, e separada a fração líquida. Este processo foi repetido por 3 vezes e avolumado em balão de 200 mL, e acidificada com H₂SO₄ para ajuste do pH 2. Simultaneamente, foram colocados 10g de cada sedimento úmido na estufa por 24 h para determinar o peso seco e corrigir o teor de umidade.

Método 3: Este método foi aplicado para obtenção do elutriato para análise de ecotoxicidade com a bactéria bioluminescente, *Aliivivrio fischeri*. Utilizou-se 7g de sedimento, secos na estufa a 600 C por 24 horas, adicionados a 35 mL de diluente (NaCl 3,5%), esta solução foi mantida sob agitação magnética (Fisatom, modelo 751) a 500 rpm durante 2 horas, conforme descrito no protocolo MICROTOX SOLID FASE (MICROTOX OMNI 4.1). O sobrenadante foi separado para análise, após repouso de 1 hora. Foi adicionado 0,02 mg de EDTA.

RESULTADOS OBTIDOS

No ensaio YES foi observada citotoxicidade em todas as amostras analisadas. A fim de superar a citotoxicidade, as amostras foram diluídas serialmente, conforme recomenda o documentp descrito pela União Europeia (COMPREHEND, 2002), porém vale ressaltar que ao executar a diluição das amostras ao mesmo tempo em que se diluem os compostos tóxicos, dilui-se também os possíveis compostos estrogênicos presentes na amostra.

Todas as amostras foram analisadas de acordo com o Método1 e todas apresentaram citotoxicidade, portanto, a presença de atividade estrogênica nessas amostras podem ter apresentado mascaramento tóxico, conforme descrito por Frische et al. (2009), onde ele resalta que algumas combinações de substâncias químicas, presentes no meio ambiente, podem ter diferentes formas de ação tóxica em amostras ambientais e podem impedir o crescimento e até mesmo provocar a morte da levedura (*Saccharomyces cerevisie*).

Utilizando-se o Método 1, somente na amostra de sedimento coletada no ponto 1 apresentou atividade estrogênica com valor de EQE2 de 0,16 ng g⁻¹, os demais pontos estudados apresentaram atividade estrogênica abaixo do limite de detecção do ensaio.

Para as amostras de sedimentos coletadas nos pontos 1, 2, 5 e 10 também foram utilizados o Método 2 como forma de evitar possíveis perdas de compostos estrogênicos provocadas por decomposição térmica ou volatilização ocasionadas pelo aquecimento da amostra a 60°C, para desse modo conseguir a quantificação de atividade estrogênica.

Com o uso da metodologia 2 observou-se a redução da citotoxicidade em todas as amostras de sedimentos coletadas nos pontos analisados. Além disso, verificou-se uma maior atividade estrogênica nos sedimentos coletados nos pontos 1 e 2. Pelo Método 1 o sedimento coletado no ponto 1 apresentou 0,16 ng g⁻¹, já pelo Método 2 apresentou 3,4 ng g⁻¹, já o ponto 2 pelo Método 1 apresentou atividade estrogênica abaixo do limite de detecção do ensaio e pelo Método 2 apresentou 17 ng g⁻¹. Provavelmente essa diferença na quantificação da

estrogenicidade ocorreu pela não degradação dos compostos estrogênicos presentes nos sedimentos devido ao não aquecimento do mesmo. Desta forma a concentração dos compostos presentes na amostra tornou-se detectável pelo método de ensaio, pois é sabido que temperaturas elevadas degradam os estrogênios, os quais são os compostos com maior potência relativa (Jarosová et al., 2004) e, portanto, são os principais compostos responsáveis pela atividade estrogênica em amostras ambientais.

No sedimento coletado no ponto 5 observou-se uma elevada citotoxicidade (tanto pelo Método 1 quanto pelo Método 2), a qual pode estar relacionada a sua localização, este ponto se situa após o encontro do Canal do Cunha com o Canal do Fundão, estando próximo à ETE Alegria, e, portanto, há um grande aporte de esgoto. Provavelmente, a citotoxicidade impediu a determinação da atividade estrogênica da amostra. O Método 2 reduziu a citotoxicidade, mas ainda assim não foi possível o cálculo do EQE2 pelo fato de a citotoxicidade ter sido aparente até nas menores concentrações testadas, porém não foi possível determinar a atividade estrogênica da amostra.

No sedimento coletado no ponto 10 também se constatou elevada citotoxicidade pelos dois métodos de extração empregados. Porém, assim como no ponto 5, o Método 2 apresentou uma menor citotoxicidade da amostra, mas ainda assim não foi possível a quantificação do EQE2. A Figura 1 apresenta os valores de EQE2, obtidos pelo ensaio YES, das amostras de sedimentos coletadas no Canal do Cunha.

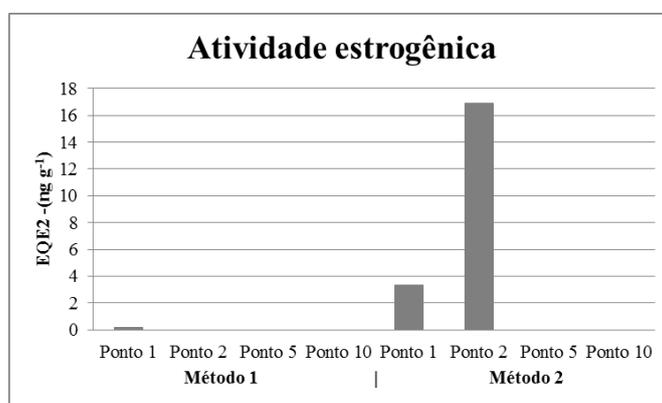


Figura 1: Valores de EQE2 (ng g⁻¹), obtidos pelo ensaio YES, das amostras de sedimentos coletadas no Canal do Cunha.

Para o ensaio de ecotoxicidade foi utilizado a bactéria luminescente (*Aliivibrio fischeri*) e o método 3 com adição de EDTA afim de diminuir a interferência dos metais presentes nos sedimentos. Com o uso dessa metodologia todas as amostras, menos as coletadas no ponto 2, apresentaram valores de CE50 variando entre 5,23% a 24,89%, que são considerados muito tóxicas, segundo a escala de classificação de ecotoxicidade descrita por Bulich (1982), Tabela 1.

Tabela 1. Escala de Grau de toxicidade adotada por Bulich (1982).

Grau de Toxicidade	
CE ₅₀ - %v/v	Classificação
< 25	Muito Tóxica
25 – 50	Tóxica
51 – 75	Moderadamente Tóxica
> 75	Levemente Tóxica

O ponto com a menor toxicidade foi o ponto 1 que está localizado no encontro do Canal do Cunha com a Baía de Guanabara, que ainda assim pode ser considerado muito tóxico. Nesta região podemos encontrar grande deposição de matéria orgânica oriunda de efluentes sem o devido tratamento. O ponto com maior nível de toxicidade aguda foi o ponto 6 que está localizado no encontro do rio Faria Timbó com o canal do Cunha, nas

proximidades da refinaria de petróleo desativada. Pode-se associar este elevado nível tóxico à presença de resíduos recalcitrantes da antiga refinaria. Os resultados dos ensaios com a bactéria *Aliivibrio fischeri* mostram o nível de poluição do canal, conforme observa-se na Figura 2.

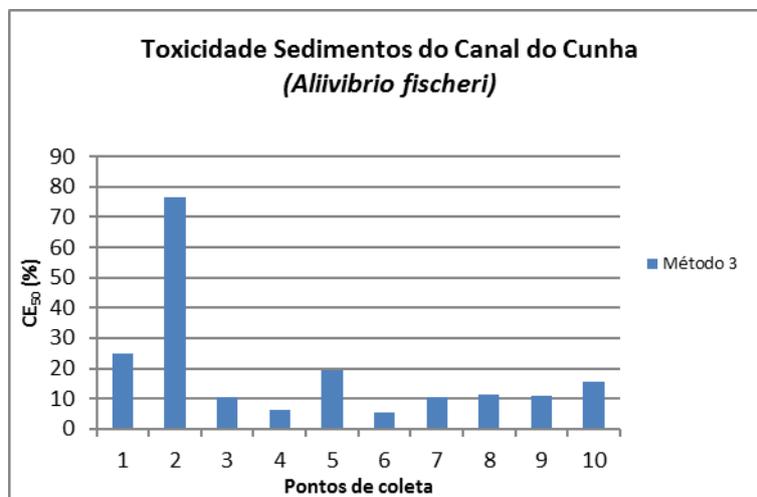


Figura 2: Valores de CE50 (%) obtidos nos ensaios de toxicidade aguda dos sedimentos coletados de diferentes pontos do canal do Cunha com o organismos-teste *Aliivibrio fischeri*.

O ponto 1 está localizado no encontro do canal do Cunha com a baía de Guanabara, o entorno deste canal é ocupado por comunidades sem infraestrutura de saneamento básico, portanto é o destino de esgoto *in natura*, recebendo este efluente com diferentes características ao longo de seu percurso. A baía de Guanabara é receptora de diferentes canais com características semelhantes a este estudado. A qualidade da água nesta região pode ser considerada de baixa qualidade devido ao grande aporte de efluentes não tratados, o que dificulta que as águas exerçam sua capacidade de autodepuração. Para este ponto, o CE50 encontrado foi de 24,89 %, sendo este ponto considerado muito tóxico.

O segundo ponto de coleta, a jusante da ecobarreira localizado ao lado da favela da Maré. Esta região não apresenta sistema de coleta de resíduos sólidos e nem sistemas de esgotamento sanitário, esta barreira foi implantada para reter os sólidos grosseiros que são lançados no rio, sendo que ocasionalmente esta barreira é desobstruída com a remoção destes dejetos. O resultado da concentração de efeito em percentual de amostra que causa efeito nocivo ao organismo-teste usado (CE50) foi de 76,6%, indicando que este foi o ponto de menor toxicidade neste estudo, no entanto ainda sendo considerado moderadamente tóxico.

O ponto 3 refere-se ao momento em que as águas do canal passam por debaixo da Linha Vermelha depois da ecobarreira, sendo nas proximidades do cais dos pescadores do canal do Cunha. Este ponto está ao lado do complexo da Maré na comunidade da Vila dos Pinheiros e embaixo de uma das principais vias da cidade do Rio de Janeiro e seu CE 50 % foi 10,54 considerada muito tóxica.

O quarto ponto de coleta foi no encontro do canal do Cunha com o canal do Fundão, local com grande aporte de esgotamento sanitário oriundo das comunidades do entorno dos dois canais, pois os mesmos recebem despejos de esgoto *in natura* ao longo de seu trajeto. O valor de CE50 (%) obtido nesse ponto foi de 6,238 que é considerado muito tóxico, este resultado mostra o nível de poluição dos dois canais.

O ponto 5 foi coletado próximo à Estação de Tratamento de esgoto Alegria, após a saída do canal do Fundão, esta localidade recebe o efluente da ETE.

Os sedimentos coletados no ponto 6 apresentaram a maior toxicidade dentre todos os pontos investigados, com valor de CE50 de 5,236 %. A região de coleta encontra-se na junção do rio Faria Timbó com canal do Cunha, próximo a refinaria de petróleo desativada de Manguinhos, a toxicidade provavelmente é devido a presença de compostos recalcitrantes dos efluentes da antiga refinaria.

O ponto 7 está localizado no canal do Cunha próximo à Avenida Brasil e ao lado da refinaria desativada de Manguinhos, este ponto apresentou o CE50 de 10,52 % que é considerado muito tóxico. Este ponto além de

receber efluentes da antiga refinaria também recebe as águas pluviais da principal via expressa da cidade do Rio de Janeiro.

O Ponto 8 está localizado no rio Faria Timbó entre a comunidade da Varginha (complexo de Manguinhos) e a Fiocruz antes do encontro com o canal do Cunha. Neste ponto, é possível verificar casas que foram construídas na margem do rio de forma desordenada sendo ausente qualquer tipo de estrutura sanitária. Desta forma, as águas deste trecho do canal recebem uma alta carga de esgoto não tratado. O CE_{50} (%) desse ponto foi de 11,47 sendo considerado muito tóxico.

Outra região de coleta dos sedimentos no Rio Faria Timbó foi na proximidade da passarela de Manguinhos ao lado da Estrada de Manguinhos, chamado de Ponto 9. Esta região é próxima à estação de trem de Manguinhos e ao novo trecho da rua Leopoldo Bulhões. Esta área apresentava muitas casas no entorno do rio, as quais foram removidas para a construção do novo trecho da rua Leopoldo Bulhões. Apesar da diminuição da emissão de esgoto bruto oriundo das residências que foram removidas, o canal ainda recebe muita carga de resíduos sólidos provenientes das comunidades circunvizinhas. O CE_{50} encontrado para este ponto foi de 10,78 %, que é considerado muito tóxico.

A última coleta foi chamada de Ponto 10, e foi realizada no canal do Cunha situado entre os Correios na rua Leopoldo Bulhões e a refinaria desativada de Manguinhos. Nesse local havia uma ocupação irregular que foi totalmente removida no período das obras do Programa de Aceleração do Crescimento (PAC). O valor de CE_{50} (em %) encontrado para estes sedimentos foi de 15,51, que ainda é considerado muito tóxico.

Os resultados encontrados de ecotoxicidade para a bactéria ao longo do canal apresentaram pouca variação dos valores de CE_{50} , tendo como exceção o ponto 2, o qual pode ser considerado um *outlier* do padrão estatístico de caracterização dos sedimentos deste canal como um todo.

CONCLUSÃO

Para o ensaio Yes o método 2 se mostrou uma metodologia mais eficiente na detecção de presença de estrogenicidade em sedimentos, provavelmente pela não decomposição térmica e volatilização dos compostos estrogênicos, visto que esta metodologia não utiliza aquecimento da amostra. O sedimento coletado no ponto 2 apresentou a maior atividade estrogênica de todos os pontos investigados, com valor de EQE2 de 17 ng g^{-1} .

O ensaio de ecotoxicidade se apresentou uma ferramenta eficiente na avaliação do nível de toxicidade em sedimentos, onde 100% das amostras estudadas apresentaram uma elevada toxicidade, sendo a amostra mais tóxica, sedimento coletado no ponto 6, apresentou valor de CE_{50} de 5,236%.

Estes resultados são razões de preocupações, pois mostra a falta e/ou precariedade no tratamento de efluentes na região da sub bacia provocando grandes danos para a população do entorno do canal e sua contribuição para a poluição da Baía de Guanabara.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT NBR 15411-3:2012 Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão da bioluminescência de *Vibrio fischeri* (ensaio de bactéria luminescente) Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas
2. BULICH, A. A. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process Biochemistry*, p. 45-47, 1982.
3. COMPREHEND - COMMUNITY PROGRAMME OF RESEARCH ON ENDOCRINE DISRUPTERS AND ENVIRONMENTAL HORMONES. ENV4-CT98-0798, 2002.
4. FRISCHE, T.; FAUST, M.; MEYER, W.; BACKHAUS, T. Toxic masking and synergistic modulation of the estrogenic activity of chemical mixtures in a yeast estrogen screen (YES). *Environ. Sci. Pollut.*, v. 16, p. 593-603, 2009.
5. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, EMBRAPA. Pecuária Sudeste - **Resumo em anais de congresso (ALICE)**, 2008. Disponível em: <http://www.embrapa.br>.

6. JAROŠOVÁ, B.; BLÁHA, L.; GIESY, J. P.; HILSCHEROVÁ, K. What level of estrogenic activity determined by in vitro assays in municipal waste waters can be considered as safe? *Environment International* 64 (2014) 98–109.
7. LORENZEN, A.; HENDEL, J.; CONN, K.; BITTMAN, S.; KWABIAH, A.; LAZAROVITZ, G.; MASSE, D.; MCALLISTER, T.; TOPP, E. Survey of Hormone Activities in Municipal Biosolids and Animal. Wiley Periodicals, Inc. *Environ Toxicol* 19: 216 –225, 2004.
8. Pereira, Fernanda Cristina de Souza. Análise da disposição do material dragado no Canal do Fundão e no Canal do Cunha – Rio de Janeiro/RJ / Fernanda Cristina de Souza Pereira. - 2012.
9. RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; CONCHA-GRAÑA, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUILORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). *Chemosphere*, v. 86, n. 10, p. 1040-9, 2012.
10. ROUTLEDGE, E. J., SUMPTER, J. P., 1996 “Estrogenic Activity of Surfactants and Some of their Degradation Products Assessed Using a Recombinant Yeast Screen” *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 15 (3), pp. 241-248.
11. SODRÉ, F. F. M.; C. C.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). *Braz. Soc. Ecotoxicol*, v. 2, n. 2, 2007.
12. WAYE, A.; TRUDEAU, V. L. Neuroendocrine disruption: more than hormones are upset. *Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews*, v. 14, n. 5-7, p.270-91, 2011.
13. YOON, Y.; RYU, J.; OH, J.; CHOI, B.-G.; SNYDER, S. A. Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea). *The Science of the total environment*, v. 408, n. 3, p. 636-43, 1 jan 2010.