

II-077 - ANÁLISE DE REMOÇÃO DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS SANITÁRIOS

Germana de Paiva Pessoa

Química Industrial pela Universidade Federal do Ceará. Mestre em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela Universidade de Federal do Ceará (UFC). Doutoranda em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela UFC.

Neyliane Costa de Souza

Química Industrial. Doutoranda em Saneamento Ambiental no Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

Joana Angélica Correia Alves

Aluna de graduação do curso de Engenharia Química (UFC). Bolsista IC-CNPQ.

Ronaldo Ferreira do Nascimento

Doutor em Química Analítica pelo Instituto de Química de São Carlos. Professor Associado II do Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará.

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

Doutor em Saneamento Ambiental pela Wageningen University - Holanda. Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

Endereço⁽¹⁾: Campus do Pici, bloco 713. Pici. Fortaleza-Ceará-Brasil. CEP: 60.455-900 - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

Interferentes endócrinos fazem parte da categoria de substâncias conhecidas na atualidade como micropoluentes emergentes, os quais mesmo na concentração de traços ($\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1}), podem interferir no sistema endócrino de humanos e outros animais e, com isso, afetar a saúde, principalmente nos aspectos relacionados ao equilíbrio hormonal de organismos superiores, contribuindo para a infertilidade e podendo aumentar a taxa de câncer nos órgãos reprodutores. Tais compostos são encontrados em efluentes estações de tratamento de efluentes (ETEs) uma vez que os processos biológicos de tratamento avaliados, normalmente sistemas de lodos ativados, não são capazes de eliminá-los completamente. Existem poucos relatos da real capacidade de sistemas naturais como lagoas de estabilização de eliminar tais compostos. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de remoção dos compostos estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), 17 β -estradiol- 17 acetato (E2-17A) e 17 α -etinilestradiol (EE2) em ETEs na Região Metropolitana de Fortaleza, Ceará. Foram avaliados três tipos de tecnologias, a saber: lagoa facultativa seguida de lagoa de maturação (LF+LM), lagoa facultativa (LF) e lodos ativados (LA). As ETEs utilizando LF+LM e LA apresentaram remoção eficiente dos estrogênios, no entanto a ETE que utiliza apenas LF como tratamento apresentou um decréscimo na eficiência de remoção, chegando a apresentar valores de 280 ng L^{-1} de E1 no efluente final.

PALAVRAS-CHAVE: Interferentes endócrinos, estrogênios, estação de tratamento de efluentes (ETEs).

INTRODUÇÃO

Nas duas últimas décadas se observa um crescente interesse científico e debates públicos sobre os potenciais efeitos adversos causados pela exposição a um grupo de produtos químicos, conhecidos como interferentes endócrinos, os quais são capazes de alterar o funcionamento normal do sistema endócrino da fauna silvestre e, potencialmente, dos seres humanos (WHO, 2002).

Interferentes endócrinos fazem parte da categoria de substâncias conhecidas na atualidade como micropoluentes emergentes, os quais mesmo na concentração de traços ($\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1}) podem interferir no sistema endócrino de humanos e outros animais e, com isso, afetar a saúde, principalmente nos aspectos relacionados ao equilíbrio hormonal de organismos superiores, contribuindo para a infertilidade e podendo aumentar a taxa de câncer nos órgãos reprodutores (CRAIN *et al.*, 2008; EERTMANS *et al.*, 2003).

A remoção e o comportamento dos DEs no meio ambiente ainda não são totalmente conhecidos, conseqüentemente, os riscos aos humanos, organismos aquáticos e animais, ainda precisam ser melhores compreendidos (BHANDARI *et al.*, 2009).

O desenvolvimento analítico observado nas últimas décadas, não somente em relação às técnicas de concentração dos analitos, como também nas técnicas cromatográficas de detecção, faz com que muitos micropoluentes emergentes sejam detectados em matrizes ambientais como corpos de água, afluentes e efluentes a ETes, sedimentos e mesmo nas estações de tratamento de água. Os excrementos humanos presentes no esgoto sanitário representam a principal fonte de contaminação por estrogênios naturais no meio ambiente, devido ao lançamento de esgotos *in natura* em corpos de água ou mesmo devido a sua incompleta remoção nos processos convencionais de tratamento de esgoto. Com a concentração populacional nas grandes e médias cidades e conseqüente aumento dos volumes de esgoto gerados, a quantidade de estrogênios lançados continuamente em corpos receptores cresce também (WATKINSON *et al.*, 2007).

A principal fonte de poluição dos desreguladores é o descarte de esgoto doméstico em águas superficiais. Os três principais compostos que apresentam elevada atividade estrogênica são identificados como estrogênios naturais 17 β -estradiol (E2) e estrona (E1) e estrogênio sintético 17 α -etinilestradiol (EE2), principal substância ativa do contraceptivo oral. Terapeuticamente, estrogênios são usados em contraceptivos orais, reposição hormonal durante a menopausa e em tratamentos de algumas doenças progressivas como câncer. Entre as substâncias utilizadas estão o estradiol e seus derivados, como etinilestradiol, mestranol, estriol, estrona, poliestradiol e epimestrol (RODRIGUEZ-PINILLA e WEBER-SCHÖNDORFER, 2007).

Os principais processos responsáveis pela remoção dos estrogênios da fase aquosa são: sorção, degradação fotolítica, biodegradação aeróbia e anaeróbia, além da biodegradação anóxica. Em estações de tratamento de esgoto (ETes) os principais processos que ocorrem são os naturais, sorção e degradação microbiológica.

A biodegradação dos estrogênios ainda não é totalmente entendida, principalmente quando se trata de rotas metabólicas, vários estudos de degradação desses compostos vêm sendo realizados, mas raramente a rota metabólica é elucidada ou os produtos intermediários detectados. Cientificamente já é aceito que o primeiro passo para a degradação do 17 β -estradiol (E2) é a oxidação do C-17 gerando um grupo cetona (C=O), sendo formado assim a estrona (E1). Entretanto, sua mineralização bem como os fatores que envolvem essa degradação ainda não são bem compreendidos (MOSCHET, 2009).

Devido aos valores do log K_{ow} (coeficiente de partição octanol-água, em inglês octanol-water) dos estrogênios se encontrarem na faixa de 3,1 a 4,7, pode-se concluir que esses compostos são lipofílicos e que serão adsorvidos pela fase sólida de forma moderada a forte (DÍAZ-CRUZ *et al.*, 2009).

Diante do exposto este trabalho visa contribuir para proteção dos recursos hídricos do Estado do Ceará, onde se tem a problemática da baixa capacidade de diluição dos efluentes nos corpos receptores, a partir da análise da eficiência de remoção dos interferentes endócrinos em Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) do tipo lagoas de estabilização e lodos ativados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os padrões dos estrogênios utilizados durante a pesquisa foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Na tabela 1 são apresentados os compostos selecionados e suas características físico-químicas. Na figura 1 são apresentadas suas estruturas moleculares.

Durante a etapa de derivatização foi utilizado o reagente BSTFA (N-O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida) de fórmula molecular C₈H₁₈F₃NOSi₂ (Sigma-Aldrich), sendo utilizado nas condições: 50 μ L, 60°C durante 30 minutos.

Tabela 1: Características físico-químicas dos estrogênios

Estrogênios	Estrona (E1)	17β-Estradiol (E2)	17α-Etinilestradiol (EE2)	17β-Estradiol 17-Acetato (E2-17A)
Fórmula Molecular	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	C ₂₀ H ₂₆ O ₃
Peso molecular (g mol ⁻¹)	270,37	272,39	296,4	314,42
CAS-Number	53-16-7	50-28-2	57-63-6	1743-60-8
Solubilidade em água 20°C (mg L ⁻¹)	0,8 – 12,4	3,9-13,3	4,8	1,37
Log K _{ow}	3,43	3,94	4,12	4,95

Log Kow: Valores calculados pelo programa ECOSAR-EPA

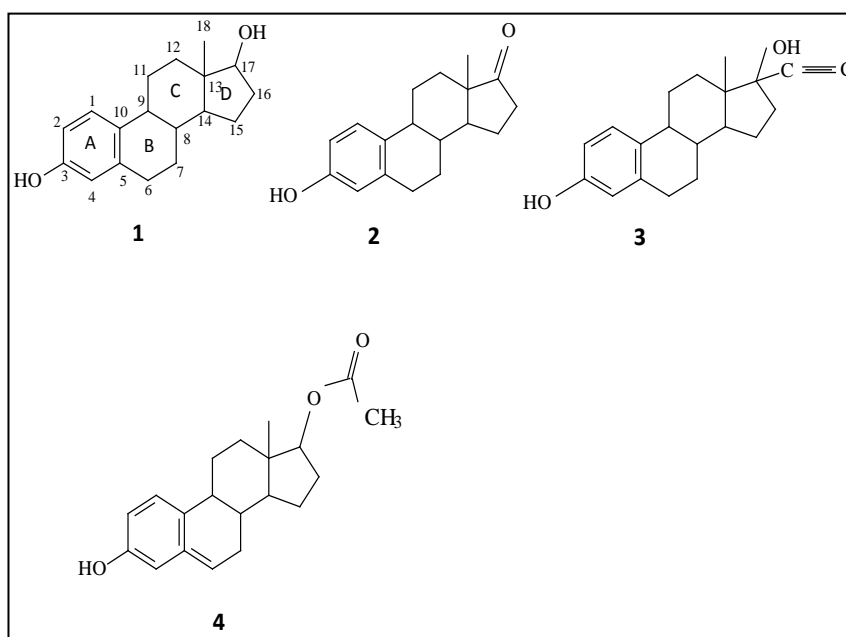


Figura 1: Estrutura molecular dos estrogênios. 1) E2; 2) E1; 3) EE2; 4) E2-17A

EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)

O método selecionado para concentração dos analitos foi a extração em fase sólida (SPE). As amostras ambientais foram filtradas utilizando-se membrana de fibra de vidro 0,45μm (Millipore). Após filtração o pH da amostra foi ajustado para pH 3 utilizando-se ácido clorídrico concentrado (Vetec), sendo que o volume da amostra utilizado foi de 500 mL.

A fase estacionária utilizada foi o Octadecilsilano (C-18:500mg/6mL) da Supelco. O condicionamento do cartucho de SPE foi: 5 mL de Hexano (Vetec), 5 mL de Acetona (Vetec), 5 mL de MeOH (Vetec) e 5 mL de Água Milli-Q (Millipore) pH 3. As amostras foram analisadas em no máximo 48 horas, sendo mantidas em refrigeração até o momento da extração. Durante esta etapa foi utilizado o equipamento “*Vacuum Manifold*” (Supelco), com fluxo médio de 8 mL/min. Para eluição dos analitos foram utilizados 4 mL de acetona:hexano (50:50,v/v). Os eluatos foram levados à secar total em estufa a 45°C sendo toda água removida para que não prejudicasse a etapa de derivatização. O fator de concentração dos analitos foi de 10.000 vezes.

Durante a análise de recuperação foram adicionados padrões dos estrogênios na matriz esgoto sanitário na concentração de 2μg L⁻¹.

PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA IDENTIFICAÇÃO DE ESTROGÊNIOS

A identificação e quantificação dos compostos foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo acoplado a um espectrômetro de massa CG/MS (QP-2010 PLUS / SHIMADZU). Foi utilizada uma coluna capilar apolar Rtx-5MS da Supelco, com dimensões 30m x 0,25mm x 0,25µm. O volume injetado manualmente de extratos e padrões foi de 1µL sendo utilizada uma microseringa Hamilton de 10µL. As condições cromatográficas utilizadas estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2: Condições cromatográficas utilizadas no CG/MS

Parâmetros do GC		Parâmetros do MS	
Gás carreador	Hélio	Método de ionização	Impacto de elétrons (EI+)
Vazão do gás de análise	1,43 mL/min	Relação m/z Inicial	40
Vazão total	75,8 mL/min	Relação m/z final	460
Volume de injeção	1µL	Aquisição de dados	0,50 s
Modo de injeção	Split	Modo aquisição dados	SCAN
Ratio	01:50		
Tempo de equilíbrio	3 min		
Pressão inicial	130 kPa		
Programa de Pressão	Isocrática		
Temperatura do injetor	290°C		
Temperatura da interfase	290°C		
<i>Rampa de Aquecimento:</i>			
Temperatura Inicial	150°C		
	40°C/min até 250°C		
Programa de Temperatura	20°C/min até 280°C (4 min)		
	10°C/min até 290°C (5 min)		
Tempo total de análise	14 min		

Os parâmetros analíticos utilizados para a validação de métodos foram: precisão; linearidade; limite de detecção; limite de quantificação e ensaio de recuperação.

LOCAIS DE AMOSTRAGEM

Foram selecionadas quatro estações de tratamento de esgotos sanitários (ETEs) de acordo com o tipo de tratamento utilizado para a realização das coletas das amostras (Tabela 3). As coletas foram feitas de forma pontual antes e depois do tratamento. As amostras foram coletadas em baldes de alumínio com volume de 10 litros, a partir dos quais eram distribuídas em frascos de vidro âmbar para análises cromatográficas e físico-químicas, que foram realizadas no Laboratório de Saneamento (Labosan), do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

Tabela 3: Estações de tratamento de esgoto classificadas por tipo de tratamento

TIPO DE TRATAMENTO	DATA DA COLETA
Lagoa Facultativa + Lagoa Maturação – LF+LM:ETE 1	Abril de 2010
Lagoa Facultativa + Lagoa Maturação – LF+LM: ETE 2	Maio de 2010
Lagoa Facultativa – LF	Maio de 2010
Lodos Ativados – LA	Junho de 2010

Para as análises cromatográficas foram adicionados 5 mL de MeOH por litro de amostra para impedir a biodegradação dos analitos de interesse e evitar que os compostos ficassem adsorvidos no material plástico do cartucho de SPE.

RESULTADOS

VALIDAÇÃO DO MÉTODO

A análise de precisão para análise dos estrogênios foi realizada a partir da injeção em quintuplicata da solução multielementar de concentração $1,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados do coeficiente de variação (CV%) para o tempo de retenção e área são apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Precisão do método cromatográfico (n:5)

COMPOSTO	CV(%) Área	CV(%) t_R
E1	18	0,04
E2	10	0,04
E2-17A	12	0,03
EE2	20	0,02

t_R : tempo de retenção do analito

Os resultados de linearidade durante a realização da curva de calibração são apresentados na tabela 5. Considerando o fator de concentração de 10.000 vezes os limites de detecção e quantificação do equipamento são mostrados na tabela 5, assim como os resultados da análise de recuperação. O coeficiente de correlação linear (R) apresentou valor superior a 0,99, o que garante que o método utilizado fornece resultados diretamente proporcionais à concentração do composto de interesse.

Tabela 5: Parâmetros quantitativos obtidos após calibração do CG/MS

COMPOSTO	R	N	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LD (ng L^{-1})	LQ (ng L^{-1})	Recuperação (%) $2 \mu\text{g L}^{-1}$
E1	0,9915	5	1,0 – 15,0	48	53	73,4
E2	0,9923	5	1,0 – 15,0	64	67	52
E2-17A	0,9991	5	1,0 – 50,0	80	90	105
EE2	0,9983	4	5,0 – 50,0	100	250	99

R: Coeficiente de correlação linear; N: Número de pontos utilizados; LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação

IDENTIFICAÇÃO DE ESTROGÊNIOS EM ESGOTOS SANITÁRIOS AFLUENTES E EFLUENTES NAS ETES

Os resultados das concentrações afluentes e efluentes de estrogênios em estações de tratamento de esgotos sanitários utilizando a tecnologia de lagoa facultativa seguida de lagoa de maturação, assim como os valores de eficiência de remoção, são apresentados nas tabelas 6 e 7.

Tabela 6: Concentrações afluentes e efluentes para os estrogênios no tratamento LF +LM: ETE1

COMPOSTO	AFLUENTE	EFLUENTE	REMOÇÃO (%)
E1	350 ng L^{-1}	< LD	100%
E2	180 ng L^{-1}	< LD	100%
E2-17A	1360 ng L^{-1}	< LD	100%
EE2	840 ng L^{-1}	ND	ND

LD: limite de detecção; ND: Não determinado

Tabela 7: Concentrações afluentes e efluentes para os estrogênios no tratamento LF +LM: ETE2

COMPOSTO	AFLUENTE	EFLUENTE	REMOÇÃO (%)
E1	560 ng L ⁻¹	<LD	100
E2	<LD	<LD	ND
E2-17A	1060 ng L ⁻¹	<LD	100
EE2	<LD	<LD	ND

LD:limite de detecção; ND: Não determinado

Segundo os dados de estrogênios obtidos para o tratamento LF+LM na ETE1 e ETE2, considerou-se uma remoção de 100%, uma vez que os estrogênios foram detectados no afluente, mas não foram detectados no esgoto tratado, sendo que tal remoção pode ter ocorrido por biodegradação ou ainda degradação fotolítica na lagoa de maturação. Segundo Servos *et al.* (2005) lagoas facultativas apresentam geralmente uma boa eficiência de remoção de estrogênios, em uma faixa de 80% a 98% na redução do E2. Lishman *et al.* (2006) analisaram 12 ETEs, das quais 3 eram lagoas facultativas, e detectaram os hormônios E2 e E1 antes do tratamento nas faixas de concentrações de 0,006 a 0,014 µg/L e 0,016 a 0,049 µg/L, respectivamente. Os autores não detectaram o estrogênio E2 no efluente das lagoas; já o composto E1 foi detectado, sendo que o sistema possuía uma eficiência de remoção de 86%. Em termos de degradação fotolítica Leech *et al.* (2009) demonstraram que o composto E2 pode ser fotodegradado por radiações UV-A, UV-B e visível (λ 290-720 nm).

Outra hipótese de mecanismo de remoção seria a acumulação dos estrogênios no lodo ou biomassa do sistema de tratamento, uma vez que estes compostos apresentam uma propriedade de hidrofobicidade classificada de moderada a alta (log K_{ow} 3-5) (DÍAZ-CRUZ *et al.*, 2009). Nieto *et al.* (2008) analisaram amostras de lodo coletadas em duas estações de tratamento de esgoto doméstico na Espanha e detectaram a presença dos estrogênios E1, E2, E2-17A e EE2. Entretanto, outros estudos divergem quanto à sorção dos interferentes endócrinos no lodo da ETE, destacando como principal etapa a degradação biológica (ANDERSEN *et al.*, 2005 e MULLER *et al.*, 2008).

Os resultados das concentrações afluentes e efluentes de estrogênios em ETEs utilizando a tecnologia de lagoa facultativa, assim como os valores de eficiência de remoção, são apresentados na tabela 8.

Tabela 8: Concentrações afluentes e efluentes para os estrogênios no tratamento LF

COMPOSTO	AFLUENTE	EFLUENTE	REMOÇÃO (%)
E1	<LQ	280 ng L ⁻¹	ND
E2	300 ng L ⁻¹	<LD	100
EA	1250 ng L ⁻¹	ND	ND
EE2	1380 ng L ⁻¹	1000 ng L ⁻¹	27,5

LD:limite de detecção; LQ: limite de quantificação; ND: Não Determinado

No tratamento utilizando lagoa facultativa apresentou um decréscimo nos índices de remoção dos DEs. O composto E1 apresentou uma remoção negativa, uma vez que a concentração obtida no efluente final foi maior do que a concentração afluente. Este fato pode ser atribuído à biotransformação do E2 a E1, o que levaria ao acréscimo na concentração de E1. A concentração do E2 no efluente final ficou abaixo do limite de detecção e sua concentração anterior ao tratamento era de 300 ng L⁻¹, evidenciando assim a possível oxidação de E2 a E1 durante o tratamento aeróbio. Essa biotransformação também foi observada por Plósz *et al.* (2010) ao analisarem a remoção do E1 em um sistema aeróbio.

Para o composto EE2 o índice de remoção foi de 27,5%. Os autores Ying *et al.* (2008) encontraram uma remoção semelhante a encontrada para o EE2 de apenas 25%, utilizando 10 lagoas (anaeróbias e aeróbias) em série.

Os resultados das concentrações afluentes e efluentes de estrogênios em ETEs utilizando a tecnologia de lodos ativados, assim como os valores de eficiência de remoção, são apresentados na tabela 9.

Tabela 9: Concentrações afluentes e efluentes para os estrogênios no tratamento LA

COMPOSTO	AFLUENTE	EFLUENTE	REMOÇÃO (%)
E1	<LQ	<LD	100
E2	<LD	<LD	ND
E2-17A	2250 ng L ⁻¹	<LD	100
EE2	1200 ng L ⁻¹	<LQ	ND

Os estrogênios E1, E2 e E2-17A não foram detectados no efluente doméstico analisado, no entanto o EE2 encontrou-se presente após o tratamento, mas em concentração abaixo do limite de quantificação, não sendo possível o cálculo de sua remoção. Os sistemas de tratamento de lodos ativados em suas várias configurações vêm demonstrando uma boa eficiência de remoção para os estrogênios E1 e E2, chegando a valores superiores a 95% (TAN *et al.*, 2007; KANDA E CHURCHLEY, 2008). Kanda e Churchley (2008) obtiveram remoção de 97 a 99% dos estrogênios E1 e E2 utilizando lodos ativados com etapa de nitrificação, no entanto a taxa de eficiência para o EE2 foi apenas de 3 a 5,6%.

CONCLUSÕES

De um modo geral, os procedimentos analíticos de concentração do analito e análise por cromatografia gasosa empregados para identificação e quantificação de desreguladores endócrinos específicos: estrona, 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol e 17 β -estradiol-17acetato, em matrizes ambientais foram satisfatórios.

O método cromatográfico utilizado foi considerado validado, uma vez que os resultados de precisão, linearidade e recuperação foram satisfatórios quando comparado com valores estimados na literatura.

A remoção de estrogênios em sistemas de tratamento de esgoto é muito complexa e poucos estudos contemplam a análise da tecnologia de lagoas de estabilização. Assim, ainda não existe um padrão claro associado ao processo ou as características do tipo de tratamento, tais como TDH utilizado.

Com relação à análise de eficiência das ETEs selecionadas ficou comprovada a eficiência de sistemas como lodos ativados e lagoa facultativa seguida de lagoa maturação na remoção de estrogênios. No entanto, a tecnologia de lagoa facultativa apresentou reduzidos valores de remoção para E1 e EE2 evidenciando que novos estudos devem ser realizados com outras configurações de lagoas, assim como um monitoramento mais prolongado durante as horas do dia e meses do ano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Processo nº. 577000/2008-2) e à Companhia de Água e Esgotos do Ceará (CAGECE) pelo apoio financeiro para realização da pesquisa, e a FUNCAP, CAPES e CNPq pela concessão das bolsas de doutorado, mestrado e IC, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, H.R.; HANSEN, M.; KJØLHOLT, J.; STUER-LAURIDSEN, F.; BLICHER, TERNES, T.; HALLING-SØRENSEN, B. Assessment of the importance of sorption for steroid estrogens removal during activated sludge treatment. *Chemosphere*, v.61, p.139-146, 2005.
- BHANDARI, A.; SURAMPALLI, R.; ADAMS, C.D.; CHAMPAGNE, P.; ONG, S.K.; TYAGI, R.D.; ZHANG, T.C. Contaminants of Emerging Environmental Concern. American Society of Civil Engineers, 2009. ISBN 978-0-7844-1014-1.
- CRAIN D.A., JANSSEN S.J., EDWARDS T.M., HEINDEL J., HO S., HUNT P., *et al.* Female reproductive disorders: the role of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. *Fertility Sterility*, v. 90, p. 911-940, 2008.
- DÍAZ-CRUZ, M.S.; GARCÍA-GALAN, M.J.; GUERRA, P.; JELIC A.; POSTIGO C.; ELJARRAT, E.; FARRÉ, M.; LÓPEZ DE ALDA, M.J.; PETROVIC, M.; BARCELÓ. Analysis of selected emerging contaminants in sewage sludge. *Trends in Analytical Chemistry*, v.28, n.11, p.1263-1275, 2009.

5. EERTMANS F., DHOOGHE W., STUYVAERT S., COMHAIRE F. Endocrine disruptors: effects on male fertility and screening tools for their assessment. *Toxicology in Vitro*, v. 17, p. 515-524, 2003.
6. KANDA, R.; CHURCHLEY, J. Removal of endocrine disrupting compounds during conventional wastewater treatment. *Environmental Technology*, v. 29, p. 315-323, 2008.
7. LEECH, D.M.; SNYDER, M.T.; WETZEL, R.G. Natural organic matter and sunlight accelerate the degradation of 17 β -estradiol in water. *Science of the Total Environment*, v. 407, p.2087-2092, 2009.
8. LISHMAN, L.; SMYTH, S.A.; SARAFIN, K.; KLEYWEGT, S.; TOITO, J.; PEART, T.; LEE, B.; SERVOS, M.; BELAND, M.; SETO, P. Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Science of the Total Environment*, v. 367, p. 544-558, 2006.
9. MOSCHET, C. Microbial degradation of steroid hormones in the environment and technical systems. Institute of Biogeochemistry and Pollutant Dynamics, 2009.
10. MULLER, M.; RABENOELINA, F.; BALAGUER, P.; PATUREAU, D.; LEMENACH, K.; BUDZINSKI, H.; BARCELÓ, D.; LÓPEZ DE ALDA, M.J.; KUSTER, M.; DELGENÈS, J.P.; HERNANDEZ-RAQUET, G. Chemical and biological analysis of endocrine-disrupting hormones and estrogenic activity in a advanced sewage treatment plant, *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.27, p.1649 – 1658, 2008.
11. NIETO, A.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R.M. Determination of natural and synthetic estrogens and their conjugates in sewage sludge by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v.1213, p.224-230, 2008.
12. PLÓSZ, B.G.; LEKNES, H.; LILTVED, H.; THOMAS, K.V. Diurnal variations in the occurrence and the fate of hormones and antibiotics in activated sludge wastewater treatment in Oslo, Norway. *Science of the Total Environment*, v. 408, p. 1915-1924, 2010.
13. RODRIGUEZ-PINILLA, E.; WEBER-SCHÖNDORFER, C. Hormones. *Drugs During Pregnancy and Lactation*. 2ª ed. Londres: Elsevier, 2007. cap. 2, p. 381-422.
14. SERVOS, M.R.; BENNIE, D.T.; BURNISON, B.K.; JURKOVIC, A.; MCINNIS, R.; NEHELI, T.; SCHNELL, A.; SETO, P.; SMYTH, S.A.; TERNES, T.A. Distribution of estrogens, 17 α -estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, v. 336, p.155– 170, 2005.
15. TAN, B.L.L.; HAWKER, D.W.; MULLER, J.F.; LEUSCH, F.D.L.; TREMBLAY, L.A.; CHAPMAN, H.F. Comprehensive study of endocrine disrupting compounds using grab and passive sampling at selected wastewater treatment plants in South East Queensland, Australia. *Environment International*, v. 33, p.654-669, 2007.
16. WATKINSON, A. J., MURBYC, E. J., COSTANZO, S. D. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research*, v. 41, p. 4164 – 4176, 2007.
17. WHO -World Health Organization. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. 2002.
18. YING, G. KOOKANA, R.S.; KUMAR, A. Fate of estrogens and xenoestrogens in four sewage treatment plants with different technologies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.27, n. 1, p.87-94, 2008.