

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL**

**REMOÇÃO DOS PERTURBADORES ENDÓCRINOS 17 $\beta$ -  
ESTRADIOL E P-NONILFENOL POR DIFERENTES TIPOS  
DE CARVÃO ATIVADO EM PÓ (CAP) PRODUZIDOS NO  
BRASIL – AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA**

**DEBORAH FREITAS VERAS**

**ORIENTADORA: CRISTINA CELIA SILVEIRA BRANDÃO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL E  
RECURSOS HÍDRICOS**

**PUBLICAÇÃO: PTARH.DM – 099/2006  
BRASÍLIA/DF: SETEMBRO - 2006**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL**

**REMOÇÃO DOS PERTURBADORES ENDÓCRINOS 17 $\beta$ -  
ESTRADIOL E P-NONILFENOL POR DIFERENTES TIPOS DE  
CARVÃO ATIVADO EM PÓ (CAP) PRODUZIDOS NO BRASIL -  
AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA**

**DEBORAH FREITAS VERAS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL DA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE  
BRASÍLIA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA  
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE.**

**APROVADA POR:**

---

**Prof<sup>a</sup>. Cristina Célia Silveira Brandão, PhD (ENC – UnB)  
(ORIENTADORA)**

---

**Prof. Ricardo Silveira Bernardes, PhD (ENC – UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)**

---

**Prof. Valter Lúcio de Pádua, DSc (DESA- UFMG)  
(EXAMINADOR EXTERNO)**

## FICHA CATALOGRÁFICA

VERAS, DEBORAH FREITAS

Remoção dos Perturbadores Endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol por Diferentes Tipos de Carvão Ativado em Pó (CAP) Produzidos no Brasil – Avaliação em Escala de Bancada.

xvi, 139p., 210 x 297 mm (ENC/FT/UnB, Mestre, Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, 2006). Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

1. Carvão Ativado

2. Perturbadores Endócrinos

3. Remoção do 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol

4. Tratamento de água e esgoto

I. ENC/FT/UnB

II. Título (série)

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

VERAS, D. F. (2006). *Remoção dos Perturbadores Endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol por Diferentes Tipos de Carvão Ativado em Pó (CAP) Produzidos no Brasil – Avaliação em Escala de Bancada*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM-099/06, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 135p.

## CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Deborah Freitas Veras.

TÍTULO: Remoção dos Perturbadores Endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol por Diferentes Tipos de Carvão Ativado em Pó (CAP) Produzidos no Brasil – Avaliação em Escala de Bancada.

GRAU: Mestre

ANO: 2006

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

---

Deborah Freitas Veras

SQS 413 Bloco E apº110 - 70296-050 - Brasília - DF - Brasil

veras.deborah@gmail.com

## **RESUMO**

### **REMOÇÃO DOS PERTURBADORES ENDÓCRINOS 17 $\beta$ -ESTRADIOL E P-NONILFENOL POR DIFERENTES TIPOS DE CARVÃO ATIVADO EM PÓ (CAP) PRODUZIDOS NO BRASIL - AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA**

**Autor: Deborah Freitas Veras**

**Programa de Pós-Graduação Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos**

**Brasília, 28 de setembro de 2006**

Nas últimas décadas, verifica-se um crescente interesse científico e debate público a respeito dos potenciais efeitos adversos associados à exposição humana e animal aos perturbadores endócrinos. Águas residuárias são as fontes mais comuns de contaminação de perturbadores endócrinos e, segundo a literatura, essas substâncias não são removidas por completo nos tratamentos convencionais de água e esgotos. A adsorção em carvão ativado tem sido apontada como uma opção para a remoção de perturbadores endócrinos. Entretanto, a eficiência do carvão ativado, de um modo geral, depende da sua matéria-prima, da área superficial e distribuição do tamanho dos poros e das características dos compostos a serem adsorvidos. Assim, o presente trabalho contempla a avaliação da remoção de perturbadores endócrinos por carvão ativado em pó (CAP), sob condições controladas em laboratório. Os perturbadores endócrinos selecionados para estudo foram o 17 $\beta$ -estradiol e o p-nonilfenol devido, respectivamente, ao maior potencial de risco aos seres vivos e às concentrações elevadas encontradas em esgotos e mananciais. A metodologia consistiu em ensaios de capacidade adsortiva, realizados com amostras preparadas com água deionizada (cerca de 1  $\mu$ g/L de 17 $\beta$ -estradiol e 100  $\mu$ g/L de p-nonilfenol) e CAPs produzidos no Brasil (3 de origem vegetal e 1 de origem animal), e análises de residuais utilizando o método ELISA. Verificou-se que o modelo de Freundlich foi o que melhor representou a adsorção do 17 $\beta$ -estradiol nos carvões de origem vegetal. Quanto às curvas de residuais obtidas, estas se assemelharam a um decaimento exponencial negativo com relação à dosagem de CAP, com remoções proporcionalmente mais significantes para dosagens menores que 10mg de CAP/L. Observou-se, a partir de correlações de dados, que o 17 $\beta$ -estradiol apresentou maior tendência a ser adsorvido nos microporos e que o carvão mineral tem um comportamento diferenciado, pois ao mesmo tempo em que apresentou o maior percentual de remoção, não se ajustou aos modelos de Freundlich e Langmuir. Quanto ao p-nonilfenol, devido a problemas experimentais, não são apresentados resultados, mas são relatadas as dificuldades enfrentadas.

**Palavras-chaves:** Perturbadores Endócrinos; Adsorção em Carvão Ativado; 17 $\beta$ -estradiol; p-nonilfenol.

## **ABSTRACT**

### **REMOVAL OF THE ENDOCRINE DISRUPTORS 17 $\beta$ -ESTRADIOL AND P-NONYLPHENOL BY DIFFERENT POWDERED ACTIVATED CARBONS (PAC) PRODUCED IN BRAZIL – EVALUATION IN BENCH SCALE**

**Author: Deborah Freitas Veras**

**Pos-graduated Program in Environmental Technology and Water Resources**

**September 28<sup>th</sup>, 2006, Brasília, DF**

In the last decades, a growing scientific concern and public debate have been raised over the potential adverse effects associates to human and animal exposure to endocrine disruptors (EDs). Domestic sewers and treated effluents are the most common source of contamination and, according to the literature, these substances are only partially removed by conventional water and wastewater treatments. Adsorption on activated carbon has been recognized as an option for the removal of endocrine disruptors. However, the activated carbon efficiency, in general, depends on the original material, on the superficial area and pores size distribution and on the characteristics of the compound to be adsorbed. This work presents an evaluation of the removal of endocrine disruptors by powdered activated carbon (PAC), carried out under controlled laboratory conditions. The endocrine disruptors selected to be evaluated were the 17 $\beta$ -estradiol and the p-nonylphenol due to, respectively, the higher risk potential to live beings and the high concentrations found in sewerage and raw water. Adsorptive capacity experiments were carried out using samples prepared with ultra-pure water (around 1  $\mu\text{g/L}$  de 17 $\beta$ -estradiol e 100  $\mu\text{g/L}$  de p-nonylphenol) and PACs produced in Brazil (3 of vegetal origin and 1 of animal origin). Immunoassay (ELISA) was used to quantify ED residuals. It was verified that the Freundlich's Model was more adequate to describe the adsorption of 17 $\beta$ -estradiol on PAC of vegetal origin. The residuals curves obtained followed, approximately, a negative exponential decline with the increase of PAC dosage, presenting more significant removals for dosages below 10mg of PAC/L. It was observed, from correlations data, that the 17 $\beta$ -estradiol had higher tendency to be adsorbed by micropores and that the animal origin PAC had a singular behavior. Although it presented the highest removal efficiency, the adsorption results were not adjustable to either Freundlich's or Langmuir's Models. Due to experimental problems, p-nonylphenol adsorption capacity data are not presented, nevertheless the difficulties faced are discussed in details.

**Keywords:** Endocrine Disruptors, Activated Carbon Adsorption, 17 $\beta$ -estradiol, p-nonylphenol.

## SUMÁRIO

<b>1 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 - OBJETIVO.....</b>	<b>4</b>
<b>3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
<b>3.1 - PERTURBADORES ENDÓCRINOS.....</b>	<b>5</b>
3.1.1 - O sistema endócrino.....	5
3.1.2 - Características gerais dos perturbadores endócrinos.....	10
3.1.3 - Características dos perturbadores endócrinos abordados nesse trabalho.....	19
3.1.4 - Extensão do problema.....	23
3.1.5 - Detecção dos perturbadores endócrinos.....	28
<b>3.2 - ADSORÇÃO POR CARVÃO ATIVADO.....</b>	<b>34</b>
3.2.1 - Histórico.....	34
3.2.2 - Princípio da adsorção.....	36
3.2.3 - Características da adsorção.....	39
3.2.4 - Adsorção por carvão ativado em pó (CAP).....	48
3.2.5 - Adsorção por carvão ativado granular (CAG).....	52
<b>3.3 - PROCESSOS DE REMOÇÃO DE PERTURBADORES         ENDÓCRINOS.....</b>	<b>58</b>
3.3.1 - Remoção por processo de oxidação.....	58
3.3.2 - Remoção por coagulação melhorada.....	63
3.3.3 - Remoção por filtração em membrana.....	67
3.3.4 - Remoção por carvão ativado.....	71
<b>4 - METODOLOGIA.....</b>	<b>80</b>
4.1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	80
4.2 - SELEÇÃO DOS TIPOS DE CARVÃO ATIVADO EM PÓ.....	80
4.3 - DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs.....	81
4.3.1 - Definição da configuração dos experimentos.....	81
4.3.2 - Desenvolvimento dos experimentos.....	87
4.3.3 - Quantificação dos perturbadores endócrinos em estudo.....	90
4.4 - CONSTRUÇÃO DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO.....	97

<b>5 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>99</b>
<b>5.1 - EXPERIMENTOS COM P-NONILFENOL - PROBLEMAS ENFRENTADOS.....</b>	<b>99</b>
<b>5.2 - AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs PARA REMOÇÃO DO 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL.....</b>	<b>109</b>
<b>6 - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>120</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>123</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>130</b>
<b>A - CARACTERÍSTICAS DOS CAPs E DOS KITs ELISA.....</b>	<b>131</b>
<b>A.1 - CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS DIFERENTES CAPs.....</b>	<b>131</b>
<b>A.2 - VOLUME E DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DOS POROS DOS CAPs.....</b>	<b>131</b>
<b>A.3 - GRANULOMETRIA DOS CAPs</b>	<b>131</b>
<b>A.4 - INFORMAÇÕES FORNECIDAS PELOS KITs ELISA</b>	<b>132</b>
<b>B - RESULTADOS OBTIDOS PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs COM RELAÇÃO AO 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL.....</b>	<b>133</b>
<b>B.1- VALORES RESIDUAIS DO 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL NO EXPERIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs.....</b>	<b>133</b>
<b>B.2 - CONCENTRAÇÃO RESIDUAL DE 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL (C<sub>e</sub>) E MASSA DE 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL ADSORVIDA POR UNIDADE DE CARVÃO (q<sub>e</sub>) .....</b>	<b>134</b>
<b>B.3 - PERCENTAGEM DE REMOÇÃO DE 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL.....</b>	<b>135</b>
<b>B.4 - MASSA DE 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL MÁXIMA ADSORVIDA POR UNIDADE DE CARVÃO (q<sub>e max</sub>).....</b>	<b>135</b>
<b>B.5 - VALORES DOS COEFICIENTES <i>n</i> E <i>K</i> DO MODELO DE FREUNDLICH.....</b>	<b>135</b>
<b>B.6 - VALOR DO COEFICIENTE <i>b</i> DO MODELO DE LANGMUIR.....</b>	<b>136</b>

<b>B.7-</b>	<b>VALORES DE pH E TEMPERATURA REGISTRADOS DURANTE OS EXPERIMENTOS.....</b>	<b>136</b>
<b>B.8-</b>	<b>DIMENSÕES DOS PRINCIPAIS COMPONENTES MICROSCÓPICOS E MOLECULARES PRESENTES EM ÁGUAS NATURAIS E TIPOS DE MEMBRANAS UTILIZAVEIS PARA A SUA SEPARAÇÃO.....</b>	<b>138</b>
<b>B.9 -</b>	<b>CORRELAÇÕES OBTIDAS ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DOS CAPs E A CONCENTRAÇÃO ADSORVIDA DE 17<math>\beta</math>-ESTRADIOL E O VALOR DE K .....</b>	<b>139</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 -	Perturbadores endócrinos mais comumente utilizados pelo homem.....	16
Tabela 3.2 -	Algumas substâncias consideradas como perturbadores endócrinos e seus efeitos em humanos.....	17
Tabela 3.3 -	Comparação dos valores detectados de estrogênios, nos efluentes de ETEs estudados por Ternes <i>et al.</i> (1999).....	26
Tabela 3.4 -	Outros estudos sobre detecção de substâncias perturbadoras endócrinas.....	27
Tabela 3.5 -	Vantagens e desvantagens de imunoenaios para amostras ambientais.....	30
Tabela 3.6 -	Classificação das técnicas analíticas de detecção de perturbadores endócrinos para diferentes matrizes ambientais.....	32
Tabela 3.7 -	Cronologia do uso do carvão ativado.....	35
Tabela 3.8 -	Classificação dos poros para carvões ativados.....	38
Tabela 3.9 -	Vantagens e Desvantagens dos diferentes pontos de aplicação do CAP.....	50
Tabela 3.10 -	Coagulação melhorada: percentual requerido de remoção de COT.....	64
Tabela 3.11 -	Valor limite de pH para estabelecimento da meta específica de remoção de COT na coagulação melhorada - segundo passo.....	65
Tabela 3.12 -	Características dos carvões utilizados nos dois grupos de ensaios realizados por Paune <i>et al.</i> (1998).....	73
Tabela 3.13 -	Resumo dos valores de K obtidos nos experimentos sobre cinética e dose-resposta de Yoon <i>et al.</i> ....	75
Tabela 3.14 -	Valores de K e dos tempos de equilíbrio de adsorção para os diferentes adsorvente estudados por Zhang e Zhou.....	77
Tabela 4.1 -	Nomenclaturas adotadas para os tipos de carvão ativado em pó nacionais utilizados nesse trabalho.....	81
Tabela 4.2 -	Características do 17 $\beta$ -estradiol e do p-nonilfenol.....	84
Tabela 4.3 -	Volumes para amostra e massas de carvões indicados para determinados níveis de concentração de adsorvato.....	86
Tabela 4.4 -	Principais características dos kits ELISA utilizados nesse trabalho....	91

Tabela 5.1 -	Resultados dos ensaios realizados com o carvão COCO para remoção do 4-nonilfenol.....	103
Tabela 5.2 -	Resumo das concentrações iniciais do 17 $\beta$ -estradiol.....	110
Tabela 5.3 -	Equações das isotermas de 17 $\beta$ -estradiol dos CAPs estudados para os diferentes ajustes aos modelos de Freundlich.....	112
Tabela 5.4 -	Resumo das correlações obtidas entre as características dos CAPs e a concentração adsorvida de 17 $\beta$ -estradiol na dosagem de 20mg de CAP/L e o valor de <b>K</b> .....	116
Tabela A.1 -	Características gerais dos diferentes CAPs estudados .....	131
Tabela A.2 -	Volume e distribuição do tamanho dos poros para os diferentes CAPs estudados.....	131
Tabela A.3 -	Granulometria dos carvões fornecida pelos fabricantes.....	131
Tabela A.4 -	Principais componentes que causam reações cruzadas.....	132
Tabela B.1 -	Valores residuais do 17 $\beta$ -estradiol em $\mu$ g/L obtidos nos experimentos.....	133
Tabela B.2 -	Valores de $C_e$ e $q_e$ utilizados para traçar os ajustes aos modelos de isotermas Freundlich e Langmuir.....	134
Tabela B.3 -	Porcentagem de remoção de 17 $\beta$ -estradiol.....	135
Tabela B.4 -	Massa de 17 $\beta$ -estradiol máxima adsorvida por unidade de carvão ( $\mu$ g/mg).....	135
Tabela B.5 -	Valores dos coeficientes <b>n</b> e <b>K</b> do modelo de Freundlich.....	135
Tabela B.6 -	Valor do coeficiente <b>b</b> do modelo de Langmuir.....	136
Tabela B.7.1 -	Valores de temperatura registrados durante os experimentos (°C).....	136
Tabela B.7.2 -	Valores de pH registrados durante os experimentos.....	137
Tabela B.8 -	Correlações obtidas entre as características dos CAPs e a concentração adsorvida de 17 $\beta$ -estradiol na dosagem de 20mg de CAP/L e o valor de <b>K</b> .....	139

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 -	Glândulas endócrinas presentes no corpo humano.....	6
Figura 3.2 -	Localização da hipófise e hipotálamo.....	7
Figura 3.3 -	Glândula hipófise.....	7
Figura 3.4 -	Síntese protéica dos hormônios esteróides.....	8
Figura 3.5 -	Fenômenos de desregulação endócrina.....	9
Figura 3.6 -	Pontos de provável detecção de perturbadores endócrinos nas ETEs e rotas de poluição ambiental.....	14
Figura 3.7 -	Pontos de entrada no meio ambiente dos estrogênios liberados por animais em fazendas.....	14
Figura 3.8 -	Estrutura química do $17\beta$ -estradiol e do p-nonilfenol.....	23
Figura 3.9 -	Ilustração de dois passos genéricos dos imunoenaios.....	29
Figura 3.10 -	Esquema da estrutura dos poros para carvões ativados: (a) estrutura cônica e (b) estrutura cilíndrica.....	39
Figura 3.11 -	Tipos de isotermas de adsorção.....	40
Figura 3.12 -	Tipos de isotermas de adsorção gasosa para caracterização de poros.....	41
Figura 3.13 -	Tipos de histereses em isotermas de adsorção-dessorção gasosa e a relação com o formato do poro.....	42
Figura 3.14 -	Isotermas de adsorção pelo modelo de Langmuir.....	43
Figura 3.15 -	Isotermas de adsorção pelo modelo de Freundlich.....	44
Figura 3.16 -	Isotermas de Freundlich linearizadas.....	45
Figuras 3.17 -	Efeito da temperatura na adsorção –esquemático.....	47
Figura 3.18 -	Esquemas das opções de localização do CAG.....	53
Figura 3.19 -	ZMT em uma coluna de CAG.....	55
Figura 3.20 -	Fenômeno de oxidação do $17\alpha$ -etinilestradiol no reator de $MnO_2$ .....	62
Figura 4.1 -	Tipos de termômetros utilizados no monitoramento de temperatura.....	82
Figura 4.2 -	Dispositivo de agitação para teste de jarros.....	82
Figura 4.3 -	Dessecador acoplado a bomba a vácuo.....	87
Figura 4.4 -	Esquema do procedimento utilizado nos experimentos de determinação da capacidade adsortiva dos CAPs.....	88
Figura 4.5 -	Filtração a vácuo.....	89

Figura 4.6 -	Exemplos de curvas de calibração dos kits ELISA.....	91
Figura 4.7 -	Etapas do ensaio ELISA.....	93
Figura 4.8 -	Leitora ELISA.....	93
Figura 4.9 -	Esquema de pré-tratamento para amostras com 17 $\beta$ -estradiol.....	95
Figura 4.10 -	Esquema de pré-tratamento para amostra com p-nonilfenol.....	96
Figura 4.11 -	Exemplo hipotético de uma isoterma de adsorção segundo a equação de Freundlich.....	98
Figura 4.12 -	Exemplo hipotético de uma isoterma de adsorção segundo a equação de Langmuir.....	98
Figura 5.1 -	Homogeneizador de sangue.....	107
Figura 5.2 -	Residuais de 17 $\beta$ -estradiol com as dosagens de CAP.....	110
Figura 5.3 -	Remoção de 17 $\beta$ -estradiol em diferentes dosagens para cada CAP.....	112
Figura 5.4 -	Isotermas de adsorção do 17 $\beta$ -estradiol para diferentes CAPs (ajuste ao modelo de Freundlich).....	113
Figura 5.5 -	Isotermas de adsorção do 17 $\beta$ -estradiol para diferentes CAPs (ajuste ao modelo de Langmuir).....	114
Figura 5.6 -	Valores das capacidades adsortivas máximas ( $q_e$ máx), obtidas a partir do ajuste aos modelos de Freundlich e Langmuir, considerando a concentração inicial de 1 $\mu$ g/L de 17 $\beta$ -estradiol.....	114
Figura 5.7 -	Parâmetros <b>K</b> e <b>n</b> do modelo de Freundlich.....	115
Figura B.1 -	Dimensões dos principais componentes microscópicos e moleculares presentes em águas naturais e tipos de membranas utilizáveis para a sua separação.....	138

## LISTAS DE SÍMBOLOS, NOMECLATURA E ABREVIACÕES

$\alpha$ .....	Alfa minúsculo e inclinação da isoterma linearizada do modelo de Langmuir.
ABNT.....	Associação Brasileira de Normas Técnicas
$Al_2O_3$ .....	Alumina Ativada
AHH.....	Aril-hidrocarboneto hidroxilase
APs.....	<i>Alkylphenols</i> (Alquifenóis)
APnEOs	<i>Alkylphenols Ethoxylates</i> (Alquifenóis Polietoxilatos)
ASTM.....	<i>American Society for Testing and Materials</i> (Sociedade Americana para Teste e Materiais)
atm.....	Unidade de pressão (atmosfera)
ATP.....	Adenosina tri-fosfato
AWWA.....	<i>American Water Works Association</i> (Associação Americana de Trabalhos com Água)
$\beta$ .....	Beta minúsculo
b.....	Constante que relaciona a energia de ligação do adsorvato com a superfície do adsorvente.
BET.....	Brunauer, Emmett, Teller (os três cientistas que aperfeiçoaram a teoria para medir a área superficial dos carvões ativados)
BPA.....	Bisfenol A
BTX .....	Benzeno, tolueno e xilenos
CA.....	Carvão Ativado
CAG.....	Carvão Ativado Granular
CAP.....	Carvão Ativado em Pó
$CaCO_3$ .....	Carbonato de Cálcio
CAS.....	Chemical Abstracts Service Número de registro único no banco de dados do <i>Chemical Abstracts Service</i> , uma divisão da Sociedade Americana de Química. O <i>Chemical Abstracts Service</i> atribui esses número a cada produto químico que é descrito na literatura.
$C_e$ .....	Concentração em equilíbrio do adsorvato em solução ou residual do adsorvato.
GC .....	<i>Gas Chromatografic</i> (Cromatografia Gasosa)
GC/MS.....	<i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> (Cromatografia gasosa ligada à espectrometria de massa)
GC/MS/MS.....	<i>Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry</i> (Cromatografia gasosa ligada à dupla espectrometria de massa)
LC.....	<i>Liquid Chromatografic</i> (Cromatografia Líquida)
LC/MS.....	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Líquida ligada à espectrometria de massa)
LC/MS/MS.....	<i>Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Líquida ligada à dupla espectrometria de massa)
$cm^2$ .....	Centímetro quadrado
$cm^3$ .....	Centímetro cúbico

C <sub>0</sub> .....	Concentração inicial do adsorvato ou concentrações iniciais de 17β-estradiol.
COD.....	Carbono Orgânico Dissolvido
COT.....	Carbono Orgânico Total
Da.....	Unidade de peso molecular (Dalton), um D corresponde ao peso de um átomo de hidrogênio.
DBPR .....	<i>Disinfection Byproduct Rule</i> (Legislação específica para subprodutos da desinfecção)
DBPs.....	<i>Disinfection Byproduct</i> (Subprodutos da desinfecção)
DBPC.....	Dibromocloropropano
d <sub>CAP</sub> .....	Dosagem de CAP
DDT.....	Dicloro Difenil Tricloroetano
DES.....	Dietilestilbestrol
DMSO.....	Dimetilsufóxido
DNA.....	Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucléico)
EEE2.....	17α-etinilestradiol
E2.....	17β-estradiol
EFS.....	Extração da Fase Sólida
ELISA.....	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i> (Imunoensaio enzimático)
ELRA.....	<i>Enzyme Linked Receptor Assay</i> (Ensaio receptor enzimático)
ENC.....	Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília
EOs.....	Etoxilados
EPA.....	<i>Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental Norte Americana)
ER.....	<i>Estrogen Receptor</i> (Receptor estrógeno)
ER-CA.....	<i>Estrogen Receptor Competition Assay</i> (Ensaio de competição com receptor estrógeno)
ETA.....	Estação de Tratamento de Água
ETE.....	Estação de Tratamento de Esgoto
ETU.....	Etilenotiouréia
EUA.....	Estados Unidos da América
FID.....	<i>Flame-Ionization Detector</i> (Detector de ionizador de chama)
g.....	Gramas
H1, H2, H3, H4.....	Tipos de Histereses
h.....	hora
HAA.....	Ácidos haloacéticos
HCB.....	Hexaclorobenzeno
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	Peróxido de hidrogênio
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	Ácido fosfórico
HPLC.....	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta pressão)
ICM.....	Contrastes de raios-X
IUPAC.....	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
K.....	Constante relacionada com a capacidade de retenção do adsorvente pelo adsorvato ou, simplesmente, constante de

	adsorção.
kg.....	Quilograma
$K_{wo}$ .....	Coefficiente de partição octanol/água
L.....	Litro
LD.....	Limite de detecção
LQ.....	Limite de quantificação
LAA.....	Laboratório de Análise de Água
log.....	Logaritmo
M.....	massa da substância por unidade de quantidade de matéria (Molar)
M.....	Mega
$m^2$ .....	Metro quadrado
$m^3$ .....	Metro cúbico
mg.....	Miligrama
$\mu\text{g}$ .....	Micrograma
MIB.....	Metilisoborneol
min.....	Minuto
mL.....	Mililitro
$\mu\text{L}$ .....	Microlitro
$\mu\text{m}$ .....	Micrometro
mm.....	Milímetro
$\text{Mn}^{+2}$ .....	Íons de manganês
$\text{MnO}_2$ .....	Óxido de Manganês
Mol.....	Unidade de mol
MS.....	<i>Mass Spectrometry</i> (espectrometria de massa)
MS-MS.....	<i>Tandem Mass Spectrometry</i> (Dupla espectrometria de massa)
MVLN.....	Células da linhagem celular MCF-7 derivadas do câncer de mama humano que são transferidas de forma estável com gene luciferase sob o controle de elementos que reagem a estrogênios do gene <i>Xenopus VGT A2</i> para a detecção de atividade receptora estrogênica.
n.....	Nano
n.....	Constante em função da força de ligação entre o adsorvente e o adsorvato.
N.....	Normal
$N^\circ$ .....	Número
$\text{N}_2$ .....	Nitrogênio
ng.....	Nanograma
nm.....	Nanometro
NPs.....	<i>Nonylphenols</i> (Nonilfenóis)
NPnECs.....	<i>Nonylphenols Acetic Acids</i> (Nonilfenóis Carboxilados)
NPnEOs.....	<i>Nonylphenols Ethoxylates</i> (Nonilfenóis Polietoxilados)
OCDE.....	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
$\text{O}_3$ .....	Ozônio
OMS.....	Organização Mundial de Saúde
Pa.....	Unidade de pressão (Pascal)
PAHs.....	<i>Polycyclic Aromatic Hydrocabons</i> (Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos)

PESTANAL.....	Substância padrão para uso pesticida
PCB.....	Policloreto de Bifenilas
PCF.....	Pentaclorofenol
pH.....	Potencial Hidrogeniônico
ppb.....	Partes por bilhão
ppt.....	Partes por trilhão
PVC.....	<i>Polyvinyl Chloride</i> (Cloreto de polivinil)
q <sub>e</sub> .....	Quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente ou massa do perturbador endócrino por unidade de carvão.
QI.....	Quociente de Inteligência
q <sub>máx</sub> .....	Limite de saturação (máxima massa de adsorvato por massa de adsorvente), capacidade máxima de adsorção do carvão ativado ou capacidade adsortiva máxima.
Q <sub>p</sub> .....	Vazão de projeto
RIA.....	<i>Radio Immuno Assay</i> (Radio-Imunoensaio)
RNA.....	<i>Ribonucleic Acid</i> (Ácido ribonucléico)
RNAm.....	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i> (Ácido ribonucléico mensageiro)
RNAt.....	<i>Transfer Ribonucleic Acid</i> (Ácido ribonucléico transportador)
rpm.....	Rotações por minuto
SDWA.....	<i>Safe Drinking Water Act</i> (revisão da legislação americana relativa a água de consumo humano)
T1, T2.....	Temperaturas
TBT.....	Tributilo estanho
t <sub>0</sub> .....	Tempo inicial para colocar a amostra no agitador
T <sub>C</sub> .....	Tempo de contato de leito vazio
THM.....	Trihalometanos
UE.....	União Européia
UnB.....	Universidade de Brasília
USA, US.....	<i>United States of American</i>
UV.....	Ultravioleta
V <sub>R</sub> .....	Volume requerido
VTG.....	Vitelogenina
YES.....	<i>Yeast Estrogen Screen</i> (Separação de estrogênio por levedura)
YTA.....	<i>Yeast Two-hybrid Assay</i> (Ensaio levedura bi-híbrido)
ZMT.....	Mass Transfer Zone (Zona de transferência de massa)
ZnCl <sub>2</sub> .....	Cloreto de zinco
%.....	Percentual
°C.....	Graus Celsius

# 1 - INTRODUÇÃO

Um dos temas que, nas últimas décadas, tem atraído a atenção da comunidade científica internacional é a presença no meio ambiente de um grupo específico de substâncias exógenas capazes de assumir ou inibir a função de hormônios naturais nos seres vivos alterando as funções do sistema endócrino, nervoso e imunológico. Este grupo é denominado de perturbadores endócrinos. (Nogueira, 2003 e Castro, 2002).

Essas substâncias são, em sua maior parte, provenientes de produtos como pesticidas, plásticos, detergente, lacas, tintas, antibióticos, fármacos e resíduos industriais e domésticos. No entanto, também se deve incluir a esse grupo os próprios hormônios eliminados pelo seres vivos, já que estes podem causar interferências em outros organismos de diversas espécies. Em geral, os perturbadores são compostos orgânicos, lipofílicos e semi-voláteis, o que facilita a dispersão ambiental pelos recursos hídricos (Nogueira, 2003).

As evidências científicas associadas ao impacto dessas substâncias perturbadoras endócrinas sobre a saúde humana ainda não são, totalmente, conhecidas, pois os seus efeitos necessitam de longo prazo para se manifestarem. Já com relação aos impactos sobre a vida aquática, para as concentrações encontradas nos esgotos sanitários, e em águas receptoras destes, já existem confirmações por meio de estudos *in vitro* e *in vivo*.

O trabalho contemplará o estudo de remoção de dois perturbadores endócrinos: 17 $\beta$ -estradiol (estrogênio natural) e p-nonilfenol (xenoestrogênio). Tais compostos foram escolhidos, respectivamente, pelo maior potencial de risco aos seres vivos e pelo elevado valor encontrado das concentrações em esgotos e mananciais.

O p-nonilfenol é largamente usado na fabricação de detergentes, óleos lubrificantes, pesticidas e realizando o papel de antioxidante, estabilizador e emulsificante em cloreto de polivinila (PVC) e poliestireno. Já o 17 $\beta$ -estradiol, é excretado, principalmente, pelas mulheres por meio da urina e das fezes, aumentando durante a gestação, períodos férteis e nos tratamentos de reposição hormonal.

Os efluentes domésticos são a fonte mais comum de contaminação ambiental por hormônios (estrogênios naturais e sintéticos) e pelo aporte de compostos como o p-nonilfenol aos ambientes aquáticos. Isto porque a remoção desses compostos nos tratamentos biológicos de esgotos ocorre em níveis não suficientes para a proteção da vida aquática, e com potenciais riscos para a saúde humana. Dessa forma é importante buscar soluções que sejam eficientes na remoção de perturbadores endócrinos, ajustáveis a sistemas em operação, com baixo custo e flexibilidade.

Atualmente, sabe-se que as tecnologias avançadas de carvão ativado e membrana de filtração são as mais eficientes na remoção dos perturbadores endócrinos, sendo a utilização das membranas em muitos casos inviável devido ao seu elevado custo. Outras opções são as técnicas aplicadas a sistemas convencionais, como a coagulação melhorada e oxidação que têm se mostrado eficiente na remoção de compostos orgânicos persistentes, sendo, portanto também possíveis de serem utilizadas na remoção dos perturbadores endócrinos.

Esse trabalho contemplará o estudo da técnica de remoção por carvão ativado em pó (CAP). A opção pelo CAP se deve ao fato dessa técnica ser adaptável a sistemas em operação tanto no tratamento de água de abastecimento como no polimento final das estações de tratamento de esgoto. Além disso, busca-se conhecer o potencial de aplicação dos carvões produzidos no Brasil na remoção dos perturbadores endócrinos em questão.

É importante comentar que o tema sobre perturbadores endócrinos ainda é pouco abordado, principalmente, no Brasil e, portanto, não há recomendações a respeito de padrões de qualidade na Portaria 518 e nem mesmo fornecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Dessa forma, a idéia de estabelecer um rigoroso controle do que é lançado nos corpos d'água e de um monitoramento contínuo dos mananciais de abastecimento torna-se essencial para a preservação ambiental e da saúde humana e, portanto, deve ser enfatizada.

O trabalho proposto será composto pelos capítulos de: introdução; objetivo; revisão bibliográfica; metodologia; apresentação e discussão dos resultados; e, conclusões e recomendações. Na revisão bibliográfica é feita uma apresentação do problema, juntamente com relatos sobre os diferentes processos de remoção dos perturbadores

endócrinos que vem sendo estudados. Além de uma abordagem teórica sucinta sobre o carvão ativado.

## 2 - OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é avaliar a remoção de perturbadores endócrinos por quatro diferentes tipos de carvão ativado em pó, produzidos no Brasil, sob condições controladas em laboratório.

São objetivos específicos desse trabalho:

- (1) Avaliar a capacidade adsortiva dos CAPs selecionados na remoção do perturbador endócrino  $17\beta$ -estradiol, em amostras sem interferências de outros compostos orgânicos.
- (2) Avaliar a capacidade adsortiva dos CAPs selecionados na remoção do perturbador endócrino p-nonilfenol, em amostras sem interferências de outros compostos orgânicos.
- (3) Avaliar, de forma preliminar, qual é a característica do CAP que melhor representa a capacidade de promover melhores remoções de  $17\beta$ -estradiol e p-nonilfenol.

## **3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 - PERTURBADORES ENDÓCRINOS**

#### **3.1.1 - O sistema endócrino**

O sistema endócrino é um conjunto de glândulas que apresentam como atividade característica a produção de hormônios. O principal objetivo desses hormônios é auxiliar nas funções e reações corporais de quase todos os animais vertebrados e invertebrados. Por exemplo, os ovários e os testículos são glândulas pertencentes ao sistema endócrino cuja função é controlar as funções sexuais, por meio da liberação dos hormônios estrogênio ( $17\beta$ -estradiol) e androgênio (testosterona), respectivamente (Nogueira, 2003).

As glândulas que compõem o sistema endócrino são classificadas em duas categorias:

- Endócrinas; que são agrupamentos celulares, localizados no interior de alguns órgãos bastante vascularizados, que liberam as suas secreções (hormônios) no tecido conjuntivo intercelular (que contém líquidos e diversas proteínas) e nos berços capilares, de onde ganham a corrente sanguínea para uma ação à distância. Na Figura 3.1 tem-se uma ilustração das diversas glândulas endócrinas presentes no corpo humano;
- Exócrinas; que são grupos celulares isolados que liberam as suas secreções em sistemas canaliculares, com ações somente locais. Ou seja, as secreções não são despejadas na corrente sanguínea, mas em outros órgãos ou para o exterior do corpo, por meio de canais. Exemplos dessas glândulas são as sudoríparas, mamárias e o pâncreas.

Com relação aos hormônios produzidos pelas glândulas, estes são classificados de duas formas diferentes de acordo como são recebidos pelas células-alvos (Nogueira 2003):

- Hormônios lipossolúveis (derivados de aminoácidos e esteróides); não precisam de emissores e receptores para atravessar a membrana celular, pois são de dimensão menor e substancialmente lipofílicos. Esses hormônios circulam livremente nas células alvos, interagindo no núcleo da célula com receptores nucleares muito específicos nos quais há um encaixe perfeito do hormônio, formando o chamado complexo chave-fechadura;
- Hormônios hidrossolúveis (protéicos e peptídeos); requerem emissores e receptores na superfície da membrana celular para que haja transmissão de uma célula para outra,

tendo em vista que esses hormônios são pouco solúveis na membrana celular lipídica pelo fato de serem, geralmente, constituídos por proteínas modificadas e apresentarem carga em sua estrutura.

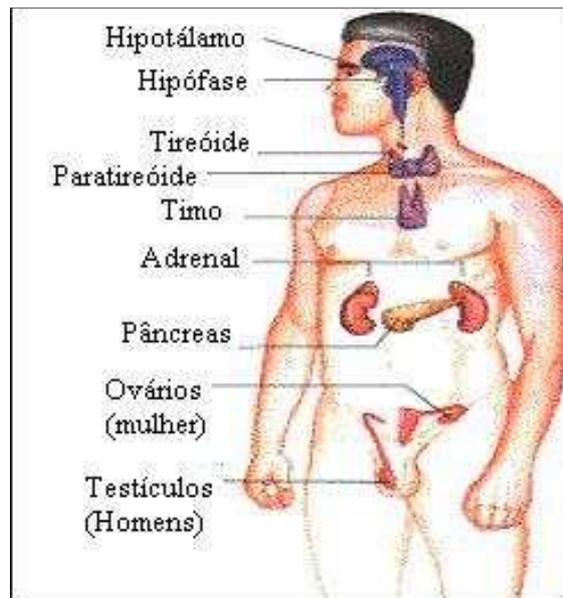


Figura 3.1 - Glândulas endócrinas presentes no corpo humano (Avancini e Favaretto, 1997).

A hipófise, ou pituitária, é considerada a glândula controladora do sistema endócrino porque a maioria dos hormônios por ela produzidos, os denominados tróficos, atuam sobre outras glândulas endócrinas, comandando as secreções dos hormônios dessas últimas. A hipófise se situa numa depressão do osso esfenoide, na base craniana, logo abaixo de uma região cerebral chamada hipotálamo, com o qual mantém estreitas relações anatômicas e funcionais. Na Figura 3.2 e 3.3 tem-se, respectivamente, a localização específica da hipófise e do hipotálamo e uma ilustração mais detalhada da hipófise.

No entanto, para que a hipófise controle outras glândulas, esta deverá ser estimulada pelo sistema nervoso através de conexões neurais com o hipotálamo, o qual produzirá substâncias semelhantes a hormônios, denominados fatores desencadeadores ou de liberação. Tal fato permite que o sistema endócrino interaja com o sistema nervoso formando um preciso mecanismo regulador, no qual o hipotálamo exerce a função de mediador entre esses dois sistemas.

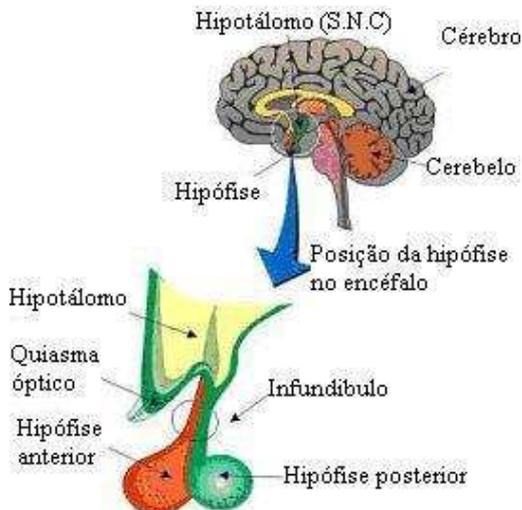


Figura 3.2 – Localização da hipófise e hipotálamo (César Jr. e Sezar, 2002).

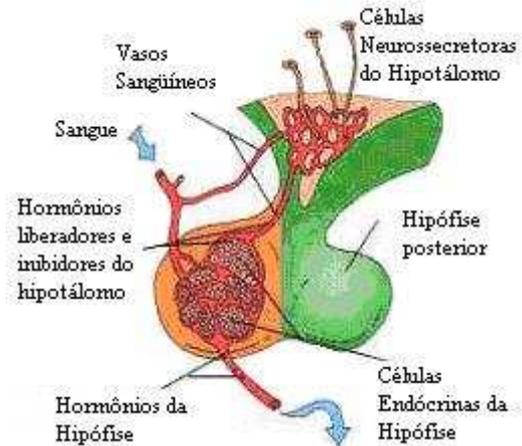


Figura 3.3 – Glândula hipófise (Avancini, e Favaretto, 1997).

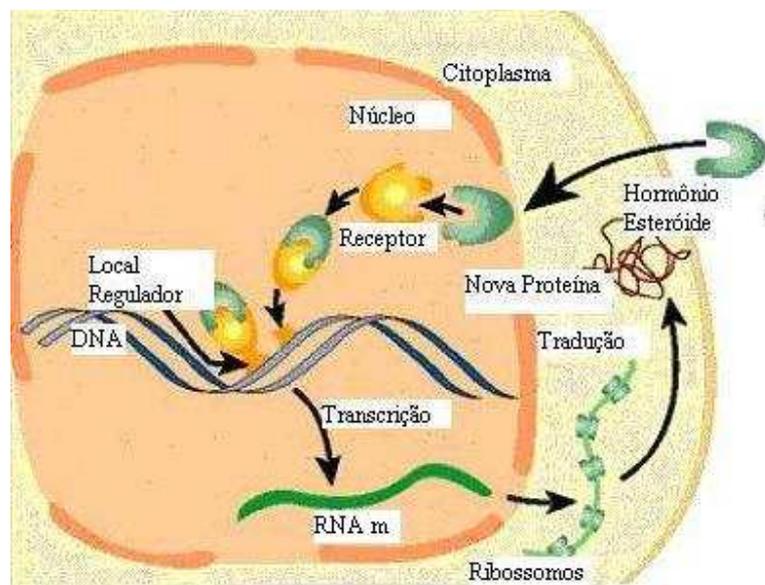
O mecanismo do sistema endócrino é acionado por reações das células nervosas a algum estímulo externo (exemplo: fome, medo, etc), ou seja, o sistema nervoso, mais precisamente o hipotálamo, enviará um sinal desencadeador à hipófise. Por sua vez, a hipófise liberará um determinado hormônio trófico que atuará sobre uma glândula endócrina específica, estimulando esta a produzir e liberar seu hormônio específico para a corrente sanguínea ou para ação local.

Esses últimos hormônios produzidos levam instruções às células-alvos onde se ligarão a receptores específicos. Os receptores podem estar localizados na superfície celular, como os dos hormônios protéicos e peptídicos, ou dentro da célula, como os receptores dos hormônios derivados de aminoácidos (exemplo: os produzidos pela tireóide) e os hormônios esteróides (exemplo: estradiol, progesterona e testosterona), como já mencionado.

O conjunto receptor-hormônio interpreta a mensagem hormonal e faz a transdução, isto é, a transformação do sinal numa reação química que determinará o efeito hormonal. A transdução é composta de duas fases. A primeira delas é a transcrição em que ocorre o processo de decodificação da mensagem contida no gene para uma fita de ácido ribonucléico mensageiro (RNAm), atividade esta realizada pela enzima RNA polimerase produzida pelos ribossomos. Essa fita de RNAm contém as informações para produzir as proteínas. Em seguida, tem-se a fase de tradução em que ocorre a síntese e fabricação das

proteínas, onde os ribossomos presentes na célula decodificam a mensagem do RNAm para uma cadeia de aminoácidos. Essa decodificação baseada em trincas de nucleotídeos, chamados de codons, que especificam os aminoácidos.

Assim, com a produção das proteínas, têm-se dois tipos de efeitos possíveis: em longo prazo (exemplo: crescimento ou maturação sexual) e alteração imediata da atividade da proteína existente na célula (exemplo: aumento do ritmo cardíaco). Na Figura 3.4 tem-se uma ilustração da síntese protéica dos hormônios esteróides.



(a) Processo de transdução



(b) Fase de tradução

Figura 3.4 – Síntese protéica dos hormônios esteróides (Guido, 2005 - modificado).

Com a ativação da célula-alvo, há um sinal que retorna à glândula endócrina, que produziu o hormônio, determinando a parada da secreção do mesmo, denominado mecanismo de

“*feedback*” negativo. Já nos casos em que o nível hormonal não tenha sido suficiente para produzir as respostas metabólicas esperadas, é liberado um sinal de “*feedback*” positivo que estimula a glândula endócrina a produzir mais hormônio. O controle da produção hormonal pelo mecanismo “*feedback*” é um dos meios mais importantes na manutenção do equilíbrio (homeostase) orgânico. Deve-se ressaltar que a inibição ou ativação ocorre como uma reação em cadeia até chegar ao hipotálamo.

A desregulação ou alteração (perturbação) das funções endócrinas pode estar associada a interferências na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação dos hormônios naturais dos organismos; desencadeando, assim, uma nova resposta hormonal. Uma substância, ao imitar a ação de um hormônio endócrino, desencadeia de modo exagerado ou em tempo inadequado um estímulo falso; sendo esse fenômeno designado efeito agonista. Na Figura 3.5 (b), tem-se um receptor intracelular específico ao hormônio estradiol, sob a ação agonista por parte da molécula do dicloro difenil tricloroetano (DDT). Nesse caso, a substância sintética DDT ocupa o lugar do hormônio estradiol no receptor, por apresentar um formato estrutural semelhante ao do hormônio como mostrado na Figura 3.5 (a) (Nogueira, 2003).



(a) (b) Efeito agonista (c) Efeito antagonista

Figura 3.5 – Fenômenos de desregulação endócrina (Nogueira, 2003).

Quando uma substância, por sua vez, bloqueia um receptor específico de um determinado hormônio endógeno, ela passa a reduzir ou anular os estímulos esperados, nesse caso, o fenômeno é denominado efeito antagonista. Na Figura 3.5(c) tem-se, como exemplo, a ação antagonista do benzo[a]pireno sobre o receptor do estradiol. Embora a estrutura do benzo[a]pireno não seja semelhante ao estradiol, esta é capaz de bloquear a entrada do receptor, inutilizando o mesmo. Dessa forma, a partir da análise de ambos os fenômenos,

observa-se a facilidade com que as substâncias exógenas podem ser capazes de desencadear mecanismos desreguladores, não só em seres humanos, mas em outros animais bem como nos vegetais (Nogueira, 2003).

De um modo geral, há bastante semelhança entre os hormônios existentes nas diversas espécies de animais vertebrados, tanto em sua forma quanto em sua função. Segundo a EPA (2001) é possível se verificar atividades perturbadoras endócrinas em animais relacionadas desde o desenvolvimento anormal da tiróide em pássaros e peixes, até a diminuição da fertilidade e alterações sexuais e imunológicas em crustáceos, peixes, pássaros, répteis e mamíferos. Nos vegetais, embora haja outra estrutura e outras funções, o mecanismo é também semelhante. Razão pela qual uma substância que interfere nos mecanismos de ação hormonal pode atuar alterando o desenvolvimento, reprodução e funções de seres vivos de diversas espécies.

### **3.1.2. Características gerais dos perturbadores endócrinos**

Os perturbadores endócrinos são substâncias (ou mistura de substâncias) exógenas capazes de assumir ou inibir a função de hormônios naturais nos seres vivos. Acarretando, assim, alterações nas funções do sistema endócrino, nervoso e imunológico, e, conseqüentemente, prejudicando a saúde dos organismos, de sua descendência ou de sub-populações (Nogueira, 2003 e Castro, 2002).

Essas substâncias são, em sua maior parte, provenientes de produtos como pesticidas, plásticos, detergente, lacas, tintas, antibióticos, fármacos e resíduos industriais e domésticos. No entanto, também se deve incluir a esse grupo os próprios hormônios eliminados pelo seres vivos, já que estes podem causar interferências em outros organismos de diversas espécies. Em geral, os perturbadores são compostos orgânicos, lipofílicos e semi-voláteis, o que facilita a dispersão ambiental pelos recursos hídricos (Nogueira, 2003).

Segundo Silva (2005b), os mecanismos mais prováveis de ação dos perturbadores endócrinos são:

- A interação do perturbador endócrino com um receptor específico para desencadear as alterações que seriam provocadas pelo hormônio naquele sítio de atuação, porém de forma exagerada ou em tempo inadequado (efeito agonista);
- O bloqueio da ação do hormônio pelo perturbador endócrino ao ocupar os receptores que seriam destinados especificamente ao hormônio, impedindo, dessa forma, que sua função seja exercida (efeito antagonista);
- Os danos causados pelo perturbador endócrino no metabolismo dos hormônios sejam na sua síntese, como citado acima, ou mesmo na destruição e eliminação fisiológica ou natural;
- Os danos capazes de afetar o Sistema Nervoso Central, onde se encontra o controle da produção hormonal por meio do hipotálamo, que, como já mencionado, é o responsável por acionar a glândula hipófise. Como os hormônios são regulados por mecanismos de “*feedback*”, ou seja, estes são produzidos de acordo com os níveis hormonais detectados, constantemente, pelo hipotálamo na corrente sanguínea, qualquer interferência central pode afetar o controle de diversos hormônios, tanto por receber informações erradas dos níveis sanguíneos, como por ações deletérias sofridas diretamente no próprio Sistema Nervoso Central;
- Os efeitos tóxicos causados pelos perturbadores endócrinos quando estes agem como um receptor celular não hormonal. Isso ocorre na presença de dioxinas e PCBs que podem interagir com as células e desencadear uma série de efeitos biológicos, dentre os quais, o bloqueio hormonal. Esse pode ser o mecanismo pelo o qual estas substâncias causam efeito anti-estrogênico.

Devido ao fato da grande maioria dos perturbadores endócrinos serem bioacumulativos, é difícil estabelecer uma relação causal direta de apenas um determinado perturbador endócrino com um determinado problema no ser vivo. Mas é sabido que os perturbadores endócrinos naturais encontrados nas verduras, cereais, plantas, temperos e frutas não são acumulados e sim excretados de forma natural, pois o organismo humano já está adaptado a essas substâncias. No entanto, segundo Kümmerer (2001) esses estrogênios naturais são capazes de interferir no sistema reprodutivo de organismos aquáticos de forma antagonista.

Já em relação aos perturbadores endócrinos de origem química, estes são sempre acumulados nos tecidos gordurosos dos seres vivos. Isto faz com que o nível interno de contaminação seja sempre superior aos próprios hormônios produzidos naturalmente e aos

níveis existentes no ambiente externo, o que aumenta as chances de ações deletérias no organismo, por meio da competição pelos sítios receptores (Guimarães, 2005).

Os efeitos adversos dos perturbadores endócrinos sobre os organismos vivos dependem da dose, da carga genética, da forma e da duração da exposição. Além disso, em geral, os indivíduos são mais susceptíveis em determinadas fases do crescimento e desenvolvimento. Os efeitos podem ser reversíveis ou não, e se manifestarem de uma forma aguda ou crônica. É importante ressaltar que para estimular o sistema hormonal são necessárias concentrações pequenas, da ordem das partes por bilhão (ppb) ou mesmo partes por trilhão (ppt), sendo essa a principal razão porque pequenos teores exógenos podem ser perigosos.

As fontes de contato com os perturbadores endócrinos são diversas e podem ocorrer de forma voluntária ou não. Assim, os seres vivos estão expostos aos perturbadores endócrinos por meio de sua dieta diária, incluindo o consumo de água potável; no contato com o ar e solo contaminado; ao utilizar produtos comerciais contendo perturbadores endócrinos sintéticos como pesticidas, aditivos de alimentos ou produtos de limpeza; e ao manipular com propósito benéfico ou terapêutico cosméticos e pílulas anticoncepcionais. Alguns desses produtos, como já foi comprovada sua periculosidade, não são mais amplamente comercializados ou tiveram sua produção limitada e, ou proibida (Castro, 2002).

Outro ponto que agrava a situação é a possível acumulação dessas substâncias perturbadoras endócrinas no solo e nos sedimentos de rios, sendo facilmente transportadas a longas distâncias de suas fontes. Essas substâncias permanecem na cadeia trófica, representando um sério risco à saúde daqueles que se encontram no topo da cadeia alimentar, ou seja, os seres humanos (Meyer *et al.*, 1999).

Um dos exemplos de como a acumulação se verifica é relatado em pesquisas realizadas na região dos Grandes Lagos, entre os EUA e Canadá. No Lago Ontário observou-se a biomagnificação do PCB (policloreto de bifenilas), desde os fitoplânctons e zooplânctons até trutas e gaivotas. Considerando a concentração de PCB no sedimento do lago como valor inicial, os pesquisadores observaram que a concentração aumentou de: 250 vezes no fitoplâncton; 500 vezes no zooplâncton; 2.800.000 vezes nas trutas e 25.000.000 vezes nas

gaivotas (Colborn *et al.*, 2002). Um exemplo de dispersão de perturbadores endócrinos foi relatado por Smith e Samuelsen (1996) em que alguns antibióticos como cloranfenicol e o oxitetraciclina, usados nos cultivos de peixes, foram comumente encontrados também em sedimentos de origem marinha.

Outro aspecto que desperta o interesse pelo assunto é a presença freqüente de substâncias perturbadoras endócrinas nos efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETEs), em sua maioria proveniente das excreções humanas, e, conseqüentemente, em águas naturais receptoras, pois, essas substâncias, em geral, não são completamente removidas pelos sistemas convencionais de tratamento de esgotos. Isso porque, de acordo com Richardson *et al.* (1985 *apud* Bila e Dezotti, 2003), nas ETEs existem três possíveis destinos para os estrogênios: serem biodegradados; metabolizados ou degradados parcialmente; ou, ainda permanecerem no meio. Ou seja, a remoção nem sempre é completa.

Além do lançamento dos efluentes de ETEs em águas superficiais, há outras rotas de contaminação ambiental por perturbadores endócrinos a partir das ETEs. Um exemplo pode ser o composto proveniente do lodo digerido, usado como fertilizante na agricultura, que é capaz de promover a contaminação das águas subterrâneas. Uma avaliação dos pontos em que os estrogênios podem ser encontrados nas diversas rotas de saídas das ETEs é apresentada na Figura 3.6.

Os excrementos da criação de animais (gado, porcos, galinha, etc.) são considerados, potencialmente, a maior fonte de poluição de estrogênio no ambiente. Os componentes principais são: estrona;  $17\alpha$ -estradiol;  $17\beta$ -estradiol e conjugados. Ressalta-se a quantidade de  $17\alpha$ -estradiol liberada nos excretas desses animais que, ao contrário dos humanos, apresenta valores significantes. As quantidades de estrogênios variam com o tipo de criação e as condições de saúde do animal (Danish EPA, 2003).

Um documento publicado pela Agência Ambiental Dinamarquesa (Danish EPA, 2003) relata, a partir de estudos realizados nos Países Baixos, que a concentração de estrogênio nas fezes e urinas de vacas não-prenhas é, respectivamente de, aproximadamente,  $30\mu\text{g}/\text{kg}$  e  $15\mu\text{g}/\text{L}$ . Já a média de excreção durante a gestação é de  $1,3\text{mg}/\text{dia}$  por animal. Semelhantemente, a excreção média de estrogênios para porcas prenhas é de  $1,13\text{mg}/\text{kg}$  de esterco e para porcas não-prenhas essa concentração é de 100 a 200 vezes inferior.

Acredita-se que esses valores acarretam uma concentração estimada de aproximadamente 1,3µg/L de estrogênios em águas superficiais, pois é suposto que cerca de 3% do esterco aplicado em campos agrícolas é lixiviado. Uma avaliação das rotas de como o estrogênio liberado por animais pode vir a poluir o meio ambiente é mostrada na Figura 3.7.

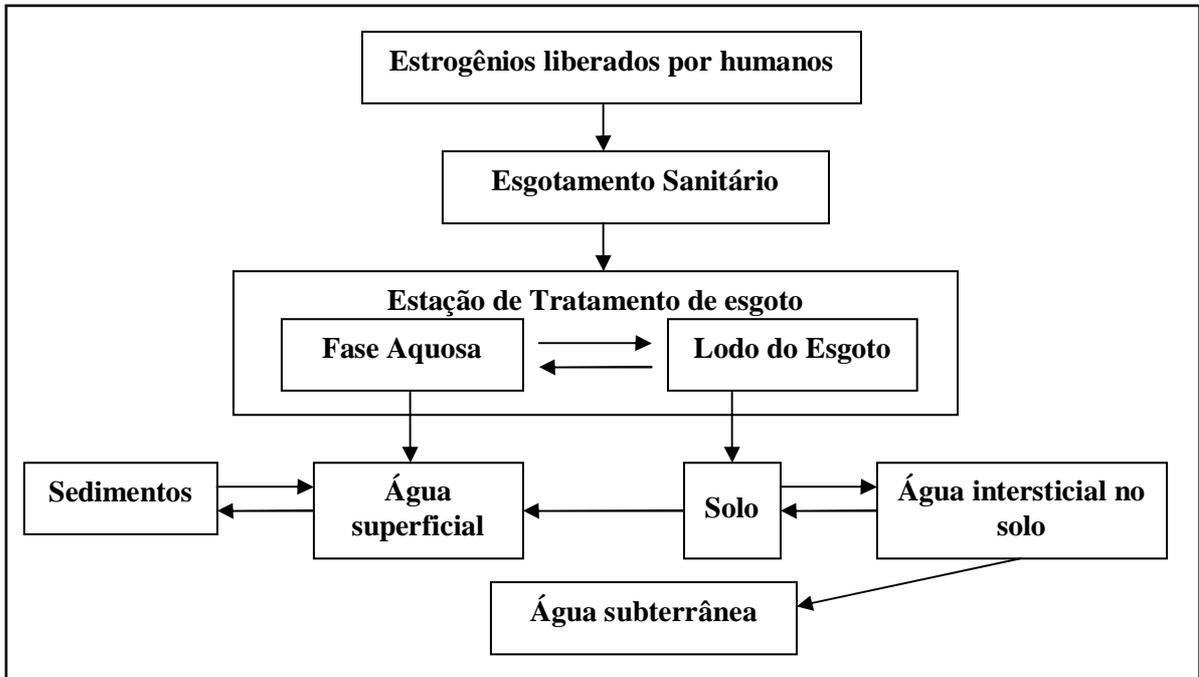


Figura 3.6 – Pontos de provável detecção de perturbadores endócrinos nas ETEs e rotas de poluição ambiental. (Danish EPA, 2003 - modificado).

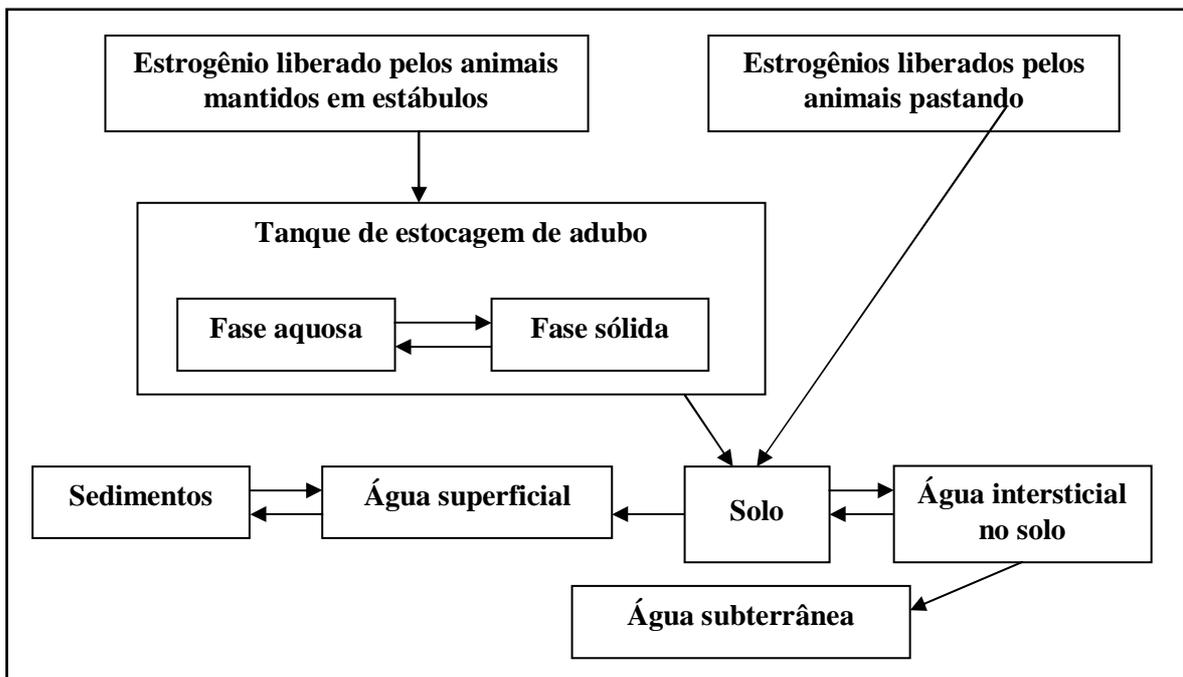


Figura 3.7 – Pontos de entrada no meio ambiente dos estrogênios liberados por animais em fazendas (Danish EPA, 2003 - modificado).

É importante comentar que a presença de antibióticos que são ministrados por meio da alimentação dos animais para acelerar o crescimento na produção de gado e avícola, e como aditivo de alimento para peixes e porcos, é uma outra fonte de contaminação química do solo, das águas subterrâneas e superficiais. Segundo Kümmerer (2001), os antibióticos merecem atenção especial porque são encontrados em grandes quantidades e tem a capacidade de promover o desenvolvimento de bactérias resistentes no meio ambiente.

Segundo Xelegati e Robazzi (2003), uma fonte de contaminação humana que merece destaque são as áreas hospitalares. Nessas áreas são comumente usados alguns tipos de medicamentos e produtos para esterilização de equipamentos cirúrgicos que apresentam perturbadores endócrinos na composição e, portanto, oferecem riscos aos profissionais da área. Já segundo Bila e Dezotti (2003), atenção também deve ser dada aos aterros que recebem, erroneamente, resíduos provenientes das indústrias farmacêuticas, oferecendo riscos de contaminação das águas subterrâneas.

O lixo domiciliar é outra fonte importante que deve ser considerada, pois sempre contém metais que agem como substâncias endócrinas. Guimarães (2005) relata, em estudos realizados na cidade de São Paulo, que resíduos de mercúrio e chumbo foram encontrados no lixo coletado e cádmio, chumbo, manganês e mercúrio no chorume captado em aterros e lixões nas áreas que recebem todo o lixo coletado da cidade.

Quanto ao enquadramento os perturbadores endócrinos, este pode ser dividido em quatro classes: estrogênios naturais (exemplo: estrona, estradiol, estriol); estrogênios sintéticos (exemplo: fármacos); fitoestrogênios (exemplo: produtos naturais); xenoestrogênios (exemplo: químicos industriais como, bisfenol A, p-nonilfenol, DDT) (Nogueira, 2003). Na Tabela 3.1, é apresentada algumas características dos compostos perturbadores endócrinos mais comumente utilizados pelo homem e na Tabela 3.2, elaborada a partir do levantamento desenvolvido por Guimarães (2005), são mostrados os principais efeitos nos seres humanos atribuídos, a ação de alguns agentes perturbadores endócrinos.

Algumas substâncias presentes na Tabela 3.2 são citadas na Portaria 518. Nesse documento são apresentados os valores máximos permitidos para que determinadas substâncias estejam presentes na água de abastecimento, seja porque estas causam riscos à saúde ou porque as mesmas necessitam está dentro de certos padrões de aceitação para consumo

humano, como por exemplo, no caso do manganês que causa coloração à água. No entanto, é importante ressaltar que nenhuma substância é relatada pela Portaria 518 com respeito a características perturbadoras endócrinas.

Tabela 3.1 – Perturbadores endócrinos mais comumente utilizados pelo homem (Nogueira , 2003 - modificado)

<b>Perturbador</b>	<b>Aspectos gerais</b>
Fenóis	Surfactantes utilizados nos detergentes e desinfetantes (exemplo: p-nonilfenol), componentes constituintes de resinas (exemplo: bisfenol A) e clorofenóis (exemplo: 2,4,6 triclorofenol).
Ftalatos	Muito utilizado como aditivo plastificante na constituição dos plásticos e de outros polímeros. Exemplo: dibutilftalato.
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs)	Provenientes de fontes naturais (erupções vulcânicas, fogos, etc) e de fontes antropogêneas como da queima de combustíveis fósseis e incineração de resíduos (exemplo: benzo[a]pireno).
Hormônios sintéticos	Componentes constituintes da pílula contraceptiva (exemplo: etinilestradiol) que são excretadas na urina numa forma conjugada e inativa. As formas conjugadas são muito sensíveis a eventuais ações bacterianas, no tratamento de efluentes domésticos, o que acarreta, novamente, a presença de atividade estrogênica com a formação dos hormônios livres. Também fazem parte desse grupo alguns hormônios usados no passado que, atualmente, foram banidos dos circuitos comerciais (exemplo: dietilstilbestrol).
Pesticidas e biocidas	Compostos muito utilizados na agricultura, como: organoclorados (exemplo: DDT); organofosforados (exemplo: clorpirifós-metil); propionaminas (exemplo: propanil), triazinícos (exemplo: atrazina) e organometálicos, como é o caso do cloreto de tributilo estanho (TBT) usado nas tintas antivegetativas para embarcações marítimas, entre outros.
Policloretos de bifenilas (PCBs) e dioxinas	Compostos que têm origem em diversos processos industriais ou resultam como subprodutos da co-incineração.
Produtos naturais	Ocorrem em diversos tipos de plantas (exemplo: coumestrol).

Tabela 3.2 – Algumas substâncias consideradas como perturbadores endócrinos e seus efeitos em humanos (Guimarães, 2005 - modificado)

<b>Perturbadores endócrinos</b>	<b>Efeitos em seres humanos (*)</b>
Atrazina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduzem a qualidade de esperma (Swan, 2003).</li> </ul>
Ascarel (PCB)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causam declínio da função do sistema imunológico, e com isso se tem o aumento de doenças infecciosas (Penteado e Vaz, 2001);</li> <li>• Acumula no leite materno das mulheres grávidas ou em fase de amamentação, acarretando, assim, na contaminação da criança ao ser alimentada (WHO, 2001);</li> <li>• Causa endometriose (Santamarta, 2001);</li> <li>• Afeta o feto atravessando a barreira placentária. Crianças nascidas de mães que possuem PCB no sangue têm peso reduzido e QI inferior (Baird, 2002);</li> <li>• Acumula nos tecidos do feto, portanto, contaminando a criança mesmo antes do nascimento (Nogueira <i>et al</i>, 1987);</li> <li>• Filhos de mães que ingeriram óleo contaminado com PCB possuem o tamanho do pênis reduzido quando na puberdade (Colborn <i>et al</i>, 2002).</li> </ul>
Benzo(a)antraceno; Benzo(a)pireno	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alteram a ação de linfócitos e são mutagênicos (Patnaik, 2002).</li> </ul>
Bisfenol A	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Substitui a recepção do estrogênio; diminui a ovulação; aumenta de secreção da prolactina (Wozniak <i>et al</i>, 2005).</li> </ul>
BTX (Benzeno, tolueno e xilenos).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causam anomalias menstruais, como aumento do sangramento e dos intervalos do ciclo (Mendes, 1997);</li> <li>• São capazes de se fixarem nos glóbulos vermelhos (Azevedo e Chasin, 2003).</li> </ul>
Carbaril	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inibem o acetilcolinesterase, causador de hipotireoidismo (Larini, 1999);</li> <li>• Causa redução na contagem de espermatozóides e estimula presença de espermatozóides anormais (Mendes, 1997).</li> </ul>
Cádmio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa câncer de próstata (Cardoso e Chasin, 2001);</li> <li>• Concentram-se no pâncreas, nos testículos, tireóide e glândulas salivares (Della Rosa e Gomes, 1988);</li> <li>• Acumula no leite materno (WHO, 2001);</li> <li>• Causa atrofia testicular, redução no volume do esperma e tumores nos testículos (Patnaik, 2002).</li> </ul>
Cloreto de Cádmio; Metiram; Mancozeb; Maneb; Zineb (os 3 últimos contêm etilenotiouréia – ETU).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa hipotireoidismo (Ministério da Saúde, 2001).</li> </ul>
Chumbo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduz a qualidade do esperma (Moreira e Moreira,</li> </ul>

	<p>2004);</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa hipotireoidismo decorrente de alterações funcionais da hipófise (Ministério da Saúde, 2001);</li> <li>• Acumula no leite materno (WHO, 2001);</li> <li>• Causa atrofia testicular e redução da quantidade do esperma (Patnaik, 2002);</li> <li>• Causa aborto espontâneo (Mendes, 1997);</li> <li>• Acumula na tireóide, adrenais, pituitária, testículos e ovários (Teves, 2001);</li> <li>• Passa pela placenta entre a 12ª e 14ª semana. Atinge o cérebro do feto. Aumenta de forma significativa a taxa de abortos, a natimortalidade, a pré-maturidade, diminuição no crescimento pós-natal e o aumento da taxa de má-formação (Peres <i>et al.</i>, 2001).</li> </ul>
Clordano; Dieldrin; DDT; Endosulfan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acumula no leite materno (WHO, 2001);</li> <li>• Causa criptorquidia, hipospadia (Santamarta, 2001);</li> <li>• Aumenta as irregularidades menstruais (Mendes, 1997).</li> </ul>
Compostos pirimidínicos (Metirimol, Etirimol e Ciprodinil)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inibem a produção de hormônios esteróides (Colborn <i>et al.</i>, 2002).</li> </ul>
DBPC (Dibromocloropropano)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminuem a motilidade e a produção de espermatozóides (Bowler e Cone, 2001).</li> </ul>
Dissulfeto de Carbono	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perturba o balanço hormonal entre o cérebro, glândula pituitária e ovários, levando a distúrbios menstruais (Batstone, 2001).</li> </ul>
Estireno	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa más formações, ou seja, são teratogênicos (Larini, 1997).</li> <li>• Causa aborto espontâneo. Os filhos de mulheres expostas ao estireno apresentam peso inferior (Mendes, 1997).</li> </ul>
Ftalatos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduzem a qualidade do esperma; são teratogênicos e causam feminilização (McGinn, 2004).</li> </ul>
HCB (Hexaclorobenzeno)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acumula no leite materno (WHO, 2001);</li> <li>• Hipotireoidismo (Ministério da Saúde, 2001);</li> <li>• Supressão imunológica (Patnaik, 2002);</li> <li>• Esteatose, hepatomegalia (Patnaik, 2002).</li> </ul>
Manganês	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa danos ao DNA dos linfócitos;</li> <li>• Mal de Parkinson (Martins e Lima, 2001);</li> <li>• Impotência (Boeler e Cone, 2001);</li> <li>• Concentra-se na tireóide, pituitária, suprarenais e pâncreas (Teves, 2001).</li> </ul>
Mercúrio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causam ciclo menstrual irregular, menos ovulações, são teratogênicos (Cardoso, 2002);</li> <li>• Acumula no leite materno (WHO, 2001);</li> <li>• Acumulam no pâncreas, testículos e próstata (Teves, 2001);</li> <li>• Atravessa a barreira placentária. Causa</li> </ul>

	<p>hematoencefálica, na forma de metilmercúrio (Azevedo e Chasin, 2003);</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa aborto espontâneo, natimortos, Síndrome de Paralisia Cerebral e danos ao cerebelo em filhos de mães que consumiram peixes com metilmercúrio (Azevedo, 2003).</li> </ul>
Óxido de Etileno	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidência de aborto espontâneo em profissionais que esterilizam instrumentos (Xelegati e Robazzi, 2003).</li> </ul>
PCF (Pentaclorofenol)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Porfiria cutânea tardia, pápulas, pústulas e efeitos nas glândulas sudoríparas (Vieira <i>et al.</i>, 1981);</li> <li>• Concentra-se nas adrenais. Causa hepatomegalia. Aumento de atividade da aril-hidrocarboneto hidroxilase (AHH), resultando em mutagenicidade e carcinogenicidade irreversíveis (Larini, 1999);</li> <li>• Anemia aplástica, citopenia, agranulocitose, cloroacne (Ministério da Saúde, 2001)</li> </ul>
Soldagem	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Espermatozóides com formato anormal (Batstone, 2001).</li> </ul>
Triclorfon	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa diminuição de espermatozóides e do fluido seminal e formação de espermatozóides anormais (Spritzer <i>et al.</i>, 2001).</li> </ul>

(\*) Todas as referências citadas nessa tabela podem ser encontradas no trabalho de Guimarães (2005).

### 3.1.3. Características dos perturbadores endócrinos abordados nesse trabalho

O trabalho, em questão, contemplará o estudo da remoção específica de dois perturbadores endócrinos: um estrogênio natural ( $17\beta$ -estradiol) e um xenoestrogênio (p-nonilfenol), que respectivamente, foram escolhidos pelo potencial de risco ao seres vivos e pelo elevado valor encontrado das concentrações em esgotos e mananciais.

O  $17\beta$ -estradiol é um hormônio natural que nas mulheres é responsável pela síntese de estrogênio circulante. De acordo com os relatos realizados por Carmo (2004), esse hormônio é produzido principalmente pelos ovários em altos valores perto do período de ovulação (mulheres na pré-menopausa) e por meio da conversão de androgênios, derivados da adrenal, em estrogênios no tecido adiposo (mulheres na pós-menopausa). Essa síntese também pode ocorrer em células epiteliais, no tecido adiposo associado à mama, ou ainda em células infiltrantes linforreticulares.

O 17 $\beta$ -estradiol e seus compostos análogos estão presentes na maior parte dos corpos d'água que recebem efluentes domésticos. De acordo com Johnson *et al.* (1999), a quantidade de estrogênio diária liberada por mulheres grávidas é capaz de atingir até 30mg, sendo os valores médios liberados por mulher na ordem de 250 $\mu$ g/dia. Em relação às mulheres na fase de pré-menopausa, esse valor pode variar de 10 a 100 $\mu$ g/dia e após a menopausa decresce para valores entre 5 a 10 $\mu$ g/dia. É importante ressaltar a presença de outros estrogênios naturais nos efluentes como o estriol e a estrona, sendo a estrona um metabólito do 17 $\beta$ -estradiol com concentrações que chegam a ser duas vezes tão altas quanto as encontradas de 17 $\beta$ -estradiol e com atividade hormonal variando entre 0,2 a 0,5 vezes a do 17 $\beta$ -estradiol. Quanto aos homens, segundo Williams *et al.* (1996, *apud* Danish EPA, 2003), os valores médios liberados de estrogênios variam entre 2 a 25 $\mu$ g/dia.

Outro composto análogo que merece destaque devido sua ocorrência é o 17 $\alpha$ -etinilestradiol, que consiste no principal componente da pílula anticoncepcional e, comumente, é eliminado na urina e nas fezes das mulheres. Por exemplo, para mulheres que usam pílulas contraceptivas, o valor diário liberado desse tipo de estrogênio varia entre 25 a 50 $\mu$ g/dia (Danish EPA, 2003).

Um exemplo da ocorrência do 17 $\beta$ -estradiol e de seus compostos análogos foi apresentado recentemente em um estudo conduzido pelos *US Geological Survey* com efluentes domésticos recebidos por corpos d'água que atravessam os Estados Unidos. Esse estudo relatou que a frequência de ocorrência do 17 $\beta$ -estradiol e da estrona é, aproximadamente, de 10 e 7%, com concentração máxima de 93 e 112ng/L, respectivamente (Kolpin *et al.*, 2002).

Os efeitos maléficos do 17 $\beta$ -estradiol e análogos são detectados tanto em animais, como em humanos. No caso dos animais, têm-se como exemplo os estudos realizados por Routledge *et al.* (1998) em duas espécies de peixes, *Oncorhynchus mykiss* e *Rutilus rutilus*, expostos aos compostos 17 $\beta$ -estradiol e estrona por 21 dias. Esses estudos confirmaram que pequenas concentrações desses compostos, normalmente encontradas em águas superficiais, são suficientes para causar a síntese de vitelogenina (VTG) presente no plasma sanguíneo dessas espécies, afetando, dessa forma, o sistema reprodutor desses organismos.

Carmo (2004), citando estudos desenvolvidos por outros autores, relata que em relação aos seres humanos, há evidências de que o  $17\beta$ -estradiol é um importante fator no surgimento de doenças como: osteoporose; câncer de mama e doenças cardiovasculares entre mulheres pós-menopausa. Isto porque esse estrogênio pode agir como hormônio estimulador em alguns locais específicos, gerando, portanto, aumento de divisões mitóticas no órgão alvo e propiciando o aparecimento de fenótipos malignos em decorrência de erros nos mecanismos de divisão celular, além da possibilidade de alterar o desenvolvimento embriológico normal de células germinativas primitivas. A prevenção mais efetiva, para os problemas aqui relatados, é a terapia de reposição hormonal com moduladores seletivos.

Os nonilfenóis (NPs) são classificados como xenoestrogênios devido a sua origem sintética. Esses compostos, juntamente com seus análogos pentaclorofenóis e octilfenóis, formam um dos grupos mais comumente encontrados de surfactantes, que são conhecidos como alquifenóis (APs). Os APs, na sua maior parte, são encontrados na natureza na forma de sais solúveis, os denominados alquifenóis polietoxilados (APnEOs). Essas formas são usadas, extensivamente, na indústria de limpeza, em agentes umedecedores, emulsificantes e em sabões domésticos, como os detergentes. Para se ter uma idéia da produção desse tipo de compostos, tem-se relatos que, em 1995, aproximadamente 500.000 toneladas de APnEOs foram produzidas em todo o mundo (Renner, 1997 *apud* Fries e Püttmann. 2004).

Os APnEOs e seus derivados também são encontrados em pesticidas, desinfetantes, embalagens plásticas, embalagens com revestimentos metálicos, produtos de cuidado pessoal, produtos químicos dos mais diversos usos, aditivos para lubrificantes automotivos e em muitos outros processos industriais, da indústria alimentícia, principalmente.

A grande quantidade de APnEOs, principalmente utilizado pelas indústrias em países desenvolvidos, não ameaçam diretamente as populações. No entanto, estudos revelam que as bactérias presentes nos corpos de animais, vegetação e nas estações de tratamento de águas e esgoto degradam esses APnEOs. O mecanismo de degradação é complexo, mas em geral, consiste na perda de grupos etoxilatos (EOs), resultando em substâncias perigosas, capazes de atuar como perturbadores endócrinos, incluindo dentre estas os nonilfenóis.

Os nonilfenóis polietoxilados (NPnEOs) são os mais importantes APnEOs, contabilizando cerca de 80% desse grupo. Os NPnEOs são biodegradados, sob condições aeróbias, em cadeias curtas de etoxilatos de NPnEOs ou em nonilfenóis carboxilados (NPnEC) que por

sua vez são biodegradados, sob condições anaeróbias, em nonilfenóis (NPs). É importante ressaltar que as cadeias curtas de EO dos NPnEOs são mais tóxicas que as longas e mais difíceis de serem degradadas. Tal fato foi verificado por Komori *et al.* (2006) que inspecionaram 20 estações de tratamento de esgoto com concentrações de 0,1 a 8,3µg/L de NPs e substâncias associadas, nos afluentes. Nesse estudo relatou-se que as cadeias longas de EOs dos NPnEOs foram quase completamente reduzidas nas ETEs, enquanto as cadeias curtas apresentaram remoções bem menos significativas.

Fries e Püttmann (2004) relataram, com base nos estudos de outros autores, que esse tipo de biodegradação também pode resultar numa mistura complexa de isômeros chamada de 4-nonilfenol (4-NP). O 4-NP é utilizado como auxiliar na composição de pesticidas e tem 3 vezes mais capacidade perturbadora endócrina que o DDT. Este é o responsável por deformidades e problemas de reprodução na vida marinha e também pode estar envolvido nas causas do câncer de mama e declínio na soma de espermas.

Um aspecto a ser citado é que a pressão de vapor do 4-NP é  $1 \times 10^{-8}$  atm, fato este que o classifica como um composto semi-volátil. Portanto, possível de ser encontrado na água das chuvas e na neve, como foi relatado nos próprios estudos desenvolvidos por Fries e Püttmann (2004). Esses autores coletaram amostras de neve e de chuva nos períodos de inverno e verão em áreas urbanas, suburbanas e rurais da Bélgica e da Alemanha, para investigar depósitos com fontes de 4-NP.

Observou-se que os maiores valores encontrados de 4-NP nas chuvas foram em áreas suburbanas, com máximo de 0,534µg/L, e que nas áreas rurais e urbanas esses valores máximos foram consideravelmente baixos, na ordem de 0,099 e 0,062µg/L, respectivamente. No caso da neve foram encontrados valores por volta de 0,242 µg/L, para áreas urbanas, e máximo de 0,478µg/L. Já nas áreas rurais a detecção não foi registrada e nas áreas suburbanas os valores foram bem baixos, com o máximo de 0,030 µg/L. Durante o trabalho também foi concluído que a concentrações na água das chuvas de verão tiveram valores inferiores às das chuvas de inverno, devido ao efeito da degradação fotoquímica.

Outra forma resultante da biodegradação dos NPnEOs é o composto p-nonilfenol. Este é encontrado também em óleos lubrificantes industriais, espermicidas de preservativos, pesticidas, realizando o papel de antioxidante, estabilizador e emulsificante em cloreto de

polivinila (PVC) e poliestireno (Sonnenschein e Soto, 1998). Há relatos da contaminação com p-nonilfenol na indústria de alimentos que utiliza encanamentos de PVC e por cremes anticoncepcionais contendo nonoxinol-9, que curiosamente, depois de absorvido pelo organismo, transforma-se em p-nonilfenol.

Com relação aos efeitos maléficos do p-nonilfenol, tem-se, por exemplo, de acordo com os estudos mencionados por Basheer *et al.* (2004), que baixas doses de exposições a p-nonilfenol é capaz de inibir a síntese de ATP (adenosina tri-fosfato) nas mitocôndrias celulares dos seres vivos, além de induzir características masculinas em fêmeas de animais marinhos como os gastrópodes.

Um aspecto importante a se comentar é que o 17 $\beta$ -estradiol chega a ter uma atividade hormonal de 1000 a 10.000 vezes maior que a do nonilfenol (Tanaka *et al.*, 2001 *apud* Fukuhara *et al.*, 2006). Na Figura 3.8 têm-se as estruturas químicas dos compostos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol.

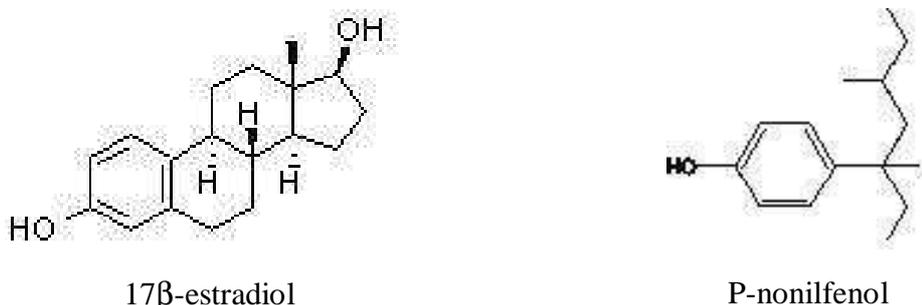


Figura 3.8 – Estrutura química do 17 $\beta$ -estradiol e do p-nonilfenol (Danish EPA, 2003 e Nogueira, 2003 - modificado).

### 3.1.4 Extensão do problema

Os primeiros relatos da atividade de perturbadores endócrinos foram relacionados ao medicamento dietilestilbestrol (DES), utilizado por mulheres entre as décadas de 50 e 70. Tal medicamento causou às descendentes das usuárias: câncer na vagina; infertilidade e deformações irreversíveis no útero, sendo que muitas das descendentes só vieram a descobrir esse problema aos vinte anos de idade. Já no caso dos descendentes homens, o medicamento causou criptorquidia, ou seja, ausência de testículo (Soto e Sonnenschein, 2002 e Colborn *et al.*, 2002). Também foi observado que os homens que trabalhavam nas

fábricas que produziam o medicamento foram afetados apresentando crescimento das mamas (Bowler e Cone, 2001 *apud* Guimarães, 2005).

Em 1964, outra substância química com atividade perturbadora endócrina de amplo uso comercial, os PCBs, foi identificada no organismo humano pelo químico Sören Jensen, quando este se propôs a estudar os níveis de DDT no sangue humano. A partir de 1976, os Estados Unidos resolveu banir o uso dos PCBs, mas os equipamentos, como transformadores e capacitores elétricos, que já continham a substância, puderam permanecer com o produto tóxico em seu interior, o que possibilitou a contaminação de rios e solos por vazamentos. É muito provável que essa contaminação ainda possa estar agindo sobre o meio ambiente até os dias de hoje, já que a meia vida dos PCBs é de 40 anos. No Brasil, a proibição veio em 1981, no entanto, também nos mesmos moldes da proibição americana (Guimarães, 2005).

Com o avanço tecnológico, relatos sobre ocorrência de perturbadores endócrinos só vêm aumentando e se tornando um tópico de importância internacional, tendo em vista as evidências do problema em várias partes do mundo. Por exemplo, Kolpin *et al.* (2002) detectaram antibióticos em amostras de água superficiais nos Estados Unidos. Ternes *et al.* (1999) identificaram a presença de vários estrogênios nos esgotos domésticos em efluentes de ETEs na Alemanha, Canadá e Brasil, comprovando a remoção incompleta dos perturbadores endócrinos pelas estações de tratamento. A seguir têm-se exemplos de algumas pesquisas em várias partes do mundo, inclusive a de Ternes *et al.* (1999), em que os perturbadores endócrinos  $17\beta$ -estradiol e p-nonilfenol foram encontrados.

No Brasil, Ternes *et al.* (1999) avaliaram a presença e remoção de estrogênios naturais e contraceptivos sintéticos nos esgotos da ETE, localizada no bairro da Penha no estado do Rio de Janeiro. Nessa pesquisa foi estudada a eficiência de remoção dos estrogênios, por meio do processo de lodos ativados e filtro biológico, sendo esse último constatado como menos eficiente. A vazão de entrada média da ETE no período de amostragem era de  $120.096\text{m}^3/\text{dia}$ , sendo que 71% desta destinada ao processo de lodos ativados e 29% ao processo de filtragem biológica. As concentrações médias dos estrogênios  $17\beta$ -estradiol e estrona detectadas no esgoto bruto foram, respectivamente, de 21 e 40 ng/L, acarretando cargas totais de até 5g/dia para estrona e 2,5g/dia para o  $17\beta$ -estradiol. As eficiências de

remoção do 17 $\beta$ -estradiol observadas foram de 92% no filtro biológico e de 99,9% no processo de lodos ativados. Já para a estrona, as remoções atingiram os valores de 67% e 83%, respectivamente, para o filtro biológico e lodos ativados. O estrogênio contraceptivo 17 $\alpha$ -etinilestradiol também foi avaliado, com remoções de 64% no filtro biológico e 78% no lodos ativados, sendo que para o 17 $\alpha$ -etinilestradiol foram relatadas cargas totais no afluente de 0,7g/d.

Na Alemanha, em uma estação de tratamento de esgoto (ETE), perto de Frankfurt/Main, também estudada por Ternes *et al.* (1999), com vazão de entrada média no período de amostragem de 41.200m<sup>3</sup>/dia, foi constatada a presença dos compostos 17 $\beta$ -estradiol e estrona no esgoto bruto com concentrações médias de 15ng/L e 27ng/L, respectivamente, acarretando cargas totais de até 1g/dia para a estrona, bastante inferior ao observado no Brasil. Nessa ETE, as eficiências de remoção absolutas foram inferiores às obtidas nas estações de tratamento brasileiras. Isto, provavelmente, ocorreu devido às baixas temperaturas do período de amostragem na Alemanha, em torno de 2°C, que foram bem diferentes das médias de 20°C do Brasil. Apesar do desempenho inferior, observou-se a remoção, por lodos ativados, dos compostos 16 $\alpha$ -hidroxiestrona e 17 $\beta$ -estradiol em eficiências aproximadas de 68% e 64%, respectivamente.

Ternes *et al.* (1999) relataram também que se surpreenderam com as concentrações de 17 $\beta$ -estradiol e 16 $\alpha$ -hidroxiestrona detectadas durante o processo de tratamento da ETE alemã. Verificou-se que durante o processo de tratamento houve um acréscimo nas cargas desses estrogênios, provavelmente, pela transformação de formas conjugadas nessas formas mais simples de estrogênios. Esse fato foi considerado por Ternes *et al.* (1999) como um tópico para futuras investigações, pois sugerem muitos questionamentos a respeito do tempo de processamento, se este está sendo suficiente ou não. Ou mesmo se existe outra razão responsável pelo aumento da carga desses perturbadores endócrinos durante o processo de tratamento por lodos ativados.

O comportamento de efluentes de ETEs no Canadá e em outras estações na Alemanha, além daquela já citada perto de Frankfurt/Main, também foram avaliadas por Ternes *et al.* (1999). Nas estações de tratamento de esgotos alemãs foi predominante a presença de estrona com concentração máxima de 70ng/L e valor médio de 9ng/L. Concentrações

médias da ordem de 1ng/L foram encontradas para 17 $\alpha$ -etinilestradiol (com máxima 15ng/L) e para 16 $\alpha$ -hidroxiestrone (com máxima 5ng/L). Já para o 17 $\beta$ -estradiol foram encontradas máximas concentrações de 3ng/L, sendo o valor médio não indicado.

Já nos efluentes das ETEs canadenses, foram registradas concentrações maiores de 17 $\beta$ -estradiol, média de 6ng/L e valor máximo 64ng/L, e de 17 $\alpha$ -etinilestradiol, média de 9ng/L com máximo de 42ng/L, do que nos efluentes das ETEs alemãs. Entretanto, as concentrações de estrone foram inferiores, com média de 3ng/L e valor máximo de 48ng/L. Na Tabela 3.3 são apresentados os valores já citados, para uma melhor visualização.

Tabela 3.3 – Comparação dos valores detectados de estrogênios, nos efluentes de ETEs estudados por Ternes *et al.* (1999).

Estrogênio	Concentração (ng/L)			
	Média		Máxima	
Localização da ETEs	Alemanha	Canadá	Alemanha	Canadá
Estrone	9,0	3,0	70,0	48,0
17 $\beta$ -estradiol	-	6,0	3,0	64,0
17 $\alpha$ -etinilestradiol	1,0	9,0	15,0	42,0
16 $\alpha$ -hidroxiestrone	1,0	-	5,0	-

Em Portugal, Azevedo *et al.* (2001) avaliaram, em amostras de águas superficiais, a presença dos perturbadores endócrinos bisfenol A e isômeros de 4-nonilfenol. Foram analisadas 135 amostras, oriundas de 45 locais de amostragem, durante um período de três meses (agosto a outubro de 1999). Nessas amostras constatou-se que as concentrações de bisfenol A e dos isômeros de 4-nonilfenol variaram de 0,2 a 4,0 $\mu$ g/L e 0,2 a 30,0 $\mu$ g/L, respectivamente. Quanto à origem dos perturbadores endócrinos em questão, apenas os isômeros de 4-nonilfenol foram associados à indústria têxtil e de curtumes da região. Não se identificou ao certo a origem do bisfenol A. É importante ressaltar que em apenas duas amostras foram observadas concentrações superiores a 10 $\mu$ g/L dos isômeros de 4-nonilfenol e 2 $\mu$ g/L do bisfenol A, que são concentrações limites estipuladas para causar efeitos de perturbação endócrino, em peixes.

Furuichi *et al.* (2004) estudaram a presença de perturbadores endócrinos em amostras de água de diversos locais do Rio Tama, no Japão. A detecção foi realizada por meio de cromatografia líquida ligada à espectrometria de massa e por ensaios *in vitro* usando células da linhagem celular MCF-7 derivadas do câncer de mama humano (MVLN). As

águas do rio foram submetidas à extração em fase sólida e os extratos brutos foram fracionados por HPLC em 10 frações que, posteriormente, foram testadas em ensaios MVLN para verificar a presença de atividade estrogênica.

Em uma das frações, constatou-se a presença de 4-nonilfenol e 4-t-octilfenol com concentrações totais entre 51,6 a 147ng/L e 6,9 a 81,9ng/L, respectivamente. No entanto, nessa fração específica nenhuma atividade estrogênica foi verificada, isso porque a atividade estrogênica se apresentou abaixo do limite de detecção da bioamostra da célula MVLN. Já em outras três frações, foi constatada a atividade estrogênica em concentrações totais de 2,6 a 14,7ng/L de 17β-estradiol e de 17,1 a 107,6ng/L de estrona. Foi também detectado bisfenol A com valores totais entre 16,5 a 150,2ng/L. O estriol e 17α-etinilestradiol não foram detectados nessas três frações, pois apresentaram valores inferiores a 0,02ng/L.

Na Tabela 3.4 são relatados mais alguns exemplos de detecção de substâncias perturbadoras endócrinas.

Tabela 3.4 - Outros estudos sobre detecção de substâncias perturbadoras endócrinas.

<b>Referências</b>	<b>Perturbadores</b>	<b>Quantidades (*)</b>	<b>Origem da amostra/ Local</b>
Desbrow <i>et al.</i> (1998)	Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol	1 a 80 ng/L 1 a 50 ng/L 0 a 7 ng/L	Efluente de ETE Inglaterra
Belfroid <i>et al.</i> (1999)	Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol	< 0,4 a 47 ng/L < 0,6 a 12 ng/L < 0,2 a 7,5 ng/L	Efluente de ETE Holanda
Larsson <i>et al.</i> (1999)	Estrona 17β-estradiol 17α-etinilestradiol 4-Nonilfenol Bisfenol A	5,8 ng/L 1,1 ng/L 4,5 ng/L 840 ng/L 490 ng/L	Efluente secundário de ETE. Suécia
Kuch e Ballschmiter (2001)	Esteróides 4-Nonilfenol Bisfenol A 4-tert-octilfenol	100 pg/L a 2 ng/L 2 a 15 ng/L 300 pg/L a 2 ng/L 150 pg/L a 5 ng/L	Água para abastecimento Sul da Alemanha

(\*) Não há recomendações a respeito de valores máximos permitidos para água de abastecimento na Portaria 518 e nem mesmo fornecidos pela Organização Mundial de Saúde.

### 3.1.5 Detecção dos perturbadores endócrinos

A União Europeia (EU), a Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (EPA), a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), evidenciam preocupações com relação à ação negativa provocada pelos perturbadores endócrinos. Nessa perspectiva, é possível constatar a grande importância na identificação das fontes de contaminação, em se fazer uma avaliação toxicológica dessas substâncias e um monitoramento analítico dos meios de dispersão ambiental desse tipo de compostos.

As estratégias de avaliação toxicológicas são baseadas na combinação de ensaios de curto prazo, por meio da identificação da atividade estrogênica *in-vitro*, com estudos de longo prazo, efeitos *in-vivo* e, conseqüentemente, a avaliação do potencial de risco para o homem. Outro aspecto que merece destaque é a importância dos estudos epidemiológicos. Embora esses estudos apresentem respostas em longo prazo, constituem em uma ferramenta importante de indícios dos efeitos negativos dos perturbadores endócrinos, tendo em vista que não há possibilidade de executar testes toxicológicos diretamente em humanos, tanto pelo caráter ético como legal.

Já do ponto de vista analítico, os métodos mais adequados de monitorização são: os biológicos e os de “separação”. Com relação aos métodos biológicos, destacam-se os imunoensaios, cujo princípio é a produção de anticorpos e/ou receptores que se liguem à substância que apresenta atividade estrogênica (Nogueira, 2003).

A Figura 3.9 ilustra os dois passos genéricos dos imunoensaios. Inicialmente tem-se a imobilização do receptor específico a um suporte, seguido da adição da substância em estudo e de seu anticorpo, ocorrendo então o período de incubação. Em seguida, de acordo com o tipo de detecção pretendida, adiciona-se uma substância adequada para detecção e se faz medidas, tais como: de fluorescência (exemplo: ELRA, “Enzyme Linked Receptor Assay”); de atividade enzimática (exemplo: ELISA, “Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay”) ou de radiação isotópica (exemplo: RIA, “Radio Immuno Assay”). De posse das medidas, a análise quantitativa do resultado é obtida por meio da curva de calibração previamente determinada para o ensaio (Nogueira, 2003).

As técnicas de imunoenaios vêm ganhando cada vez mais destaque e durante os últimos 10 anos têm se tornado bastante popular como ferramenta de detecção para contaminantes como pesticidas em amostras de água. Já no setor de saúde, os imunoenaios são extensamente usados, incluindo métodos para a detecção de estrogênios. Dessa forma, não é de se surpreender que essa técnica revele-se uma boa alternativa para detecção de perturbadores endócrinos em amostras ambientais. No entanto, deve-se ressaltar que outros métodos biológicos de importância semelhante são encontrados na literatura, dentre estes os ensaios de DNA e de linhas celulares. Na Tabela 3.5 são apresentadas às vantagens e as desvantagens dos métodos de imunoenaios para amostras ambientais.

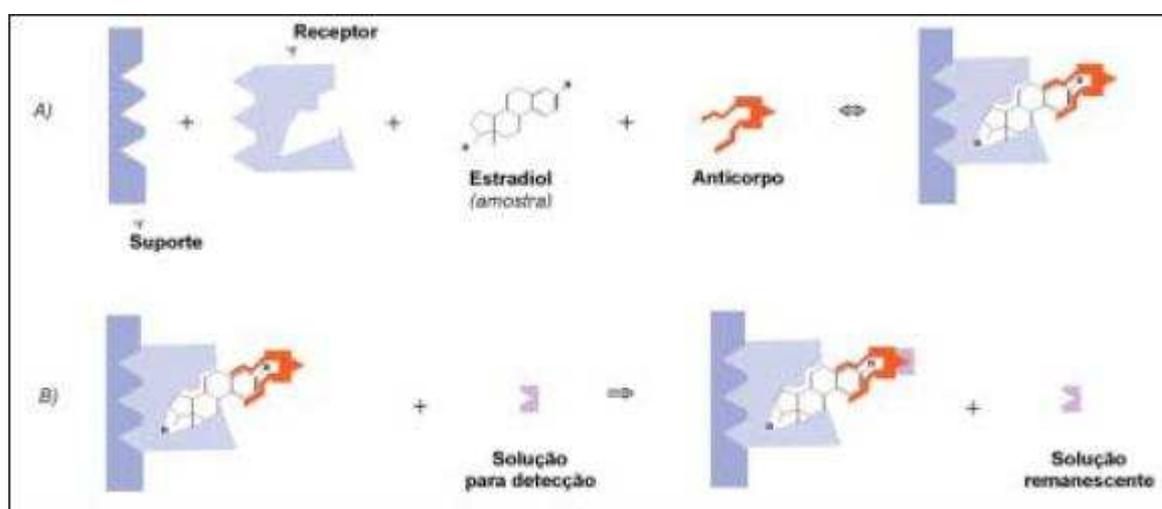


Figura 3.9 – Ilustração de dois passos genéricos dos imunoenaios (Nogueira, 2003).

“*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay – ELISA*” é uma das técnicas mais simples de imunoensaio. Atualmente, esta é comercialmente disponível em kits para detecção e quantificação de pesticidas, hormônio, dentre outras substâncias.

Uma outra forma indireta de detectar estrogênios é por meio da detecção ELISA de biomarcadores, ao invés da detecção do próprio perturbador endócrino. Um biomarcador muito utilizado é a determinação de níveis de vitelogenina (VTG) em plasma sanguíneo, tendo em vista que alguns organismos respondem a um aumento na síntese de VTG como resposta à exposição a determinadas concentrações de estrogênio. A vitelogenina é uma lipoproteína complexa que se encontra na gema do ovo e que em circunstâncias normais desempenha papel no sistema reprodutivo de vertebrados ovíparos. O gene do VTG também está presente nos machos, mas sob condições normais não é expressivo, devido à

baixa concentração de estrógeno nos sangue dos mesmos (Nogueira, 2003; Bila e Dezotti, 2003).

Tabela 3.5- Vantagens e desvantagens de imunoenaios para amostras ambientais (Danish EPA, 2003 - modificado).

<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta sensibilidade;</li> <li>• Facilidade de uso;</li> <li>• Necessidade de pequenos volumes de amostras;</li> <li>• Ampla aplicabilidade;</li> <li>• Simples preparação da amostra;</li> <li>• Capacidade de análise de várias amostras simultaneamente;</li> <li>• Adequado para uso em campo;</li> <li>• Curto tempo de análise;</li> <li>• Apresenta uma boa relação de custo-efetividade;</li> <li>• Ideal para detecção em amostras com altas cargas de poluentes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vulnerável a reações cruzadas;</li> <li>• Detecção imprecisa em amostras com baixas cargas de poluentes;</li> <li>• Quando existem baixas cargas de poluentes, há necessidade de confirmação do resultado por métodos de separação (electroforéticos, hifenados e cromatográficos, como: HPLC-MS-MS e GC-MS-MS);</li> <li>• A síntese dos anticorpos pode ser difícil e cara.</li> <li>• Apenas uma substância específica pode ser analisada ao mesmo tempo.</li> </ul>

Com relação aos métodos analíticos de separação, têm-se às técnicas cromatográficas, que são métodos físicos usados para separar e/ou analisar misturas constituídas por diversos tipos de compostos. Trata-se de uma técnica muito vantajosa porque consegue separar os constituintes de misturas complexas com grande precisão e também é capaz de purificar qualquer substância solúvel ou volátil caso o material que constitui a fase estacionária, o fluido transportador e as condições operativas forem otimizados.

Os componentes a serem separados em uma técnica cromatográfica são distribuídos entre duas fases: uma fase estacionária e uma fase móvel que percorre o leito estacionário. Essa técnica ocorre como resultado de processos repetidos de adsorção e desorção durante o movimento dos componentes da amostra, em diferentes velocidades de migração, através dos materiais constituintes da fase estacionária, promovendo dessa forma a separação. A

distinção entre os principais métodos cromatográficos é feita em termos das propriedades da fase móvel, que pode ser líquida (LC) ou gasosa (GC).

No entanto, para que se tenha sensibilidade suficiente para analisar estrogênios naturais em matrizes complicadas, tais como esgoto tratado, bruto, adubo e solo, é necessária que a cromatografia seja combinada à técnica de espectrometria de massa (MS). A espectrometria de massa oferece informações sobre a composição atômica e molecular de materiais inorgânicos e orgânicos, aumentando substancialmente o desempenho dos métodos cromatográficos na identificação de compostos e reduzindo os limites de detecção (Danish EPA, 2003).

Os espectrômetros de massa consistem em um dispositivo capaz de classificar íons de acordo com sua relação massa-carga, por meio do movimento destes em campos elétricos e magnéticos. Com esse equipamento é possível identificar a diferença entre substâncias que foram detectadas de forma semelhante, ou seja, é possível se certificar do composto que foi detectado, evitando possíveis erros de interpretação (Danish EPA, 2003).

Ultimamente, tem-se optado pelo arranjo de espectrometrias de massa (MS-MS), pois este promove maior seletividade ao resultado. Nesse caso, o método envolve pelo menos duas fases de análise de massa em conjugação com um processo de dissociação, que causa uma mudança na massa ou nos íons. No arranjo mais comum MS-MS, o primeiro espectrômetro é usado para isolar um precursor iônico e fragmentá-lo, espontaneamente ou por meio de ativação, produzindo produtos iônicos e fragmentos neutros. O segundo espectrômetro analisa o produto iônico resultante. Assim, a massa específica não é apenas quantificada, mas pode ser relacionada a uma fragmentação específica de produtos iônicos (Danish EPA, 2003).

As informações obtidas de qualquer ensaio cromatográfico são apresentadas em um cromatograma, isto é, um registro da concentração ou da massa dos componentes da amostra em função do tempo ou do volume da fase móvel. Tais informações permitem uma avaliação da complexidade e das características da amostra.

Como são vários os métodos analíticos sugeridos na literatura para detecção de perturbadores endócrinos em amostras ambientais, deve-se ter em mente, que ao se

promover uma análise específica, é importante escolher o método mais adequado. Isto pode ser feito considerando-se alguns parâmetros importantes, como: sensibilidade; variabilidade e seletividade (Danish EPA, 2003).

Outros pontos que se deve observar são o custo de investimento e o nível de detecção pretendido. Pois uma avaliação apenas dos três quesitos anteriormente citados sempre resultará na escolha dos métodos de cromatografias acopladas a dupla espectrometria de massa, devido ao alto nível de precisão destes. Contudo, para alguns estudos tal nível de precisão nem sempre é necessário, existindo a possibilidade de se utilizar outros métodos com custos inferiores e igualmente eficientes.

É importante ressaltar que a questão custo não engloba somente os equipamentos, mas as técnicas de preparação da amostra que podem apresentar custos consideráveis, variando amplamente dependendo das matrizes ambientais. Na Tabela 3.6 tem-se uma classificação das técnicas analíticas de detecção depois de considerar os parâmetros de variabilidade, seletividade e sensibilidade para diferentes matrizes ambientais, assumindo-se que houve uma eficiente preparação da amostra.

Tabela 3.6 – Classificação das técnicas analíticas de detecção de perturbadores endócrinos para diferentes matrizes ambientais (Danish EPA, 2003 - modificado).

<b>Matriz</b>	<b>GC-MS</b>	<b>GC-MS-MS</b>	<b>LC-MS</b>	<b>LC-MS-MS</b>	<b>Imunoensaio</b>
LD fornecido na literatura (ng/L) (*)	0,3 - 2	0,1 - 2	1 - 5	0,1 - 0,5	0,05 - 850
Águas de superfície (águas subterrâneas, águas de rio, etc.).	(+)	+	(+)	+	(++)
ETEs (afluente / efluente)	(+)	+	(+)	+	(++)
Esgoto	(+)	+	(+)	+	(++)
Solo	(+)	+	(+)	+	(++)
Adubo	(+)	+	(+)	+	(++)

(\*) LD: limite de detecção;

+ : pode ser aplicado quando LD e LQ (limite de quantificação) são cumpridos.

(+): pode ser aplicado se os problemas de seletividade são solucionados por definição de critérios e se LD e LQ são cumpridos.

(++): pode ser aplicado se os problemas de seletividade são solucionados por definição de critérios e se atenção é dada aos falsos positivos.

As técnicas UV, HPLC, GC-FID, etc são irrelevantes neste contexto devido à baixa e imprópria seletividade.

É importante destacar que a análise tanto por meio de ensaio ELISA como por cromatografia requerem um pré-tratamento das amostras. As razões para isso são inúmeras, destacando-se: a complexidade das matrizes biológicas; a existência de proteínas incompatíveis com as colunas cromatográficas e a concentração das substâncias a serem detectadas, em nível de traços. As técnicas de extração e/ou pré-concentração permitem que a análise dos compostos de interesse se torne possível. A meta final é obtenção de uma sub-fração da amostra original enriquecida com as substâncias de interesse analítico. De forma a se obter, por exemplo, uma separação cromatográfica livre de interferentes, com detecção adequada e um tempo razoável de análise (Queiroz *et al.*, 2000).

As técnicas mais comumente utilizadas para extração ou pré-concentração de compostos são: extração líquido-líquido; extração em fase sólida; extração com fluido supercrítico e extração com membrana sólida ou líquida.

Dentre as extrações citadas, a extração em fase sólida (EFS) é atualmente uma das ferramentas mais poderosas e mais empregadas para a extração e pré-concentração de compostos presentes em matrizes complexas. Esse tipo de extração também é o processo mais citado nos artigos relacionados com detecção de substâncias perturbadoras endócrinas. A EFS emprega cartuchos recheados com adsorventes, nas formas de barril ou seringa, e um mecanismo de retenção idêntico ao que ocorre na coluna de cromatografia líquida (Queiroz *et al.*, 2000).

É importante comentar que Queiroz *et al.* (2000) apresenta um guia para seleção de adsorventes a serem utilizados em EFS e que segundo a Danish EPA (2003), os cartuchos C18 têm sido os mais amplamente empregados em EFS, juntamente com as eluições utilizando metanol. Isto pode ser constatado, por exemplo, nos trabalhos de Rudder *et al.* (2004), que detectaram 17 $\alpha$ -etinilestradiol por meio de bioensaios YES (*Yeast Estrogen Screen*); nos estudos desenvolvidos por Lee *et al.* (2004), que detectaram 17 $\beta$ -estradiol por YTA (*Yeast Two-hybrid Assay*), ER-CA (*Estrogen Receptor Competition Assay*) e LC/MS e nos estudos desenvolvidos por Fukuhara *et al.* (2006), que detectaram estrona e 17 $\beta$ -estradiol por ELISA. Em todos os casos, as amostras foram preparadas por tecnologia de EFS utilizando cartucho C18, havendo apenas algumas alterações de dosagens e tipos de solventes.

## **3.2 - ADSORÇÃO POR CARVÃO ATIVADO**

### **3.2.1 – Histórico**

Os registros do uso do carvão ativado são variados e datam desde antes de Cristo. Os Egípcios costumavam utilizar o carvão vegetal e animal no tratamento de doenças; na adsorção de odores provenientes de ferimentos e do trato intestinal; como combustível doméstico; como purificador de óleos e como redutor de minérios na produção do bronze. Outra prática importante foi exercida pelo povo Hindu e Fenício que, respectivamente, empregavam o carvão vegetal na purificação da água e na fabricação de barris para armazenamento de água potável (University of Kentucky, 2005).

Em 1773, Scheele estudou a adsorção de diferentes gases por várias fontes de carvões. Já em 1777, estudos posteriores relacionaram o efeito do calor na adsorção de gases em carvão vegetal, sendo esses resultados utilizados na elaboração da “Teoria da Condensação da Adsorção”. Lowitz, em 1785, constatou em seus estudos que os carvões não apenas eram capazes de serem eficientes na remoção de vapores, mas de substâncias orgânicas e cor; sendo no caso particular da cor, a análise voltada à produção de ácido tartárico. Nessa mesma época, com o desenvolvimento das refinarias de açúcar, houve uma grande busca por metodologias que promovessem a descoloração do melado feito do açúcar bruto, pois, o carvão vegetal manufaturado da madeira, até aquele momento, devido sua baixa porosidade, não era efetivo para esse tipo de remoção (University of Kentucky, 2005).

No começo do século XIX na França, Gruillon propôs o refinamento e “branqueamento” simplificado do açúcar, em grande escala. Para isso era necessário que o carvão manufaturado da madeira fosse moído e lavado. Esta foi a primeira vez que o carvão em pó passou a ser produzido comercialmente. Em 1811, Figuier descobriu que o carvão manufaturado de ossos apresentava maior capacidade de descoloração do açúcar quando comparado ao manufaturado da madeira. Rapidamente, o carvão de osso tomou conta do mercado e alguns métodos de regeneração por calor foram desenvolvidos para esse tipo de carvão (University of Kentucky, 2005).

Já em 1822, Buzzy promoveu os primeiros estudos sobre a ativação em processos térmicos e químicos e também analisou as propriedades de descoloração do carvão. Assim, Buzzy

pode constatar que havia uma relação da técnica de descoloração com a fonte de carvão adotada, com o processo de ativação e com o tamanho das partículas do produto final. Em seus estudos também concluiu que a carbonização em altas temperaturas e longos períodos reduz as propriedades de adsorção (University of Kentucky, 2005).

No século XX, durante as duas guerras mundiais, devido a grande necessidade de produção de máscaras para proteção contra gases tóxicos, houve um grande estímulo em pesquisas voltadas à adsorção (Suzuki, 1990 *apud* Silva, 2005a).

Com relação ao tratamento de água direcionado ao abastecimento público, o primeiro uso do carvão ativado ocorreu em 1910, com a implantação de um filtro de carvão ativado manufaturado de lignita na estação municipal de Reading, na Inglaterra. O propósito do filtro, na época, era apenas a remoção de subprodutos clorados da água tratada (Masschelein, 1992).

Com o tempo, essa tecnologia de filtração difundiu-se e aprimorou-se em outros países como Alemanha, Estados Unidos, Inglaterra, Holanda e Dinamarca devido a sua praticidade, economia proporcionada pela reativação do material e eficiência na remoção de subprodutos da cloração e demais compostos orgânicos. Na Tabela 3.7 é apresentada a cronologia dos diferentes usos do carvão ativado no tratamento de água para abastecimento (Masschelein, 1992).

Tabela 3.7 – Cronologia do uso do carvão ativado (Masschelein, 1992 - modificado).

<b>Usos</b>	<b>Anos precursores</b>
Remoção dos subprodutos da cloração na água tratada	1910
Remoção de compostos que conferem odor e sabor à água.	1955
Remoção de compostos orgânicos.	1970
Carvão ativado biológico	1976

Atualmente, o interesse pelo estudo do carvão voltado para o tratamento de água e esgoto vem aumentando e uma variedade de espécies de carvões ativados é produzida com diferentes granulometrias e origens. Isto se deve, principalmente, a uma preocupação cada vez maior com a presença de compostos orgânicos que conferem riscos à saúde humana tais como: pesticidas, toxinas, perturbadores endócrinos e trihalometanos (THM), pois

alguns desses compostos não são removidos totalmente pelos tratamentos convencionais, de forma a atender aos padrões de qualidade preconizados pelas legislações.

### **3.2.2 - Princípio da adsorção**

A adsorção é o fenômeno que envolve a concentração espontânea de um fluido ou um gás sobre a superfície de um sólido, devido à existência de forças atrativas não compensadas na superfície do mesmo. O sólido sobre o qual ocorre a adsorção é o denominado adsorvente, enquanto as moléculas retidas pela superfície são os denominados adsorvatos (Snoeyink, 1990).

A adsorção pode ser classificada como física ou como quimissorção. Na adsorção física, as forças de Van der Waals (repulsão e dispersão) atuam entre o composto que compõe o adsorvente e a substância a ser adsorvida. Nesse caso, o processo encontra-se na faixa de difusão controlada em que não existe energia de ativação, mas as forças eletrostáticas podem interferir. Com relação à quimissorção, as forças predominantes são as eletrostáticas (interações de polarização, dipolo e quadripolo) que formam uma ligação química unindo o adsorvente e o adsorvato, que é capaz de modificar a estrutura molecular existente (Masschelein, 1992).

O processo químico resulta em uma grande energia de ativação, além de apresentar baixa reversibilidade. A reversibilidade é um aspecto importante a ser considerado no momento em que se pretende escolher o tipo de carvão a ser usado, em pó ou granular. Isso se deve ao fato de que quanto mais baixa a reversibilidade mais vantajosa será o uso de carvões em pó, pois os carvões granulares são, usualmente, submetidos a processos regeneração durante a sua vida útil. Outro aspecto que deve ser ressaltado a cerca desse assunto é que na adsorção física existe a possibilidade da formação de camadas moleculares sobrepostas na estrutura do carvão, enquanto na adsorção química somente uma camada molecular é possível de ser adsorvida (monocamada).

Diversos materiais podem ser utilizados para a técnica de adsorção no tratamento de água, dentre estes existem: a alumina ativada ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), a sílica gel, o carvão ativado, os óxidos metálicos, as resinas de troca iônica e resinas adsorventes. No entanto, dentre os vários

tipos de materiais, optou-se pelo estudo mais aprofundado do carvão ativado, pois este satisfaz os interesses que serão abordados no decorrer desse trabalho.

A adsorção em carvão ativado representa papel importante na modificação da qualidade da água, pois por meio desse tipo de adsorção é possível remover compostos causadores de sabor e odor, subprodutos da cloração como os trihalometanos (THM) e químicos orgânicos sintéticos ou naturais que oferecem risco a saúde, como os perturbadores endócrinos, que são o foco principal do trabalho em questão (Snoeyink, 1990).

A fabricação do carvão envolve essencialmente dois processos: a carbonização da matéria-prima, que consiste no tratamento térmico do material em atmosfera inerte e elevada temperatura e a ativação do produto resultante em atmosfera redutora.

O carvão ativado pode ser manufaturado a partir de materiais carbonáceos de origem vegetal (como madeira, turfa, sementes, cascas de coco e nozes), animal (como ossos de animais) ou mineral (como petróleo, plástico, pneus, lignita e material betuminoso). O tipo de matéria-prima e a temperatura de carbonização e ativação são fatores de grande importância na preparação do carvão ativado com relação à formação de sua estrutura porosa.

Dentre os processos conhecidos de preparação, a ativação térmica é o mais difundido. Nesse caso, promove-se uma decomposição da matéria carbonácea por meio do aquecimento lento do material em fornos sob condições anaeróbias controladas. Essa ausência de oxigênio assegura que o carvão não queime e se transforme em um material orgânico poroso. Após o aquecimento, o produto é ativado por exposição a uma mistura de vapor sob temperatura entre 900 e 1100°C, sendo importante que haja uma difusão completa desse vapor em toda a massa do carvão. A estrutura resultante dos poros será decorrente da quantidade de vapor e da temperatura empregada (Masschelein, 1992; Kawamura, 2000).

Outro processo de ativação, menos freqüente, é o químico. Este consiste na desidratação inicial do material carbonáceo por meio de produtos como  $ZnCl_2$  ou  $H_3PO_4$  a uma temperatura entre 400 e 500°C e posterior ativação na ausência de ar, com temperatura num intervalo de 500 a 700°C (Masschelein, 1992).

As propriedades físicas do carvão ativado incluem a área superficial, distribuição do tamanho dos poros, densidade do carvão, número de iodo, número de melão, índice de azul de metileno, resistência à abrasão, teor de umidade, dureza, conteúdo de cinzas (que reflete a pureza do carvão), tamanho das partículas, entre outras.

A determinação da área superficial baseia-se na quantificação do adsorvato necessário para recobrir o adsorvente com uma monocamada. O método consiste na exposição do sólido a um gás em um sistema fechado à temperatura constante. Nesse caso, o sólido passa a adsorver o gás, ocorrendo assim, um aumento da massa do sólido e um decréscimo na pressão do gás (Teixeira *et al.*, 2001).

A forma mais conhecida de calcular essa área superficial é por meio da equação da isoterma de adsorção do nitrogênio (N<sub>2</sub>) sugerida por Brunauer, Emmett e Teller. Esta é conhecida como área superficial BET e expressa em m<sup>2</sup>/g. Em geral, os carvões ativados usados no tratamento de água apresentam uma superfície interna entre 500 e 1500m<sup>2</sup>/g (Masschelein, 1992).

Quanto aos poros dos carvões, estes são classificados de acordo com o tamanho do seu diâmetro médio, como apresentado na Tabela 3.8. A determinação do volume de poros pode ser feita por meio da adsorção de adsorvatos em fase líquida, como por exemplo, o iodo e o azul de metileno. O azul de metileno vem sendo utilizado como um parâmetro para expressar a mesoporosidade do carvão ativado, enquanto o número de iodo a microporosidade. Já para o caso de poros maiores, o ideal a ser feito é uma análise colorimétrica comparativa, dispondo-se de um adsorvato padrão de número molar conhecido.

Tabela 3.8 – Classificação dos poros para carvões ativados (Bansal e Goyal, 2005 - modificado).

<b>Classificação</b>	<b>Diâmetro médio (nm)</b>
Microporo	< 2
Mesoporo	2 – 50
Macroporo	> 50

O procedimento do número de iodo é sugerido pela norma americana D4607 da *American Society for Testing and Materials* - ASTM e pela norma brasileira MB-3410 da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT cujo princípio do método consiste na obtenção da

quantidade, em miligramas de iodo adsorvido por 1,0g de carvão ativado pulverizado, quando a concentração do filtrado residual é 0,02N. No entanto, o número de iodo deve atender a recomendações mínimas sugeridas em normas para que o carvão apresente uma boa capacidade adsortiva.

Assim, de acordo com a *American Water Works Association* – AWWA, o número de iodo não deve ser menor do que 500mg/g, seja na forma granular ou em pó. Já com base na norma brasileira EB-2133 da ABNT, o valor mínimo deve ser de 600mg/g, para carvões em pó, pois, até o momento, não há norma brasileira específica para carvões granulares.

Quanto à estrutura, os poros são conhecidos como cilíndricos (por exemplo, carvão ativado obtido de casca de coco) e cônicos (obtido do carvão mineral), sendo os poros cônicos os mais eficientes, pois adsorvem grandes e pequenas moléculas simultaneamente. Enquanto os cilíndricos, devido à possibilidade de serem obstruídos por moléculas grandes e partículas coloidais na sua entrada, são pouco efetivos. Na Figura 3.10 é apresentado o esquema da estrutura dos poros (Masschelein, 1992).

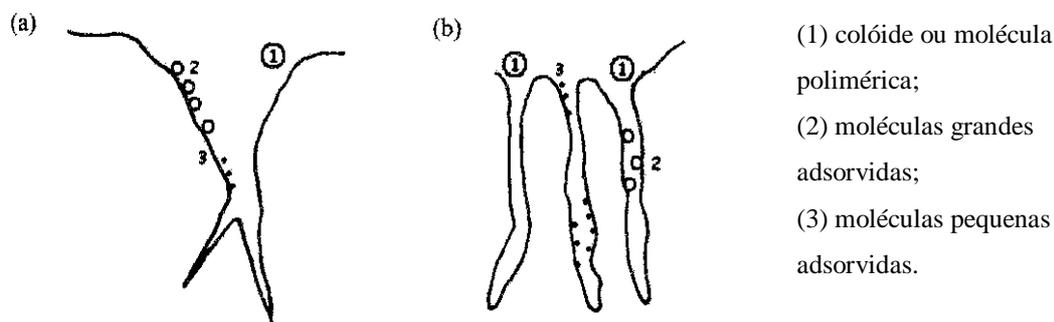


Figura 3.10 – Esquema da estrutura dos poros para carvões ativados: (a) estrutura cônica e (b) estrutura cilíndrica (Masschelein, 1992 - modificado)

### 3.2.3 - Características da adsorção

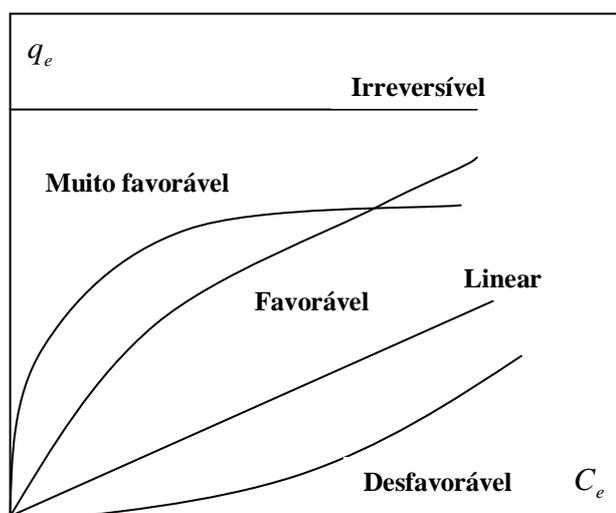
O carvão ativado pode ser usado na forma granular ou em pó. Em ambas as formas o processo de adsorção, que consiste no acúmulo do adsorvato na superfície do adsorvente ocorre, simultaneamente, com sua reação inversa, denominada dessorção. Quando as taxas de adsorção e dessorção se igualam é estabelecido o equilíbrio da adsorção e a acumulação do adsorvato é interrompida. A dessorção pode ser causada, por exemplo, por alterações de outros compostos ou por uma diminuição na concentração do adsorvato no afluente. A

Equação 3.1 representa a reação química de adsorção de moléculas pelo material adsorvente.



Em que, A é o adsorvato; B é o adsorvente e A.B são os composto adsorvidos.

A representação gráfica do fenômeno de adsorção é dada pela isoterma de equilíbrio que consiste em uma curva que relaciona a quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente *versus* a concentração de equilíbrio do adsorvato na solução. Na Figura 3.11 são apresentados os diferentes tipos de isotermas. O estudo das isotermas é essencial, pois uma grande quantidade de dados, relacionados à atividade do adsorvente, pode ser resumida. No caso particular da utilização do carvão ativado, é possível decidir pela melhor forma de utilização do mesmo (em pó ou granular), além de determinar dosagens e distribuições granulométricas.



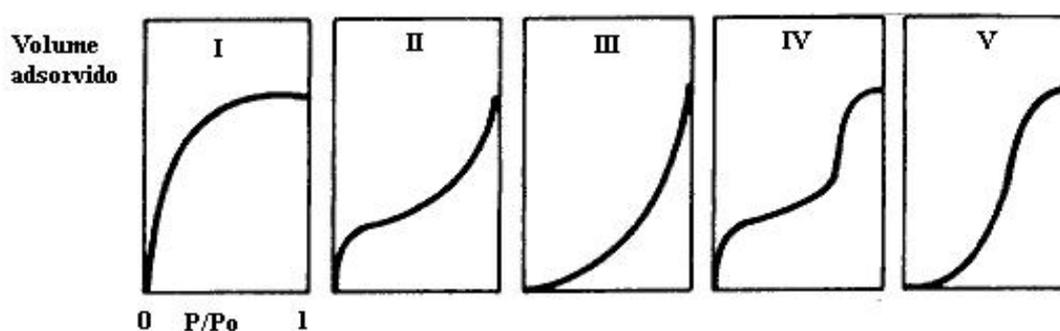
$C_e$ : concentração em equilíbrio do adsorvato em solução;  
 $q_e$ : quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente.

Figura 3.11 – Tipos de isotermas de adsorção (McCabe *et al.*, 1993 *apud* Silva, 2005a)

Essas diferentes formas de isotermas conhecidas são variações de seis tipos principais que associam a forma de uma isoterma de adsorção gasosa às dimensões dos poros presentes no sólido. Dentre esses tipos, cinco foram propostos por Brunauer *et al.* em 1940, e um último proposto somente anos depois. Essa última curva corresponde a sólidos com superfície uniforme e não porosa, ou seja, casos bem raros. Na Figura 3.12 são

apresentados os cinco primeiros tipos de isotermas propostos por Brunauer *et al.* em 1940 (Teixeira *et al.*, 2001).

A isoterma do tipo I é característica de sólidos com microporosidade. As isotermas do tipo II e IV são típicas de sólidos não porosos e de sólidos com poros razoavelmente grandes, respectivamente. As isotermas do tipo III e V são características de sistemas onde as moléculas do adsorvato apresentam maior interação entre si do que com o sólido, portanto, prejudicando a análise da área superficial e da porosidade (Teixeira *et al.*, 2001).



Volume adsorvido: quantidade de gás adsorvida pelo sólido em condições padrões de temperatura e pressão (0° e 1atm);

P/Po: pressão relativa, ou seja, relação entre a pressão de trabalho e a pressão de vapor do gás na temperatura utilizada.

Figura 3.12 – Tipos de isotermas de adsorção gasosa para caracterização de poros (Teixeira *et al.*, 2001 - modificado).

Ao se analisar a histerese de isotermas de adsorção-dessorção gasosas é possível obter informações sobre a forma dos poros do sólido. O fenômeno da histerese é definido pela diferença nos ramos de adsorção e dessorção da isoterma de um gás adsorvido. Os tipos mais frequentes de histereses classificados pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) são mostrados na Figura 3.13 (Greg e Sing, 1982 *apud* Silva, 2005a).

A histerese H1 corresponde a materiais cujos poros são regulares em formato cilíndrico ou poliédrico com as extremidades abertas. O tipo H2 é para materiais com poros cilíndricos com estrangulações ou em formatos tipo “garrafa”. Na histerese H3, os poros possuem formato de cunhas, cones ou placas paralelas. Já no tipo H4, os poros apresentam raios ( $r_p$ ) menores do que 1,3nm, e morfologia pouco definida.

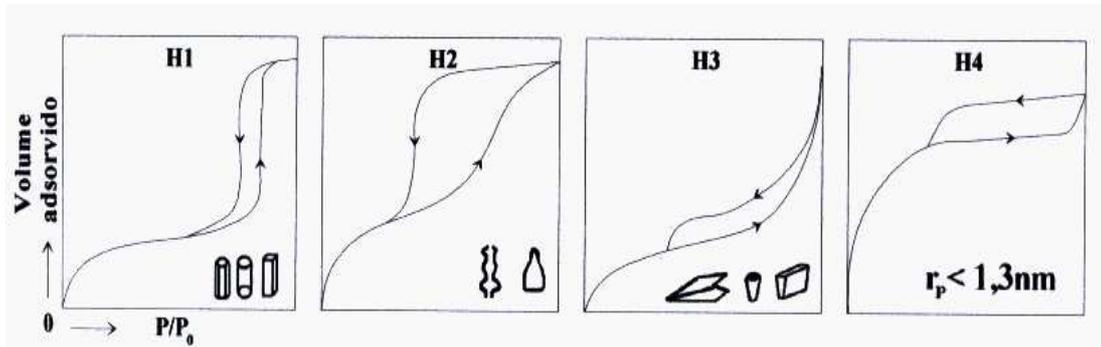


Figura 3.13 – Tipos de histereses em isotermas de adsorção-dessorção gasosa e a relação com o formato do poro (Rodella, 2001 *apud* Silva, 2005a).

Os dois principais modelos que descrevem o equilíbrio da adsorção são os de Langmuir e de Freundlich. Em ambos considera-se que a adsorção ocorre a uma temperatura constante de equilíbrio e por isso a reação é denominada isotérmica (Masschelein, 1992).

O modelo de Langmuir é o que apresenta a mais simples das isotermas de adsorção. Este assume que as forças atuantes na adsorção são similares às químicas e se baseia nas seguintes considerações (Barros e Arroyo, 2006):

- O sistema deve ser ideal;
- As moléculas devem ser adsorvidas e aderidas à superfície do adsorvente em sítios específicos, sendo a adsorção em monocamada e em superfície homogênea;
- Cada sítio pode acomodar somente uma molécula adsorvida e
- A energia da unidade adsorvida é a mesma em todos os sítios da superfície e não depende da presença ou ausência de outras unidades adsorvidas nos sítios vizinhos, ou seja, as interações são desprezíveis entre as moléculas adsorvidas.

Na Equação 3.2 tem-se a função isoterma de Langmuir e na Equação 3.3 sua forma linearizada:

$$q_e = \frac{q_{máx} \cdot b \cdot C_e}{1 + b \cdot C_e} \quad \text{Equação (3.2)}$$

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{máx} \cdot b} \cdot \frac{1}{C_e} + \frac{1}{q_{máx}} \quad \text{Equação (3.3)}$$

Onde:

$q_e$ : quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente (g/g);

$C_e$ : concentração em equilíbrio do adsorvato em solução (g/m<sup>3</sup>);

$q_{m\acute{a}x}$ : limite de saturação (máxima massa de adsorvato por massa de adsorvente) (g/g);

$b$ : constante que relaciona a energia de ligação do adsorvato com a superfície do adsorvente.

Assim, a partir das Equações 3.2 e 3.3 é possível traçar as isotermas de Langmuir nas formas normal e linearizada como apresentado na Figura 3.14 (Masschelein, 1992).

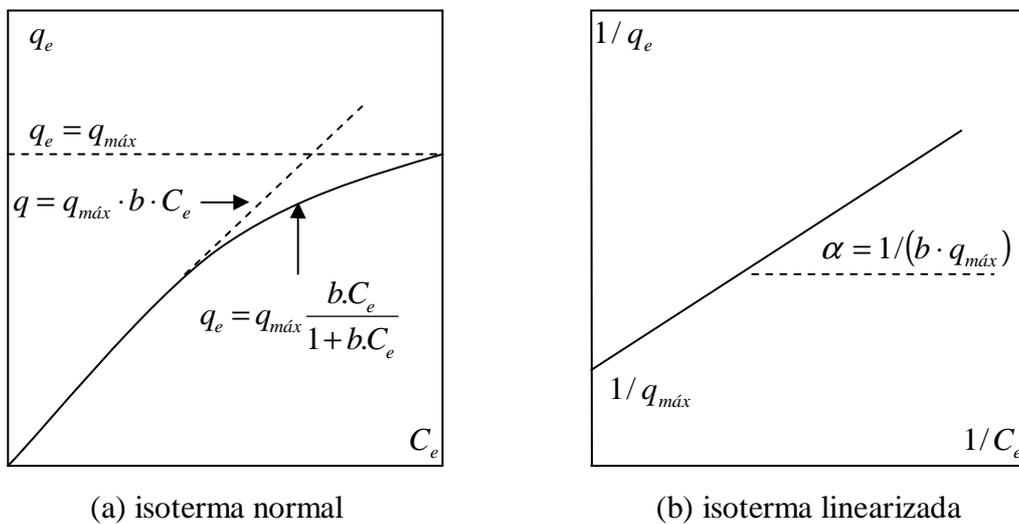


Figura 3.14 – Isotermas de adsorção pelo modelo de Langmuir (Masschelein, 1992 - modificado).

O modelo de Langmuir é bastante teórico e sua isoterma pode falhar em muitos aspectos devido à heterogeneidade que em geral é observada na superfície adsorvente. Já o modelo de Freundlich, apesar de empírico, é a função que mais se ajusta aos dados de tratamento de água. A isoterma de Freundlich é representada pela Equação 3.4, juntamente com sua respectiva linearização, na Equação 3.5, sendo ambas as equações graficamente apresentadas na Figura 3.15 (Snoeyink, 1990).

$$q_e = K \cdot C_e^{1/n} \quad \text{Equação (3.4)}$$

$$\log q_e = \log K + \frac{1}{n} \cdot \log C_e \quad \text{Equação (3.5)}$$

Onde:

$q_e$ : quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente (g/g);

$C_e$ : concentração em equilíbrio do adsorvato em solução (g/m<sup>3</sup>);

K e n: constantes, sendo K relacionada com a capacidade de retenção do adsorvente pelo adsorvato e “n” em função da força de ligação.

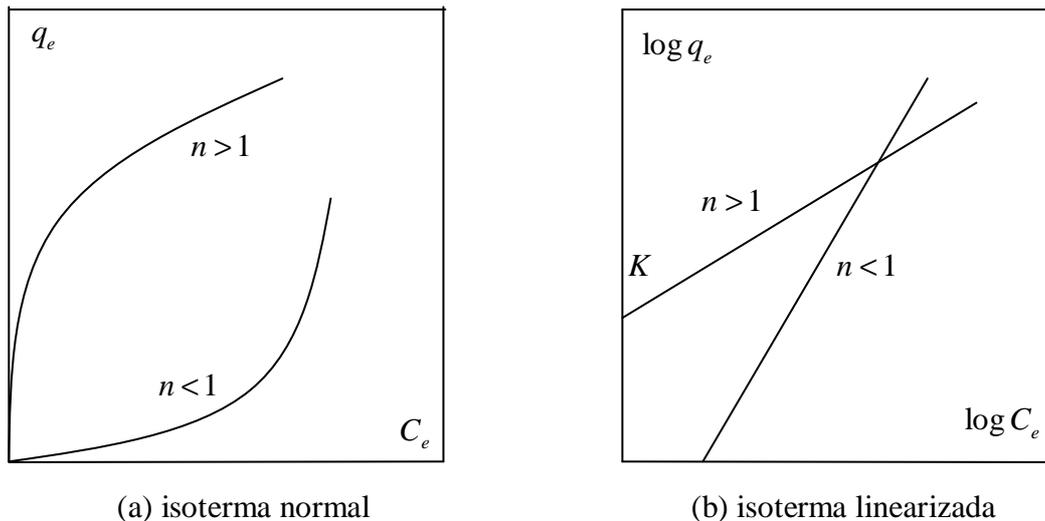


Figura 3.15 – Isothermas de adsorção pelo modelo de Freundlich. (Masschelein, 1992 - modificado).

Na Figura 3.16 são apresentados alguns exemplos de isothermas segundo o modelo de Freundlich. Com relação às isothermas 1 e 2, tem-se que a 2, por estar mais abaixo, apresenta uma adsorção inferior. No entanto, para elevadas concentrações, observa-se que a isoterma 2 passa a ter uma adsorção mais efetiva.

Analisando a Figura 3.16 e a Equação 3.5, tem-se que para ligações adsorptivas fortes, que possuem valores maiores de ‘n’, o termo  $(1/n) \cdot \log C_e$  é muito pequeno e sendo assim o valor de  $q_e$  tenderá a ser constante, o que resulta em uma isoterma pouco inclinada com a horizontal (curva 3 da Figura 3.16). Tal fato reflete a situação de um tratamento não contínuo como o realizado com carvão ativado em pó. Isto porque ligações fortes proporcionam pouca reversibilidade ao processo. Em uma condição contrária,  $C_e$  exercerá maior influência no processo, e dessa forma, a isoterma será mais inclinada com a horizontal (curva 4 da Figura 3.16), pois o valor de  $q_e$  apresentará maiores variações. Assim, o tratamento ideal deverá ser o contínuo, como por exemplo, o que utiliza carvão ativado granular. Deve-se ressaltar que para a maioria dos carvões o valor de  $(1/n)$  está

entre 0,3 e 0,7 e que a adsorção é considerada menos eficiente se  $(1/n)$  for maior que 1,0 (Masschelein, 1992).

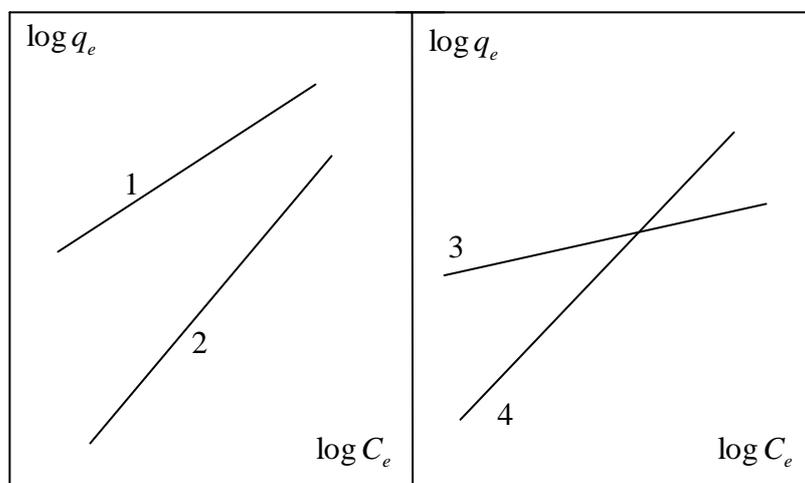


Figura 3.16 – Isotermas de Freundlich linearizadas (Masschelein, 1992 - modificado).

Em geral, as isotermas de adsorção são determinadas para um único composto. No entanto, estas podem ser feitas para misturas heterogêneas, desde que se disponha de um grupo de outros parâmetros como: carbono orgânico total, carbono orgânico dissolvido, demanda química de oxigênio, halogênios orgânicos dissolvidos, absorvância UV e fluorescência. Dessa forma é possível quantificar e qualificar a concentração total de substâncias que estão presentes. A mistura, nesse caso, é tratada como um único composto cuja equação da isoterma é uma função da concentração inicial e da fração da mistura que é adsorvida (Snoeyink, 1990).

Alguns fatores afetam o equilíbrio da adsorção isotérmica, são eles: as características do adsorvente, como tamanho e distribuição dos poros; área superficial; química da superfície; propriedades do adsorvato, como solubilidade que quanto menor maior será a adsorção; pH; temperatura; competição entre adsorvatos distintos, presença de matéria orgânica natural que pode reduzir a capacidade de adsorção ao competir pelos sítios de adsorção e a presença de substâncias inorgânicas, tais como ferro, manganês ou sais de cálcio que podem precipitar no adsorvente e interferir na adsorção. Nesse último caso é necessário prever pré-tratamento ao processo, caso essas substâncias precipitantes estejam em excesso. Outra interferência importante a ser considerada é a oxidação do carvão

promovida por compostos como: cloro em solução e persulfato de amônia (Snoeyink, 1990 e Silva, 2005a).

A questão da competição entre diferentes adsorvatos que, concomitantemente, existem na água a ser tratada, é sem dúvida um dos fatores mais importantes a ser considerado no estudo do equilíbrio da adsorção. Essa competição consiste na substituição de compostos reversíveis, primeiramente, adsorvidos, por outros compostos que também possuem afinidade com o adsorvente e são capazes de mudar o equilíbrio da adsorção, podendo até essa competição, em alguns casos, promover a eluição de algum composto adsorvido (Masschelein, 1992).

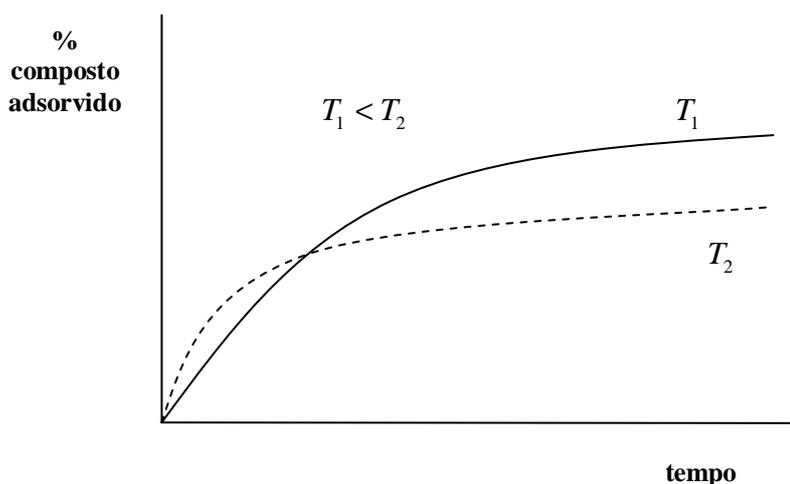
No entanto, deve-se ressaltar que nem toda a superfície do adsorvente está disponível para adsorção. A capacidade do composto de ser adsorvido depende da afinidade que o mesmo possui em relação à água, ou a outros compostos desestabilizados, quando comparado ao adsorvente. Além do que as moléculas são adsorvidas, de preferência, por poros com estruturas e dimensões semelhantes (Snoeyink, 1990).

Com relação ao pH, é sabido que este muitas vezes tem um efeito significativo nas características de adsorção e por isso foi citado como fator capaz de alterar o equilíbrio desta. Por exemplo, quando o pH está em uma faixa onde as espécies estão ionizadas, a capacidade de adsorção é baixa devido a maior afinidade das moléculas pela água. Já, no caso, em que as moléculas estão neutras, a capacidade de adsorção é relativamente alta. (Snoeyink, 1990).

A temperatura é outro fator importante que tem efeito na taxa de adsorção e na concentração de equilíbrio, como mostrado na Figura 3.17. Em geral, as reações de adsorção são exotérmicas e, portanto, aumentam sua eficiência com o decréscimo da temperatura. No entanto, como pode ser observado na Figura 3.17, para curtos períodos de tempo a adsorção pode apresentar melhor desempenho em temperaturas maiores.

Com relação à cinética da adsorção, tem-se que o mecanismo de transferência de massa no adsorvente ocorre segundo as seguintes etapas ordenadas (Snoeyink, 1990):

1. Transporte de massa no fluído externo: etapa que depende das características hidrodinâmicas do sistema. Essa determina a camada laminar que envolve a partícula adsorvente, ou seja, é nessa fase que o soluto é transportado para a superfície do adsorvente.
2. Transporte pelo filme de difusão: etapa em que o adsorvato, por difusão molecular, atravessa a camada hidrodinâmica limítrofe que cerca a partícula adsorvente. A velocidade do transporte de massa através do filme de difusão é proporcional à superfície externa do adsorvente e, dessa forma, associada ao tamanho da partícula.
3. Transporte nos poros: etapa em que a substância adsorvida na superfície da partícula é transportada para os centros ativos de adsorção nos poros do adsorvente.
4. Adsorção: etapa final (fenômeno de adsorção propriamente dito). Quando física é a mais rápida das etapas e, portanto, as demais se tornam limitantes do processo. Quando química é mais lenta, sendo essa etapa a limitante.



Figuras 3.17 – Efeito da temperatura na adsorção - esquemático (Masschelein, 1992).

Alguns fatores podem interferir na cinética da adsorção, como: o tamanho das moléculas dissolvidas, que agem no coeficiente de difusão, e o tamanho das partículas adsorventes, que são responsáveis por definir o tempo requerido entre o transporte no poro até os espaços disponíveis à adsorção. É importante ressaltar que a adsorção é mais efetiva em sólidos adsorventes mais finos e porosos, e que os mesoporos não apenas adsorvem moléculas com estrutura semelhante, mas são também considerados importantes para o transporte rápido de adsorvatos para os pequenos poros.

### 3.2.4 - Adsorção por carvão ativado em pó (CAP)

O emprego do carvão ativado em pó é uma técnica mais difundida que o carvão ativado granular. Isto se deve a facilidade deste em se ajustar a instalações já existentes em estações convencionais e a sua eficiência no tratamento de situações emergenciais, como no caso do aumento da concentração localizada de um poluente (Snoeyink, 1990).

As principais vantagens do uso do carvão em pó são: a flexibilidade no processo de dosagem, que deve variar de acordo com as alterações na qualidade da água; e o menor custo de investimento, quando comparado ao granular. Quanto as desvantagem têm-se: o grande custo de operação (se grandes dosagens forem requeridas por um longo período de tempo); a impossibilidade de regeneração do produto; a baixa remoção de carbono orgânico total (sic); o aumento da dificuldade de disposição do lodo e a dificuldade de remover, completamente, as partículas de CAP da água (Snoeyink, 1990).

O tamanho das partículas de CAP é um fator importante, pois quanto menores as partículas, maior será a capacidade de adsorção de compostos orgânicos. No entanto, se deve estar atento à possibilidade desse material ser carregado no efluente devido ao seu tamanho reduzido. De acordo com a norma brasileira, EB-2133 da ABNT, 90% (no mínimo) da massa de CAP devem passar pela peneira nº 325 (0,044mm). Esse valor está de acordo com o relatado por Brady (1998), que afirma que as partículas de CAP, em geral, possuem diâmetros menores que 0,1mm.

A densidade aparente dos carvões é outro fator relevante com respeito à dispersão e homogeneização deste na amostra. Esta depende do processo de manufatura executado com os materiais de origem do CAP, resultando, assim, em densidades aparentes diferentes para cada tipo de material. De acordo com a norma brasileira, EB-2133 da ABNT, esse valor deve atender o intervalo de 0,20 a 0,75 g/cm<sup>3</sup>. É importante ressaltar que esse intervalo é semelhante ao relatado por Brady (1998), que afirma que as densidades aparentes se encontram, em geral, entre 0,36 a 0,74 g/cm<sup>3</sup>.

A dosagem do CAP depende do tipo de carvão e da concentração do que se deseja remover. Dosagens comuns estão na faixa de 2 a 20 mg/L, para controle de sabor e odor. Já

com relação a episódios mais severos de sabor e odor e para derramamentos de químicos orgânicos, é possível atingir valores superiores a 100 mg/L (Brady, 1998).

Quanto ao tempo de contato, este deve ser suficiente para que haja uma completa remoção do contaminante. No caso de carvões mais finos, como a taxa de adsorção é maior, é requerido menor tempo de contato, em torno de 30 minutos. Enquanto que para materiais grosseiros, esse tempo aumenta para em média 1 hora (Masschelein, 1992).

A alimentação com CAP pode ser feita por meio de equipamentos de alimentação com pó seco, para uso esporádico, ou por bombas de dosagem, para uso contínuo na forma de suspensão. Ambos os sistemas devem estar localizados o mais perto possível dos pontos de aplicação e de preferência com uma operação periódica que garanta o bom funcionamento dos mesmos, principalmente no uso contínuo, onde a suspensão de carvão não pode solidificar. Quanto aos pontos de aplicação do CAP, estes podem ser variados ao longo do processo de tratamento, mas deve-se destacar que a aplicação em duas fases consecutivas aumenta o potencial de remoção. No entanto, é importante comentar que o arranjo das unidades, em estações já construídas, pode inviabilizar ou beneficiar na escolha desses locais de aplicação.

O CAP deve ser adicionado de maneira que assegure seu contato com todo o fluxo, para possibilitar uma rápida adsorção pelas pequenas partículas, ou para que este possa ser incorporado dentro dos flocos na mistura rápida e, posteriormente, removido na sedimentação e filtração. Na Tabela 3.9 tem-se a descrição de Snoeyink (1990) das vantagens e desvantagens dos diferentes pontos de aplicação do CAP.

Além dos aspectos já expostos até aqui sobre o CAP, é importante considerar os seguintes fatores para a escolha do melhor ponto de aplicação (Brady, 1998):

- Um tempo de contato de no mínimo de 15 minutos é geralmente suficiente para a maioria dos compostos causadores de odor e sabor. Considerando a possibilidade de tempos maiores, por exemplo, para a remoção de geosmina e metilisoborneol (MIB). Lembrando-se que o tempo de contato entre o CAP e os compostos orgânicos presentes na água depende da habilidade do carvão de se manter em suspensão.

Tabela 3.9 - Vantagens e Desvantagens dos diferentes pontos de aplicação do CAP (Brady, 1998 - modificado).

Ponto de adição	Vantagem	Desvantagem
Entrada da ETA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Boa mistura;</li> <li>• Tempo de contato longo;</li> <li>• Remoção quase que total do CAP no decantador;</li> <li>• Pouca interferência com coagulantes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Algumas substâncias que deveriam ser removidas por coagulação são adsorvidas. Desse modo pode haver um aumento na dosagem de CAP utilizada.</li> </ul>
Precedendo a mistura rápida (neste caso usa-se solução previamente diluída)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Excelente mistura para o tempo de contato projetado.</li> <li>• Pouca interferência com coagulantes;</li> <li>• Adicional tempo de contato possível durante a floculação e sedimentação;</li> <li>• Remoção quase que total do CAP no decantador.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Um novo tanque misturador deve ser instalado;</li> <li>• Algumas competições podem ocorrer com moléculas que deviam ser removidas pelos coagulantes. Desse modo pode haver um aumento na dosagem de CAP utilizada.</li> </ul>
Mistura rápida	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Boa mistura durante a mistura rápida e floculação.</li> <li>• Razoável tempo de contato;</li> <li>• Remoção quase que total do CAP no decantador.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Possível redução na taxa de adsorção por causa de interferências do coagulante;</li> <li>• Para alguns contaminantes, o tempo de contato pode ser curto demais para atingir o equilíbrio da adsorção;</li> <li>• Algumas competições podem ocorrer com moléculas que deviam ser removidas pela coagulação.</li> </ul>
Entrada do filtro	<ul style="list-style-type: none"> <li>• As moléculas que devem ser removidas por coagulação não sofrem a interferência do CAP.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Possibilidade de ocorrência de trespasse do adsorvato;</li> <li>• Aumento da perda de carga no filtro devido ao acúmulo de CAP nos interstícios do meio filtrante (reduzindo a carreira de filtração);</li> <li>• Menor tempo de contato;</li> <li>• Maior dosagem de carvão para compensar as interferências como cloro livre, cloro combinado, etc.</li> </ul>

- A superfície das partículas de CAP não deve ser revestida com coagulante ou outros químicos adicionados ao tratamento de água, antes do CAP remover o que se pretende durante o tempo de contato estipulado para o mesmo;
- O CAP não pode ser adicionado concomitantemente com o cloro e permanganato de potássio, já que o carvão é capaz de adsorver esses químicos. Sendo assim, a melhor alternativa para aplicação do CAP é usualmente na entrada da estação, pois adições antecipadas permitem um maior tempo de contato e uma remoção quase que total do CAP no decantador. Mesmo que uma parte do material ainda chegue ao filtro, essa parte poderá ser facilmente removida devido a sua menor quantidade. Além do que nessa etapa ainda não há interferências de outros químicos.

Caso o CAP seja adicionado em etapas mais à frente do processo de tratamento, sua dosagem deve ser aumentada para compensar o pouco tempo de contato que será disponível e/ou compensar a presença de interferências de outros químicos que podem ser reduzidos pelo CAP, tais como: coagulantes; cloro livre; cloro combinado; ozônio e permanganato de potássio. Situações como estas refletem uma desvantagem no processo, pois aumentam o custo envolvido no tratamento. Outro fato a ser relatado é que qualquer ponto de aplicação adotado antes da sedimentação pode sofrer com a presença de um valor elevado de turbidez na água o que pode acarretar na formação de flocos juntamente com as partículas de carvão. Esses flocos por serem mais densos podem proporcionar uma sedimentação antecipada, e, portanto, não permitindo que seja atingida a adsorção desejada.

Dentre os problemas mais comuns de operação do CAP estão: o pó emitido pelo sistema de alimentação a seco que possui características explosivas; a passagem do CAP pelo filtro e entrando no sistema de distribuição e a redução do nível de oxigênio pelo carvão ativado úmido mantido em locais fechados. Deve-se enfatizar que o CAP úmido é altamente corrosivo devendo o equipamento que entrar em contato com o mesmo ser revestido por material resistente à corrosão e a erosão, tais como: aço inoxidável, borracha e plástico (Brady, 1998).

É importante ressaltar que ensaios em equipamentos de teste de jarros são, freqüentemente, utilizados para simular o que ocorre nas estações de tratamento e, assim, determinar a dosagem de CAP necessária para remover um dado contaminante. Essa dosagem de CAP

mínima requerida tem como base a isoterma de Freundlich e é apresentada na Equação 3.6 (Snoeyink,1990):

$$\text{dosagem de } CAP_{\text{mín}} \text{ (g / L)} = \frac{(C_o - C_e) \text{ (mg / L)}}{q_e \text{ (mg / L)}} \quad \text{Equação (3.6)}$$

Onde:

$q_e$ : quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente (g/g).

$$q_e = K \cdot C_e^{1/n}$$

K e n: constantes, sendo K relacionada com a capacidade de retenção do adsorvente pelo adsorvato e “n” em função da força de ligação.

$C_o$ : concentração inicial do adsorvato (g/m<sup>3</sup>);

$C_e$ : concentração em equilíbrio do adsorvato em solução (g/m<sup>3</sup>);

### 3.2.5 - Adsorção por carvão ativado granular (CAG)

A utilização do CAG no tratamento de água deve-se em particular a situações em que as fontes de água são altamente poluídas e apresentam flutuações regulares de qualidade. A maior vantagem dessa opção de uso do carvão ativado é a garantia de segurança de um tratamento cuja remoção é permanente; além da capacidade de regeneração do produto, fato que não se observa no CAP, pois quando utilizado fica retido no lodo formado no decantador e na água de lavagem dos filtros (Masschelein, 1992).

O CAG recentemente tem sido utilizado como um substituto do filtro granular ou como um sistema complementar ao processo convencional. Em ambos os casos o CAG tem como objetivo a remoção de compostos orgânicos, incluindo subprodutos da desinfecção, que produzem sabor e odor, pesticidas e outros orgânicos sintéticos (Kawamura, 2000).

Existem três opções básicas disponíveis para a localização do CAG na seqüência do tratamento convencional: à montante dos processos convencionais de coagulação/floculação, sedimentação e filtração (pré-filtro adsorvente); após o processo de filtração tradicional (pós-filtro adsorvente); ou após o processo de sedimentação com dupla

função de filtração e adsorção (filtro-adsorvente), sendo a pós-filtração a opção mais usual. Na Figura 3.18 têm-se os esquemas dessas três opções de localização (Brady, 1998).

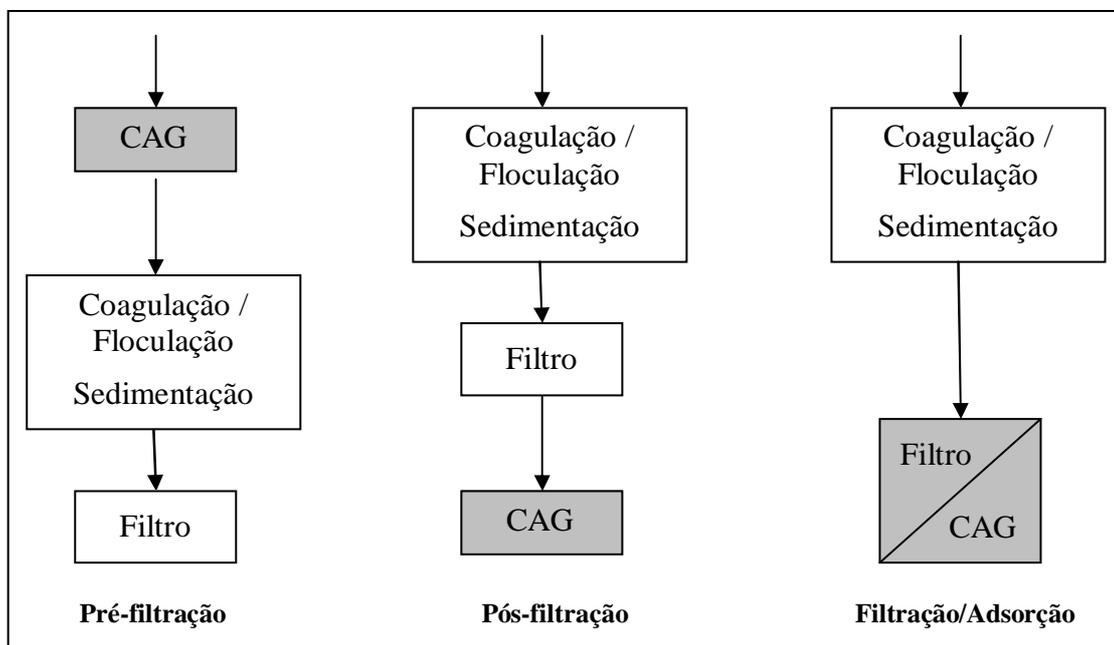


Figura 3.18 – Esquemas das opções de localização do CAG (Brady, 1998 – modificado).

O CAG é disponível nas formas extrudada, peletizada, briquetes e “fragmentado”. A forma extrudada é mais uniforme devido ao seu método de produção, no entanto seus grãos têm a tendência a obstruir os poros do filtro, o que faz essa forma ser desfavorável para o processo de filtração e filtração/adsorção. Já o carvão “fragmentado” é menos homogêneo e por essa razão melhor para a filtração. É importante ressaltar que para cada tipo de CAG haverá variações de forma, tamanho e de resistência dos grãos, fatores estes capazes de influenciar no tempo necessário para saturação do carvão e para a eficiência do processo de adsorção dos mesmos (Masschelein, 1992).

Algumas análises essenciais devem ser feitas para que haja um bom funcionamento do sistema de CAG, como por exemplo, a respeito: da distribuição granulométrica, tamanho, densidade e forma das partículas; da cinética da adsorção; das propriedades do adsorvato; do coeficiente de uniformidade; da resistência à abrasão; da expansão do leito durante a lavagem; das características da perda de carga e do processo de reativação. No caso do

coeficiente de uniformidade, o limite prático adotado é entre 1,2 e 2,0, preferencialmente, entre 1,5 e 1,8 (Masschelein, 1992).

Quanto à determinação do tamanho efetivo dos grãos, essa característica dependerá da qualidade da água e será importante para a definição da duração da carreira de filtração; em especial, quando há sistema de lavagem envolvido. No caso em que a água apresenta grande quantidade de sólidos suspensos, a função de filtração será priorizada e se fará necessário um tamanho efetivo maior para atingir a duração da carreira de filtração desejada. Esse tamanho deverá ser em torno de 0,8 a 0,9mm. Porém, se a água for mais limpa, um menor tamanho poderá ser adotado, pois a capacidade adsortiva prevalecerá no processo (Masschelein, 1992).

Os principais fatores que devem ser levados em consideração na determinação do volume requerido para o adsorvente são: o tempo de contato, a vazão de projeto e o ponto de exaustão do filtro. Para a determinação do volume requerido utiliza-se a Equação 3.7:

$$V_R = Q_p \cdot T_c \quad \text{Equação (3.7)}$$

Onde:

$V_R$ : volume requerido;

$Q_p$ : vazão de projeto;

$T_c$ : tempo de contato de leito vazio.

Com relação ao tempo de contato de leito vazio, este deve ser suficiente para não promover o trepasse e nem propiciar grandes dimensões que acarretem em um aumento do custo do sistema. Usualmente, na maioria das estações de tratamento de água com sistema de CAG o tempo de contato utilizado varia entre 5 a 25 minutos (Brady, 1998).

A exaustão do CAG corresponde ao momento em que é atingido o limite máximo admissível de um determinado componente indesejável, sendo, portanto, necessária à reativação ou troca do carvão. Esse ponto de exaustão pode ser determinado por meio de uma representação gráfica da concentração de um determinado composto indesejável no efluente ao longo do tempo. Além disso, por meio da curva de trepasse, também é possível definir a relação entre parâmetros físicos e químicos do sistema (exemplos: vazão;

tamanho do leito; taxa de exaustão do carvão); determinar o número de leitos e colunas; a melhor configuração das unidades (paralelo ou série) e os requisitos da estação de tratamento de efluentes (Brady, 1998).

Já para determinação da profundidade do filtro de CAG, o ideal é que sejam feitas simulações em escala piloto. Nessas simulações deve-se avaliar o comportamento da zona de transferência de massa (ZTM), que consiste em uma região limitada entre duas outras zonas. Uma acima com carvão ativado totalmente saturado pelo adsorvato e outra abaixo que não entrou em contato com este, e, portanto, apresentando uma concentração nula do mesmo, como mostrado na Figura 3.19. Dentro dessa ZTM ocorre retenção do adsorvato que é quantificada por um gradiente de concentração ao longo da profundidade. Parte desse gradiente de concentração pode atingir o efluente do filtro devido à exaustão do carvão ou a uma inadequada profundidade do leito, que não é suficiente para cobrir a extensão da ZTM. No entanto, deve-se salientar que a altura granular mínima para o leito não é necessariamente igual ao comprimento da ZTM, mas igual ao menor comprimento que promove níveis aceitáveis de concentração do composto indesejável no efluente.

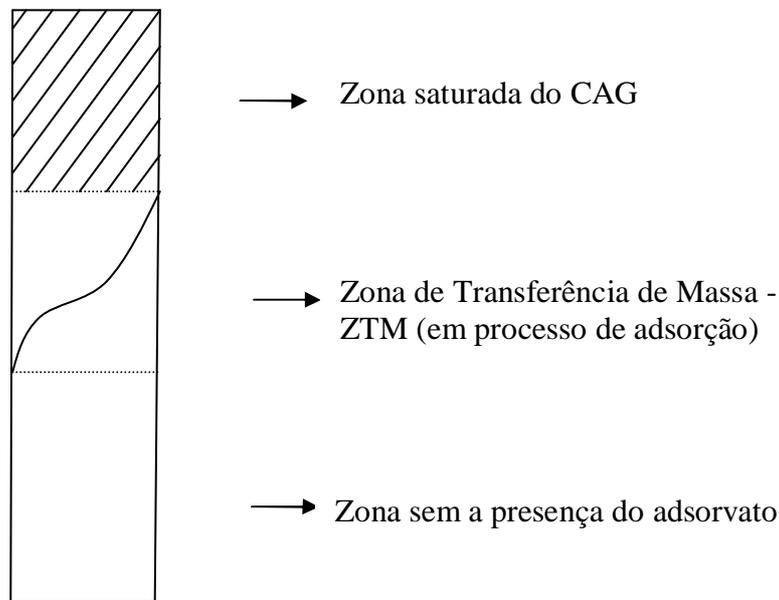


Figura 3.19 – ZTM em uma coluna de CAG (Snoeyink, 1990 - modificado).

Outro aspecto importante a ser comentado é que caso haja a necessidade de alterar fatores como a carreira de filtração e a capacidade de adsorção do soluto deve-se optar pelo

arranjo das unidades em série ou paralelo. As colunas em série são usuais para adsorções contínuas e para situações em que a profundidade do leito requerido é excessiva para uma coluna padrão. Quanto ao arranjo em paralelo, este não aumenta a profundidade, mas fornece uma maior flexibilidade para trocas e regenerações do adsorvente. (Masschelein, 1992).

Com relação aos possíveis tipos de configurações para as unidades de CAG, têm-se: leito fixo com escoamento descendente ou ascendente, leito expandido com escoamento ascendente e leito pulsante. As operações que apresentam múltiplas unidades em paralelo, fixas e com escoamento descendente são as mais usuais (Brasil, 2004).

A lavagem do filtro é essencial para remover sólidos suspensos e manter as propriedades hidráulicas do leito, inclusive possibilitar o controle biológico. Durante a lavagem pode ocorrer a mistura das partículas no leito, e dessa forma o processo deve ser executado de maneira a auxiliar a re-estratificação (Snoeyink, 1990).

O meio granular pode possibilitar o desenvolvimento da atividade biológica, que consiste em mais um mecanismo de remoção de compostos orgânicos, principalmente daqueles que apresentam maior capacidade de biodegradação quando comparada à capacidade de adsorção. Alguns exemplos desses tipos de compostos são os: fenóis, p-nitrofenóis, ácido salicílicos, amônia, Geosmina, MIB, entre outros (Snoeyink, 1990).

A ação biológica pode ser intensificada pela introdução de uma etapa de pré-tratamento, que consiste na adição de cloro, ou de outros oxidantes químicos como, por exemplo, o ozônio. Isto propicia um impacto importante na performance do sistema, tendo em vista que moléculas não biodegradáveis podem ser quebradas em moléculas menores e biodegradáveis. No caso da utilização do ozônio, ainda há o benefício do aumento dos níveis de oxigênio (Snoeyink, 1990).

O pré-tratamento também pode ser executado na prevenção de falhas no sistema ao remover compostos com ferro e manganês que geralmente interferem na adsorção, pois revestem as partículas do adsorvente. Ou ainda promovendo alterações no pH, pois quando este atinge valores perto da neutralidade promove uma maior adsorção.

Alguns problemas podem aparecer em função da atividade biológica, como a presença de microrganismos no efluente ou a emissão de odor característico, sendo esse odor devido a fatores como: insuficiência de oxigênio (condição anaeróbica); maior concentração de amônia no filtro e inativação do leito durante certo período. Para contornar o problema é necessário um controle biológico, assegurando o contínuo fornecimento de oxigênio ao sistema. Outro aspecto importante a ser comentado a respeito do filme biológico formado no filtro é o fato deste, além de ser benéfico para compostos orgânicos biodegradáveis, ser capaz de funcionar como uma barreira para que compostos não-biodegradáveis possam ser adsorvidos pelo carvão.

Como já foi mencionado, anteriormente, para prolongar a vida útil do leito é necessário fazer o reaproveitamento do material, por meio do processo de regeneração. A regeneração é executada quando o CAG atinge a exaustão e envolve duas fases: a dessorção da matéria fixada no adsorvente, e a reativação e restauração da superfície e das estruturas dos poros (Masschelein, 1992).

A regeneração pode ser executada por atividade biológica, em que as bactérias são capazes de mineralizar produtos orgânicos adsorvidos pelo carvão. Por atividade química, no qual se utiliza um solvente para extrair os compostos adsorvidos a uma temperatura de aproximadamente 100°C, além de promover a alteração do pH. Ou por atividade térmica, em que a água e compostos orgânicos voláteis são evaporados e os produtos orgânicos remanescentes são carbonizados em fornos controlados (Masschelein, 1992; Kawamura, 2000).

É importante comentar que algumas mudanças podem ocorrer com o carvão após a reativação. De acordo com Moore *et al.* (2001, *apud* Brasil, 2004), o CAG pode modificar o tamanho dos seus poros durante a reativação, pois em seus experimentos foi constatado que um CAG virgem com uma maior quantidade de microporos e poucos mesoporos em sua estrutura ao ser reativado passa a apresentar mais mesoporos. Além disso, também foi verificado que um CAG reativado é capaz de atingir índices de remoções superiores a um CAG virgem durante seis ciclos seguidos, sem comprometimento de sua eficiência. Tal fato sustenta a idéia de que reativar um material ao invés de descartá-lo e substituí-lo por um novo é uma excelente alternativa.

O destino final dos resíduos de CAP e CAG merecem atenção, pois se estes forem dispostos no solo podem causar problemas de contaminação do solo e águas subterrâneas devido à lixiviação dos compostos adsorvidos. Além de problemas estéticos relacionados à cor preta liberada pelo carvão que é observada quando os resíduos são descarregados em corpos receptores de água. Uma boa alternativa para o controle desse problema é a destruição térmica dos compostos adsorvidos por regeneração térmica ou combustão do carvão (Snoeyink, 1990).

### **3.3 - PROCESSOS DE REMOÇÃO DE PERTURBADORES ENDÓCRINOS**

Atualmente, as tecnologias avançadas de carvão ativado e filtração em membranas são consideradas as mais eficientes alternativas de remoção dos perturbadores endócrinos, como os que serão abordados nesse trabalho:  $17\beta$ -estradiol e p-nonilfenol.

No entanto, as técnicas que podem ser adaptadas a sistemas convencionais, como a coagulação melhorada e a oxidação, devem ser discutidas devido à ampla utilização do tratamento convencional no Brasil. Ambas as técnicas estão se mostrando eficientes na remoção de compostos orgânicos persistentes, sendo possíveis de serem utilizadas na remoção de perturbadores endócrinos.

#### **3.3.1 - Remoção por processo de oxidação**

Os processos de desinfecção com cloro e ozônio promovem a melhoria da qualidade da água por meio da destruição de microrganismos patogênicos e pela oxidação de compostos orgânicos indesejados. Como os perturbadores endócrinos também são substâncias orgânicas, a hipótese de oxidá-los é válida. Assim, vários estudos vêm sendo propostos com o objetivo de avaliar a eficiência de remoção dos perturbadores endócrinos por oxidação química.

Ternes *et al.* (2003) se propuseram a determinar se a ozonização acoplada ao tratamento de esgoto é capaz de remover fármacos, fragrâncias, estrogênio e substâncias usadas como contrastes de raio-X (ICMs). Para isso, foi utilizada uma instalação piloto provida de sistema de ozonização e desinfecção ultravioleta (UV). Essa instalação era alimentada por

efluentes de uma ETE, localizada em um município alemão de, aproximadamente, 380.000 habitantes.

Os autores observaram que com a aplicação de 10 a 15mg/L de ozônio e tempo de contato de 18 minutos, a concentração de todos os fármacos investigados, bem como as fragrâncias e estrogênio natural (estrone), foram reduzidos para valores abaixo do limite de detecção. Apenas, os ICMs ainda foram encontrados em quantidades significativas. Obviamente também foi observada a remoção de microrganismos como: *Clostridium perfringens*, *Streptococci*, *E. Coli*.

Ternes *et al.* (2003) também constataram que o processo de oxidação avançado O<sub>3</sub>/UV aumenta apenas ligeiramente a capacidade de remoção dos ICMs quando comparados ao processo de ozonização por si só. Por exemplo, para uma dosagem de 15mg/L de ozônio, a remoção do ICM iopamidol por ozonização atingiu um percentual de 84%, enquanto para O<sub>3</sub>/UV obteve-se 88%.

Segundo os autores, a remoção por O<sub>3</sub>/UV não pôde ser mais efetiva pelo fato do ozônio ser consumido quase que, completamente, pelo carbono orgânico dissolvido no esgoto, antes da unidade UV. Observou-se que apenas 1mg/L de ozônio, dos 15mg/L dosados, chegou à unidade UV e, portanto, restando pouca quantidade de ozônio para oxidar outros compostos sob ação do UV. Assim, para se alcançar uma eficiente remoção são necessárias altas dosagens de ozônio, o que não é economicamente viável.

Buscando uma solução, Ternes *et al.* (2003) sugeriram a adição de peróxido de hidrogênio (O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) para aumentar a eficiência da oxidação. Nesse novo arranjo os autores obtiveram, com as dosagens de 10mg/L de ozônio e 10mg/L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, uma remoção 80% do ICM iopamidol no processo O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e de 57% na ozonização por si só. Deve-se ressaltar que em ambas as combinações (O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>3</sub>/UV), o aumento na remoção deveu-se, principalmente, à formação de radicais OH.

Quanto aos subprodutos derivados da ozonização, estes são, em geral, desconhecidos. Mas no caso dessa estação em particular, presume-se que estes sejam biodegradados pelos microrganismos do solo, aonde era feito o despejo final dos efluentes. É importante comentar que o processo de ozonização aumenta o número de grupos funcionais e a

polaridade das moléculas, alterando, assim, as propriedades dos fármacos e o potencial de risco dos mesmos.

Com relação à remoção por cloração, tem-se, por exemplo, o trabalho desenvolvido por Lee *et al.* (2004) que estudaram os efeitos desse oxidante sobre a remoção de três perturbadores endócrinos: bisfenol A, nonilfenol e 17 $\beta$ -estradiol. As amostras utilizadas nos ensaios foram preparadas em laboratório com a diluição, em água deionizada, de soluções estoques previamente constituídas com os perturbadores endócrinos em separado. As concentrações finais dos perturbadores nas amostras foram de 2,28mg/L (2281 $\mu$ g/L) para o bisfenol A, 220,4 $\mu$ g/L para o nonilfenol e 27,2 $\mu$ g/L para o 17 $\beta$ -estradiol. Em seguida, foi promovida a cloração dessas soluções com hipoclorito de sódio nas dosagens de 7,5mg/L para o bisfenol A e 1,5mg/L para o nonilfenol e 17 $\beta$ -estradiol.

As detecções dos compostos foram realizadas por meio de ensaios YTA; por ensaios de competição (ER-CA) com receptor estrógeno (ER) e por cromatografia líquida ligada à espectrometria de massas (LC/MS). Os resultados obtidos pelas análises de YTA, ER-CA e LC/MS indicaram que a atividade dos três perturbadores endócrinos mencionados foi, significativamente, reduzida sob a influência do cloro livre e com o aumento do tempo de contato. É importante comentar que os tempos de contato avaliados foram: 3minutos, 10minutos, 1hora e 24horas para o bisfenol A; 10minutos, 24horas e 36horas para o nonilfenol e 10minutos e 24horas para o 17 $\beta$ -estradiol.

Quanto à influência do cloro livre, este é capaz de promover o fenômeno da oxidação de orgânicos ao substituir o carbono orgânico das moléculas pelo cloro, formando, assim, compostos orgânicos clorados de mais fácil remoção. Considerando que a maior parte das substâncias perturbadoras endócrinas existentes possuem pelo menos um anel fenólico, ou seja, há carbono orgânico na estrutura química, é possível estender essa opção de remoção para outros perturbadores endócrinos.

Lee *et al.* (2004) relataram, no entanto, que apesar do benefício da redução de perturbadores endócrinos e do efeito germicida proporcionado pela cloração, existe a desvantagem no aumento de subprodutos da desinfecção, tais como os cloro-fenóis. Segundo os autores faz-se necessário que estudos futuros identifiquem o nível crítico de

cloro residual junto com o mínimo requerido de tempo de reação para a eliminação das atividades perturbadoras endócrinas em diferentes tipos de amostras.

Rudder *et al.* (2004) também optaram por estudar diferentes técnicas de remoção, incluindo oxidação química e biológica, sendo, nesse caso, para remoção do estrogênio 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2). A opção por esse tipo de estrogênio foi devida à persistência do mesmo no ambiente, já que este possui um tempo de dissipação da ordem de 20 a 40 dias em rios. Outro ponto importante a ser citado, é que esse composto sintético é excretado pelo corpo humano em formas conjugadas, principalmente como glucuronides e sulfatos, e pode ser re-convertido em uma forma ativa antes ou durante a passagem pela ETE, como um resultado da atividade microbiana. Além disso, o 17 $\alpha$ -etinilestradiol é conhecido como um estrogênio de grande toxicidade, já comprovada em estudos *in vitro* e *in vivos*.

Em seu trabalho Rudder *et al.* (2004) compararam a remoção do 17 $\alpha$ -etinilestradiol em três reatores dotados de diferentes materiais constituintes: areia, carvão ativado granular (CAG) e óxido de manganês granulado (MnO<sub>2</sub>). As amostras analisadas foram preparadas em laboratórios com água deionizada e solução estoque, previamente constituída com 17 $\alpha$ -etinilestradiol (com pureza > 98%) e etanol como solvente. As concentrações afluentes nos reatores variaram de 5.800 $\pm$ 1.100 a 21.900 $\pm$ 800ngEE2/L. Além disso, foram admitidos tempos de detenção hidráulica de, aproximadamente, 1 hora para os três reatores e uma vazão de 1,2L/h.

As remoções de 17 $\alpha$ -etinilestradiol registradas foram de 17,3% para a areia, >99,8% para o CAG e 81,7% para o MnO<sub>2</sub>. Para o reator de areia, observou-se que a remoção registrada não foi estatisticamente comprovada e, portanto, optou-se em utilizá-lo como um controle. Quanto ao reator de MnO<sub>2</sub>, a remoção foi resultado do fenômeno de adsorção e da capacidade catalítica do material, que é consequência do fato do MnO<sub>2</sub> ser um oxidante sólido com superfície redutora e, portanto, capaz de reagir com químicos orgânicos xenobióticos.

Assim, a remoção no reator de MnO<sub>2</sub> consistiu na oxidação do 17 $\alpha$ -etinilestradiol pela superfície catalítica do MnO<sub>2</sub> resultando em íons de Mn<sup>+2</sup> e pequenas moléculas oxidadas. Esses íons, com o auxílio de microrganismos oxidantes de Mn<sup>+2</sup> como as espécies de

*Bacillus*, *Leptothrix discophora* e *Pseudomonas putida*, são re-oxidados e re-depositados, novamente, na superfície catalítica do  $MnO_2$ . Dessa forma, tem-se um tratamento com bom custo-efetividade, já que a matriz não precisa ser substituída. A Figura 3.20 apresenta um esquema do fenômeno de oxidação que ocorre no reator  $MnO_2$ .

Já com relação à remoção por meio do reator de CAG, esta ocorreu somente devido ao fenômeno de adsorção. Observou-se nos experimentos que o leito de CAG apresentou um tempo de vida útil de 156 dias e uma capacidade de adsorção de 163.500ng/g (para uma concentração afluyente média de 13.800ng/L). Esse resultado foi bem superior ao obtido no reator de  $MnO_2$  que apresentou uma capacidade de adsorção de 2.000ng/g (para uma concentração afluyente média de 12.212ngEE2/L). No entanto, é importante lembrar que o reator de  $MnO_2$  conta também com a remoção por oxidação, que embora não tenha sido mensurada, proporcionou maior eficiência ao processo.

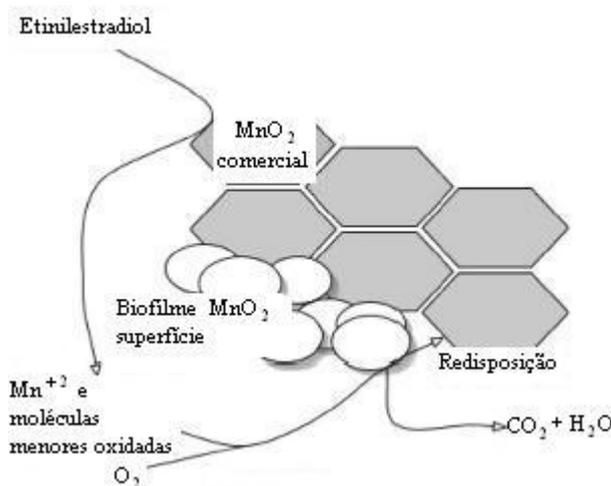


Figura 3.20 – Fenômeno de oxidação do 17 $\alpha$ -etinilestradiol no reator de  $MnO_2$  (Rudder *et al.*, 2004 - modificado).

Rudder *et al.* (2004) relataram também que devido a grande área de superfície e hidrofobicidade do CAG, este possui uma maior capacidade para adsorver substâncias apolares. Como o 17 $\alpha$ -etinilestradiol é uma substância pouco apolar, o CAG tem grande facilidade de absorvê-la quando presente na água em concentrações da ordem de micrograma por litro, mas em concentrações de carga menores, como por exemplo da ordem de 0,1-20ngEE2/L, que são as concentrações em geral encontradas no ambiente, o CAG é capaz de adsorver apenas pequenas quantidades de 17 $\alpha$ -etinilestradiol. Por esta

razão, o carvão ativado tem que ser substituído ou reativado com frequência, tornando-se uma técnica pouco viável economicamente.

Desse modo, a utilização de matrizes de regeneração, como a do reator de  $MnO_2$ , tornam-se uma alternativa vantajosa. Contudo, são necessários novos testes para avaliar a viabilidade dessas matrizes em menores concentrações, diferentes das testadas por Rudder *et al.* (2004).

### **3.3.2 - Remoção por coagulação melhorada**

Ultimamente, grande ênfase tem sido dada à remoção de matéria orgânica natural por coagulação química, uma vez que esses orgânicos podem funcionar como precursores da formação de subprodutos indesejáveis da desinfecção. Desse modo, ampliam-se os objetivos tradicionais da coagulação realizada nas estações de tratamento de água (ETAs), que são a remoção de cor, de turbidez e materiais coloidais, com a remoção de matéria orgânica.

A esse tipo de coagulação denomina-se coagulação melhorada ou *enhanced coagulation*, que consiste em um processo de coagulação, geralmente, realizado sob condições de altas dosagens de coagulante e baixo valor de pH. Nesse caso, além do mecanismo característico da coagulação convencional de desestabilização das partículas e agregação quando promovido o contato das mesmas, os flocos formados apresentam capacidade adsorptiva, o que possibilita a remoção de compostos mais persistentes. Ou seja, um processo semelhante ao que ocorre na remoção por carvão ativado, o que torna essa tecnologia uma provável opção para remoção de perturbadores endócrinos; no entanto, ainda não estudada para essa situação.

A idéia de utilização do processo de coagulação melhorada surgiu a partir da revisão da legislação americana relativa a água de consumo humano, em 1986, o *Safe Drinking Water Act* (SDWA). Nessa revisão, o congresso americano solicitou à Agência de Proteção Ambiental Norte Americana (EPA) que desenvolvesse um documento contendo as concentrações máximas desejáveis de vários contaminantes na água para consumo humano, incluindo os desinfetantes e os subprodutos da desinfecção. Para cada contaminante, o documento deveria conter também a técnica de tratamento adequada para

garantir a remoção do contaminante e/ou o limite máximo permitido na água potável a ser atingido com a melhor tecnologia de tratamento disponível.

No que se refere aos desinfetantes e subprodutos da desinfecção, foi gerada uma legislação específica, negociada em 1992 e 1993, conhecida como *Disinfection Byproduct Rule* (DBPR). Para aplicação dessa legislação a EPA propôs 3 estágios de implementação, cujo primeiro estágio foi promulgado em dezembro de 1998 e é objeto de um manual específico publicado pela EPA em 1999 (EPA, 1999). A proposta do primeiro estágio DBPR é reduzir a concentração de subprodutos da desinfecção para limites admissíveis na água tratada por meio da remoção de compostos precursores.

Para a remoção dos precursores foi sugerida a técnica de coagulação melhorada (*enhanced coagulation*). A coagulação melhorada consiste, como já comentado, anteriormente, em uma estratégia de coagulação capaz de maximizar, ao mesmo tempo, a remoção de turbidez; de carbono orgânico total (COT) e de precursores de DBPs, controlando, portanto, a formação de subprodutos da desinfecção como trihalometanos (THM) e ácidos haloacéticos (HAA). Esse processo deve dispor de doses adequadas de coagulantes e de critérios reguladores para que haja um atendimento dos objetivos a um custo adequado (Edzwald e Tobiason, 1999; EPA, 1999).

De acordo com Edzwald e Tobiason (1999), a EPA define dois passos para determinar a necessidade de utilização da técnica de coagulação melhorada. No primeiro passo deve-se monitorar a remoção do COT no processo de tratamento; e avaliar se a remoção satisfaz ou excede o percentual requerido na Tabela 3.10. De acordo com a Tabela 3.10, as necessidades de remoção de COT são dependentes da alcalinidade e da concentração de COT na água bruta.

Tabela 3.10 – Coagulação melhorada: percentual requerido de remoção de COT (Edzwald e Tobiason, 1999 - modificado).

COT da água bruta - mg/L (*)	Alcalinidade da água bruta (CaCO <sub>3</sub> ) - mg/L		
	<60	60-120	>120
>2-4	35%	25%	10%
>4-8	45%	35%	25%
>8	50%	40%	30%

(\*) Para sistemas de água com COT menor ou igual a 2mg/L, não se requer a prática de coagulação melhorada.

Se o valor de remoção de COT obtido na coagulação usual não satisfaz o desejado a técnica de coagulação não é considerada “coagulação melhorada” e modificações na coagulação deverão ser realizadas para se atingir o patamar de remoção desejado da Tabela 3.10. De um modo geral para se obter a coagulação melhorada faz-se necessário a adição de elevadas dosagens de coagulante e o uso de baixos valores de pH, entre 5 e 6.

Caso as modificações na coagulação não promovam uma remoção de COT compatível com a Tabela 3.10, uma meta de remoção de COT específica deverá ser estabelecida (segundo passo). Para tal, a EPA recomenda o uso de testes de jarros e experimentos em instalação piloto. É importante enfatizar que a dosagem e o pH encontrados para o atendimento dessa meta específica irão constituir nos parâmetros para atendimento das condições de coagulação melhorada para essa determinada situação.

Assim, para se atingir a meta de remoção de COT possível (meta específica), testes de jarros deverão ser executados adicionando-se incrementos de 10mg/L de sulfato de alumínio (ou concentração equivalente de outro coagulante). Para cada dosagem determina-se o nível de remoção de COT obtido e/ou adsorção específica ultravioleta. Esse ensaio deverá ser realizado sob certa condição de pH, o qual dependerá do valor de alcalinidade da água. A Tabela 3.11 apresenta os valores de pH limite para cada faixa de alcalinidade.

A meta de remoção de COT será atingida quando o novo incremento de 10mg/L de coagulante proporcionar um decréscimo de COT menor do que 0,3mg/L ou quando a adsorção específica ultravioleta (UV a 254nm) for menor que  $2\text{m}^{-1}$  (Edzwald e Tobiasson, 1999; EPA, 1999).

Tabela 3.11 – Valor limite de pH para estabelecimento da meta específica de remoção de COT na coagulação melhorada - segundo passo (EPA,1999 - modificado).

<b>Alcalinidade (CaCO<sub>3</sub>) – mg/L</b>	<b>pH</b>
0 - 60	≤ 5,5
> 60 – 120	≤ 6,3
>120 - 240	≤ 7,0
> 240	≤ 7,5

Os efeitos secundários decorrentes do processo da adoção da coagulação melhorada podem ser benéficos ou prejudiciais. Os impactos podem ocorrer: nos níveis constituintes de

inorgânicos, como manganês, alumínio, sulfato, cloro e sódio; no controle de corrosão; na desinfecção; na remoção de partículas e patogênicos; no tratamento e disposição de resíduos; na operação e manutenção do processo e na reciclagem da água (EPA, 1999).

É importante ressaltar que Edzwald e Tobiason (1999) constataam alguns problemas no segundo passo desenvolvidos pela EPA. Para Edzwald e Tobiason (1999) é uma negligência não permitir a utilização de coagulantes como cloreto de polialumínio ou polímeros orgânicos catiônicos para o segundo passo, tendo em vista que esses coagulantes podem ser efetivos em condições de pH neutro. Tal medida facilitaria o processo, pois baixos valores de pHs de coagulação poderiam não ser necessário.

Edzwald e Tobiason (1999) também recomendaram, discordando do proposto pela EPA, a medição do parâmetro de carbono orgânico dissolvido (COD) depois da sedimentação para o segundo passo, ao invés da medição de COT. Isto porque o COT não é um bom parâmetro para avaliar a remoção de matéria orgânica dissolvida em testes de jarros, pois é de difícil análise e pode gerar erros. Edzwald e Tobiason (1999) alegam que o COD corresponde cerca de 90 a 99% do COT e controla a coagulação mais do que o carbono particulado. Os testes de jarros são bons para determinar a química das reações de coagulação e o COD é quimicamente independente da escala, já a medida de COT depende da sedimentação e da escala. Além disso, seleção de dosagens baseadas em medidas de COT pode levar a superdosagens de coagulantes para promover a sedimentação de carbono particulado no teste de jarros. Essa superdosagem pode resultar um aumento no custo de manutenção e operação da estação e uma maior produção de lodo no processo.

Outro problema observado no segundo passo foi que para os valores requeridos de pH, não maiores que 5,5, e de alcalinidade ( $\text{CaCO}_3$ ), menores que 60mg/L, para coagulação com sulfato de alumínio, há problemas de baixa remoção de partículas ou turbidez nas etapas de separação sólido-líquido da ETA, além de problemas com alumínio residual.

Um exemplo da utilização da coagulação melhorada na remoção de compostos persistentes foi o estudo desenvolvido por Vieno *et al.* (2006). Nesse trabalho os autores propuseram a remoção de alguns fármacos (diclofenaco, ibuprofeno, bezafibrato, carbamazepina e sulfametoxazol) por coagulação melhorada utilizando sulfato férrico (pH: 4,5) como coagulante. Nos experimentos de teste de jarros foram utilizados três diferentes tipos de

amostras: água deionizada; água natural retirada de um lago e solução comercial contendo ácidos húmicos, sendo que para todas as amostras foram misturadas soluções padrões contendo os fármacos em questão.

Nos resultados com amostras de água deionizada, os fármacos foram pobremente removidos (<10%), com exceção do diclofenaco que obteve remoções acima de 66%. Esse mesmo composto também foi o único fármaco removido (30%) nas amostras de água natural. Já nas soluções comerciais contendo ácidos húmicos, a coagulação obteve remoções máximas de 77% de diclofenaco, 50% de ibuprofeno e 36% de bezafibrato. A partir desses resultados, os autores concluíram que uma grande quantidade de matéria orgânica dissolvida de alto peso molecular melhora a remoção de fármacos ionizáveis. Quanto aos compostos não ionizáveis, carbamazepina e sulfametoxazol, estes não foram afetados pela coagulação melhorada.

Desse estudo, surgem indicações do potencial da remoção de perturbadores endócrinos por coagulação melhorada, porém sua eficiência parece ser altamente influenciada pelas características dos compostos e da água, exigindo estudos aprofundados.

### **3.3.3 - Remoção por filtração em membrana**

Avaliações toxicológicas indicam que as estações convencionais de tratamento de água e esgoto não são capazes de remover perturbadores endócrinos suficientemente. Desse modo, as tecnologias avançadas de membrana como osmose reversa, nanofiltração e bioreatores de membranas têm-se mostrado como possíveis alternativas para o tratamento de água e para o polimento final de efluentes. A aplicação dessas tecnologias já vem aumentando em muitos países, em função do estabelecimento de padrões de qualidade e lançamentos mais exigentes (Wintgens *et al.*, 2004 e Gallenkemper *et al.*, 2003).

A principal função das membranas é atuar como barreira seletiva, permitindo a passagem de certos componentes de uma mistura e retendo outros. Esse mecanismo de retenção das membranas envolve um processo de adsorção, e não apenas de peneiramento. Assim, a retenção decresce com o aumento da concentração do perturbador endócrino acumulado na membrana e o transpase ocorre quando o contaminante acumulado atinge uma concentração de equilíbrio correspondente à concentração que alimenta o processo. No

entanto, deve-se ressaltar que fatores como tipo de membrana, valor do pH da solução e a afinidade do contaminante pela água, bem como pela presença de outros orgânicos, podem interferir no processo de remoção (Chang *et al.*, 2002).

De acordo com Cheryan (1998 *apud* CEPPA, 2005), o fator que distingue os processos mais comuns de separação por membranas é a aplicação da pressão hidráulica para acelerar o processo de transporte. Entretanto, é a natureza da membrana que controla quais componentes permearão e quais ficarão retidos, uma vez que os mesmos são diferencialmente separados de acordo com o peso molar ou tamanho da partícula. É importante ressaltar que o tamanho dos poros da membrana, a difusividade do soluto na matriz e as cargas elétricas associadas são também fatores interferentes na seletividade.

Segundo Snape e Nakajima (1996) são utilizadas na microfiltração pressões inferiores a 0,2MPa, separando moléculas entre 0,025 e 10 $\mu$ m. A ultrafiltração envolve pressões superiores a 1MPa e separação de partículas com peso molecular entre 1 e 300KDa. No caso da nanofiltração são utilizadas pressões entre 1 e 4 MPa para separação de partículas com peso molecular entre 350 e 1000Da. Já na osmose reversa são utilizadas pressões entre 4 e 10MPa e separação de partículas com peso molecular menor que 350Da.

As técnicas de membranas, devido a grande capacidade de remoção, podem ser válidas não somente para o melhoramento de efluente de estação de tratamento de esgoto e de água, mas abrangendo cenários de reuso de água e recarga de aquífero. Diversos estudos vêm comprovando que além da remoção dos perturbadores endócrinos, as membranas são também capazes de remover uma ampla faixa de substâncias dissolvidas, bactérias e vírus. Entretanto, existe uma grande desvantagem nessa tecnologia que é o alto custo de configuração do processo para o tratamento de grandes volumes de água (Gallenkemper *et al.*, 2003).

Entre os estudos realizados sobre nanofiltração tem-se o desenvolvido por Gallenkemper *et al.* (2003). Esses autores realizaram testes experimentais em um sistema montado em escala de laboratório que consistia em pequenos módulos com células testes de membrana contendo áreas de, aproximadamente, 50cm<sup>2</sup> cada. O sistema foi elaborado para trabalhar sobre uma pressão transmembrana de aproximadamente 3MPa e para receber uma vazão de 12L/min de efluente proveniente de uma ETE alemã.

Nesse estudo, avaliou-se a remoção dos perturbadores endócrinos nonilfenol e bisfenol A por 11 diferentes membranas de nanofiltração. Algumas das membranas foram capazes de altas retenções de nonilfenol, outras de boas remoções de bisfenol A e algumas apresentaram quase a mesma capacidade de remoção de ambos os componentes.

O resultado foi de certa forma surpreendente, pois as substâncias apresentam peso molecular semelhante (220g/mol para o nonilfenol e 280g/mol para bisfenol A). Assim, Gallenkemper *et al.* (2003) concluíram que a diferença de retenção não foi devida apenas à exclusão de tamanho, mas por outros comportamentos distintos como diferentes polaridades das substâncias e hidrofobicidade das membranas. Os autores também relacionaram a retenção do nonilfenol e do bisfenol A com a permeabilidade hidráulica da membrana e com o ângulo de contato e verificaram que somente para o nonilfenol existiu correlação. Assim, concluiu-se que para o nonilfenol a permeabilidade descreve com o aumento do ângulo de contato e de acordo com a hidrofobicidade.

Wintgens *et al.* (2004) em seus estudos também avaliaram a capacidade de retenção do perturbador endócrino bisfenol A por diferentes tipos de membranas. O experimento foi conduzido em uma estação piloto contendo uma configuração de bioreatores de membranas de ultrafiltração paralela a uma instalação de osmose reversa. As amostras utilizadas nos ensaios foram provenientes de uma estação de tratamento que recebe as águas lixiviadas de um aterro em Warden, na Alemanha.

Os resultados mostraram que a remoção foi baseada em diferentes mecanismos. No caso da osmose reversa predominou a exclusão de tamanho, enquanto para os bioreatores de membrana, a remoção biológica; sendo o bisfenol A mais eficientemente removido por degradação biológica.

Weber *et al.* (2004) se propuseram a estudar a remoção de hormônios esteróides naturais e sintéticos, em laboratório, por meio da nanofiltração. Para isso escolheram duas membranas entre as anteriormente estudadas por Gallenkemper *et al.* (2003) que apresentaram, na época, maiores diferenças de retenção entre os perturbadores endócrinos envolvidos. Nesse estudo, diferentemente de Gallenkemper *et al.* (2003) que utilizou efluentes de ETE, Weber *et al.* (2004) optaram por amostras preparadas em laboratório com água deionizada misturada a uma solução estoque previamente preparada com

solvente cetona e uma mistura de perturbadores endócrinos ( $17\beta$ -estradiol, estrona,  $17\alpha$ -etinilestradiol, mestranol, dietilstilbestrol, progesterona e  $\beta$ -sitosterina), resultando em uma concentração teórica total de  $100\mu\text{g/L}$ .

As análises foram realizadas por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa e as amostras preparadas previamente por extração em fase sólida. A membrana fabricada em poliamida apresentou remoções maiores que 99% para todos os compostos. Já as fabricadas a partir de polietersulfona hidrolisada foram menos eficientes, removendo entre 40 e 90%. A diferença de material entre os dois tipos de membrana foi o principal fator responsável pela diferença nos resultados de retenção. No entanto, deve-se ressaltar que as cargas na superfície, tamanho dos poros e pressão também foram fatores capazes de influenciar na retenção das membranas.

No caso particular da influência da pressão, foram realizados alguns ensaios com a membrana de polietersulfona, onde se constatou que dependendo do tipo de compostos a retenção pode ou não aumentar com o aumento da pressão, ou seja, não há um comportamento comum para todos os perturbadores endócrinos. Entretanto, observou-se que para o  $17\beta$ -estradiol e o nonilfenol, pressões superiores a aproximadamente  $3,5\text{MPa}$  podem acarretar maior compressão na membrana e, portanto, uma diminuição dos poros e, por consequência, um aumento na retenção. Já em relação ao ângulo de contato do material, que é um indicativo da hidrofobicidade, este foi semelhante para ambas as membranas, indicando que a tensão de superfície, realmente, não foi o fator decisivo para a retenção dos esteróides.

Da mesma forma das demais pesquisas citadas, Nghiem et al. (2004) investigaram a retenção de perturbadores endócrinos por meio de membranas. Nesse caso, optaram pela avaliação da remoção da estrona e do  $17\beta$ -estradiol em estudo de bancada usando oito membranas comerciais de nanofiltração e osmose reversa de baixa pressão. As amostras utilizadas foram provenientes do efluente secundário de uma ETE localizada em Queensland, na Austrália. Os resultados dos experimentos indicaram que os mecanismos de separação da estrona e do  $17\beta$ -estradiol são similares e que a presença de matéria orgânica na solução parece melhorar a retenção dos perturbadores endócrinos. Fato este

que, aparentemente, pode ser mais evidente para águas naturais em que a matéria orgânica apresenta maior peso molecular.

Os experimentos sugeririam que interações físico-químicas dentro das membranas podem ter importante papel e que, dependendo do tamanho dos poros, podem acarretar alterações na adsorção. Outro ponto observado pelos autores foi o comportamento da retenção da estrona diante das configurações de membranas de fluxos tangencial (*cross-flow*) e de fluxo frontal (*dead-end*). Nghiem *et al.* (2004) observaram que os testes com fluxo frontal podem subestimar os resultados de retenções em longos períodos. Já quanto ao fluxo tangencial, os resultados foram mais confiáveis, assim, observou-se que não há efeito na retenção da estrona quando se altera a velocidade de fluxo, mas ao aumentar a pressão de operação tem-se um decréscimo nessa retenção. Além disso, constatou-se que a configuração de fluxo tangencial é mais efetiva que a frontal com respeito à retenção.

### **3.3.4 – Remoção por carvão ativado**

Como já foi mencionado nessa mesma revisão bibliográfica, é possível remover uma gama de contaminantes orgânicos por meio do processo de adsorção em carvão ativado. Com base nisso, Paune *et al.* (1998) desenvolveram estudos com amostras de água do Rio Llobregat, na Espanha, com o objetivo de estabelecer o melhor tratamento para a remoção dos poluentes orgânicos ali existentes. O Rio Llobregat é a maior fonte de abastecimento de água para consumo humano, industrial e agrícola, da cidade de Barcelona. Desde os anos 60 esse rio vem sendo poluído por efluentes industriais ao longo do seu curso. Essa poluição é composta de grande quantidade de hidrocarbonetos, pesticidas, surfactantes, nonilfenóis, plastificantes e precursores de trihalometanos (THMs) que, em geral, são transformados ou degradados em cadeias menores e mais tóxicas.

Paune *et al.* (1998) constataram que os processos de pré-cloração, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia, e pós-cloração que vinham sendo usados na estação de tratamento de água da região não eram suficientes para alcançar uma qualidade de água satisfatória. Dessa forma, Paune *et al.* (1998) propuseram a implementação de um método de filtração baseado em CAG. Para avaliar o processo proposto, utilizou-se uma estação piloto com os mesmos processos da estação já existente, mas incluindo um tratamento complementar de filtração com CAG.

Esse sistema adicional de CAG era capaz de trabalhar com quatro filtros em paralelo, sendo cada um deles acoplados em série a um instrumental analítico, o qual era responsável pela avaliação do desempenho de seu filtro correspondente. É importante relatar que foram avaliados sete filtros de CAG de origem betuminosa e vegetal, em dois grupos de ensaios. Um dos filtros foi mantido em ambos os grupos para monitorar possíveis fenômenos de saturação. A taxa de filtração utilizada era de aproximadamente 30ml/min. Na Tabela 3.12 são apresentadas as características dos dois grupos de ensaio.

Os resultados obtidos a partir de análises cromatográficas verificaram que por meio da filtração com CAG foi possível reduzir a concentração de todos os compostos em análise, exceto para algumas amostras em que ainda foram constatadas as presenças de nonilfenóis polietoxilados e dos compostos bromofórmio e 2-cloropiridina. No entanto, esse fato somente foi observado no primeiro grupo de filtros de CAG testados e pode ser justificado pelo fenômeno da saturação. A saturação faz com que os filtros liberem os poluentes previamente adsorvidos por causa de efeitos competitivos com outros orgânicos. Com relação ao segundo grupo testado, foi observado que as concentrações dos poluentes diminuíram devido a um aumento da vazão do rio, ou seja, o efeito da diluição mascarou o resultado de atuação dos filtros. Os filtros que apresentaram melhor desempenho foram os F2 e F5, ambos de origem betuminosa. No entanto, o F2 mostrou uma melhor capacidade para tratamento de água com respeito a poluentes orgânicos.

Outro experimento para análise de remoção de perturbadores endócrinos, mas agora, com diferentes carvões ativados em pó (CAPs), foi conduzido por Yoon *et al.* (2003). O objetivo foi avaliar a adsorção de três compostos perturbadores endócrinos: bisfenol A; 17 $\beta$ -estradiol e 17 $\alpha$ -etinilestradiol, utilizando amostras de águas superficiais coletadas em dois rios norte americanos (*Salt River* e *Huron River*) e de uma amostra de água deionizada, utilizada como padrão de referência.

Todas as amostras foram dosadas de forma a apresentarem a mesma concentração inicial da mistura dos perturbadores endócrinos em questão, no valor de 100nM, e também foram escolhidas seis marcas diferentes de carvões vegetais em pó para serem testadas. Os carvões foram hidratados em água deionizada por 24horas e adicionados na forma de suspensão às amostras dos dois rios em questão e à amostra de água deionizada. Cada carvão foi testado duas vezes para cada amostra, nas concentrações de 5 e 15mg/L,

considerando um tempo de contato de 4 horas. Quanto às detecções, estas foram feitas com uso da cromatografia líquida com detector de fluorescência.

Tabela 3.12 – Características dos carvões utilizados nos dois grupos de ensaios realizados por Paune *et al.* (1998).

<b>CAG</b>	<b>Características</b>
<b>1° Grupo de filtros</b>	F1, F2, F3 e F4
F1	Carvão betuminoso Área de superfície BET: 1000m <sup>2</sup> /g Número de iodo: 950mg/g.min Número de azul de metileno: 230mg/g.min Tamanho da malha: 8 x 30 (2,36mm x 0,59mm) Distribuição dos poros: > 2,36mm, Max. 15%; < 0,60mm, Max. 4%.
F2	Carvão betuminoso Área de superfície BET: 1100m <sup>2</sup> /g Número de iodo: 1050mg/g.min Número de azul de metileno: 260mg/g.min Tamanho da malha: 12 x 40 (1,65mm x 0,42mm) Distribuição dos poros: > 1,70mm, Max. 5%; < 0,425mm, Max. 4%.
F3	Carvão ativado extrudado Volume total de poros: 1,0cm <sup>3</sup> /g Número de iodo: 1000mg/g.min Distribuição dos poros: não informada.
F4	Carvão betuminoso Área de superfície BET: 1000 - 1100m <sup>2</sup> /g Número de iodo: 1020mg/g.min Tamanho da malha: 12 x 40 (1,65mm x 0,42mm) Distribuição dos poros: > 1,68mm, Max. 5%; < 0,425mm, Max. 4%.
<b>2° Grupo filtros</b>	F1, F5, F6 e F7
F1	F1 (mantido do 1° grupo)
F5	F1 novo
F6	Carvão vegetal (casca de coco) Área de superfície BET: 1100m <sup>2</sup> /g Número de iodo: 1000mg/g.min Tamanho da malha: 14 x 30 (1,40mm x 0,59mm) Distribuição dos poros: não informada.
F7	Carvão betuminoso Volume total de poros: 0,8cm <sup>3</sup> /g Número de iodo: 1000mg/g.min Tamanho da malha: 10 x 20 (2,00mm x 0,83mm) Distribuição dos poros: > 2,00mm, Max. 5%; < 0,85mm, Max. 4%.

Os resultados dos experimentos mostraram que os seis CAPs analisados foram capazes de remover todos os compostos em estudo, com percentagens de remoção variando de 31 a > 99%, sendo essa diferença na remoção decorrente do tipo e dosagem do carvão e das condições de qualidade da água. As menores remoções foram observadas nas amostras do rio *Huron*, pois estas apresentavam maiores concentrações de carbono orgânico dissolvido e de matéria orgânica hidrofóbica. A intervenção da matéria orgânica no resultado ocorre porque esta bloqueia os poros do carvão, reduzindo a área superficial disponível para adsorção de compostos orgânicos, além de competir com os compostos específicos.

A ordem decrescente de remoção observada para as substâncias em estudo foi de  $17\beta$ -estradiol (3,1 - 4,0) >  $17\alpha$ -etinilestradiol (3,7 - 3,9) > bisfenol A (3,3) e correspondeu aos valores decrescentes do coeficiente de partição octanol/água de cada perturbador endócrino, apresentados entre parênteses.

Nesse trabalho também foram feitos experimentos sobre cinética e dose-resposta com as duas marcas que apresentaram melhores performances de remoção. Foram calculadas, para cada um dos dois carvões, as isotermas de Freundlich com relação à remoção de cada um dos três perturbadores endócrinos nos tempos de contato de 1 e 4 horas. Os resultados constataram uma maior adsorção do  $17\beta$ -estradiol (E2) quando comparada ao  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) e ao bisfenol A (BPA). Analisando os valores de K, apresentados na Tabela 3.13, constatou-se que a quantidade adsorvida de perturbadores endócrinos foi, em geral, menor para as amostras do rio *Huron*, seguidas do rio *Salt* e por último das amostras de água deionizada, sendo esse resultado mais uma constatação da influência da matéria orgânica no fenômeno da adsorção.

Choi *et al.* (2005) analisaram a remoção do amitrol, nonilfenol e bisfenol A porque esses perturbadores endócrinos são encontrados em altas concentrações na Coreia. Para os ensaios foram preparadas previamente soluções padrões contendo os perturbadores endócrinos. No caso do bisfenol A e do nonilfenol, por se tratarem de compostos menos solúveis, foram primeiramente dissolvidos em metanol e, posteriormente, diluídos em água destilada. Já para o amitrol, por ser muito solúvel, foi diretamente dissolvido em água destilada sem a necessidade de solvente. Essas soluções padrões foram misturadas a amostras retiradas do efluente de uma estação de tratamento de água localizada na Coreia.

A amostra resultante da mistura das soluções padrões com o efluente tratado da estação apresentou concentrações finais de 200µg/L de amitrol e de bisfenol A, e de 500µg/L de nonilfenol.

Tabela 3.13 – Resumo dos valores de K obtidos nos experimentos sobre cinética e dose-resposta de Yoon *et al.* (2003 - modificado)

Marcas dos carvões		Norit 20B		AC800	
Tempo de ensaio		1h	4h	1h	4h
Compostos	Origem da amostra	K (g/g)(L/g) <sup>1/n</sup>			
E2	Água Deionizada	Sem dados	Sem dados	Sem dados	Sem dados
	Rio Huron	6,16	12,3	2,91	4,12
	Rio Salt	5,36	10,9	4,80	8,11
EE2	Água Deionizada	Sem dados	Sem dados	4,03	4,78
	Rio Huron	1,61	3,10	1,76	2,73
	Rio Salt	3,83	5,34	2,75	3,16
BPA	Água Deionizada	Sem dados	Sem dados	2,87	4,60
	Rio Huron	1,56	2,85	1,55	1,66
	Rio Salt	2,62	4,48	1,86	2,32

De acordo Choi *et al.* (2005), essa solução resultante foi destinada a alimentação de um sistema com 7 colunas distintas de CAG com uma vazão de 2mL/min e um tempo de contato de leito vazio de 15 minutos. As colunas eram preenchidas com CAG de três diferentes tipos de matérias-primas: madeira (2 colunas); casca de coco (2 colunas) e hulha (3 colunas), com volume de 30cm<sup>3</sup> cada. Para a detecção dos compostos foi utilizado o método de cromatografia líquida acoplada a dupla espectrometria de massa (LC-MS-MS).

O estudo concluiu que a adsorção por CAG é mais efetiva para remoção de perturbadores endócrinos com pouca solubilidade em água, ou seja, para aqueles que possuem alto valor de coeficiente de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ), conclusão esta similar à de Yoon *et al.* (2003). Assim, o nonilfenol foi mais efetivamente removido do que o bisfenol A, embora ambos os compostos tenham sido adsorvidos em todos os carvões estudados. Já com relação ao amitrol, como se trata de um composto muito solúvel (com baixo  $K_{ow}$ ), a remoção por adsorção foi pouco efetiva. Constatou-se que uma porção considerável do que entra de amitrol nas colunas de CAG passa direto pelo leito (9 a 87%). Observou-se também que os carvões originados da hulha foram os mais efetivos dos três tipos, sendo o maior volume de poros destes um fator relevante para esse melhor desempenho. Outro

ponto verificado foi que a área superficial e o volume de poros reduziram com o tempo de operação e a extensão dessa redução foi diferente dependendo do tipo de carvão.

Nesse trabalho os autores estimaram a degradação biológica dos perturbadores endócrinos por meio da equação proposta originalmente por Sont-heimer e Hubele (1987) e Speitel *et al.* (1989). Nessa análise constataram que o amitrol foi o composto mais removido por degradação biológica, apresentando remoções de 0 a 90%, dependendo do tipo de carvão. Choi *et al.* (2005) também verificaram durante todo o estudo que tanto o volume de poros como as interações elétricas decorrentes das cargas na superfície e o pH são importantes para o mecanismo de adsorção.

Zhang e Zhou (2005) estudaram a remoção dos perturbadores endócrinos estrona e 17 $\beta$ -estradiol por: CAG; adsorvente preparado a partir de resíduos industriais; resina de troca-iônica; quitina e quitosana. Optou-se pela remoção desses perturbadores endócrinos, pois além de causarem grande potencial de risco aos seres vivos, estes resistem aos processos de tratamento de esgoto e podem ser reativados por desconjugação durante a passagem pela ETE.

Nesse estudo foram realizados experimentos de cinética e equilíbrio de adsorção com amostras de água deionizada misturadas a soluções padrões contendo concentrações de 17,8 $\mu$ g/L de estrona e 24,8 $\mu$ g/L de 17 $\beta$ -estradiol. Com relação aos experimentos de cinética de adsorção com CAG, também foram utilizadas amostras provenientes do efluente da ETE de *Horsham* no Reino Unido, misturadas as soluções padrões.

Na Tabela 3.14 são apresentados os resultados dos ensaios de equilíbrio de adsorção com amostras de água deionizada. Os autores constaram que as constantes de adsorção máximas obtidas para o CAG apresentaram valores de alta magnitude. Isto sugeriu que as ligações promovidas na adsorção de ambos os perturbadores endócrinos são bastante fortes quando comparadas com partículas orgânicas naturais encontradas em ambientes aquáticos. Já com relação ao adsorvente de resíduos industriais, verificou-se que, além de ligações fortes, a adsorção é capaz de atingir o equilíbrio em tempos menores. Como o adsorvente de resíduos industriais possui partículas menores e uma concentração adsorvente (0,2g/L) menor quando comparada ao CAG (2g/L), mais rapidamente o equilíbrio é atingido.

Tabela 3.14 – Valores de K e dos tempos de equilíbrio de adsorção para os diferentes adsorventes estudados por Zhang e Zhou (2005 - modificado)

Métodos Estudados	Valores máximos obtidos para a constante K (mL/g)		Tempo de equilíbrio de adsorção	
	Estrona	17 $\beta$ -estradiol	Estrona	17 $\beta$ -estradiol
Resíduos industriais	87.500	116 x 10 <sup>3</sup>	2 h	7 h
CAG	9.290	122 x 10 <sup>2</sup>	25 h	125 h
Resina de troca iônica	2.560	-	71 h	-
Quitina	88	-	1 dia	-
Quitosana	23	-	2 dias	-

Assim, de acordo com Zhang e Zhou (2005), a possibilidade de conversão de resíduos em adsorventes trata-se de uma proposta vantajosa para o controle de poluição, pois é viável em termos potencias e econômicos. É importante ressaltar que para ambos os adsorventes, CAG e derivado de resíduos industriais, a constante de adsorção aumentou com o tempo.

Segundo os autores, as resinas de troca iônica avaliadas foram capazes de remover compostos orgânicos e inorgânicos; e embora tenham apresentado um tempo de equilíbrio de 71 horas, estas em apenas uma hora de ensaio atingiram 61% do valor máximo de K. Já com relação à quitina, que é um polissacarídeo presente em animais marinhos, insetos e fungos, e a quitosana, que é um polímero hidrófilo catiônico formado pela desacetilação da quitina, as remoções não foram significativas.

Nos experimentos de cinética de adsorção com CAG, ao comparar os resultados das amostras de água deionizada com amostras de efluentes de ETE, os autores observaram que os coeficientes de adsorção apresentaram valores aproximados para ambos os perturbadores endócrinos. Esse fato comprovou que, independente do tipo de amostra, a estrona e o 17 $\beta$ -estradiol foram igualmente removidos. No entanto, os valores dos coeficientes de adsorção para as amostras provenientes da ETE foram levemente inferiores as de água deionizada devido à presença de substâncias competidoras que reduzem o efeito de adsorção na superfície do CAG.

Os resultados dos experimentos de equilíbrio de adsorção indicaram que a concentração adsorvente de colóides e a presença de surfactantes e ácidos húmicos são capazes de diminuir a capacidade adsortiva, pois melhoram a solubilidade dos perturbadores endócrinos na água ao criarem complexos com os grupos funcionais dos mesmos, fato que

já foi verificado em outros estudos. Há também o efeito causado pela salinidade, que é capaz de reduzir a solubilidade aquosa do 17 $\beta$ -estradiol e os efeitos causados pelo pH ao influenciar na carga superficial do adsorvente bem como no potencial de ionização dos químicos.

Fukuhara *et al.* (2006) também realizaram estudos sobre a adsorção do 17 $\beta$ -estradiol e da estrona em carvões ativados (CAs). Os autores se propuseram a estudar como as propriedades de adsorção estão relacionadas com as propriedades físicas dos carvões e também analisaram a presença de substâncias interferentes.

Fukuhara *et al.* (2006) investigaram quatro tipos diferentes de amostras. A primeira foi uma amostra de água deionizada com concentração de estrona e 17 $\beta$ -estradiol em que foram avaliados 8 diferentes CAs de origem vegetal e de uso geral. A segunda, uma amostra proveniente de filtração em areia com concentração de 17 $\beta$ -estradiol em que foram testados 5 CAs vegetais pré-utilizados em outro tratamento de água. Por último, amostras de água de rio e de efluente secundário, ambas retiradas nas proximidades de uma área urbana com casas e indústrias, estas foram utilizadas em experimento com 3 CAs vegetais de uso comercial.

Para a detecção das amostras foram utilizados kits ELISA, para 17 $\beta$ -estradiol e estrona/17 $\beta$ -estradiol/estriol, cujos intervalos de detecção variaram, respectivamente, de 0,05 a 1 e 0,1 a 3 $\mu$ g/L. Deve-se ressaltar que para os casos em que as amostras não puderam ser analisadas diretamente foram promovidas extrações em fase-sólida utilizando cartuchos C-18. Outro ponto importante é que durante a preparação das amostras de água deionizada foi utilizado metanol como solvente inicial dos perturbadores endócrinos e depois promovidas re-diluições em água.

A adição de metanol as amostras não é um fator preocupante, pois de acordo com Giusti *et al.*, (1974 *apud* Fukuhara *et al.*, 2006) o metanol é pouco adsorvido pelo CA e, portanto, não causa interferências significativas na adsorção. Giusti *et al.* (1974 *apud* Fukuhara *et al.*, 2006) constataram que essa adsorção é da ordem de 0,007g-metanol/g-carvão ativado, em uma concentração de equilíbrio de 964mg/L.

Os valores obtidos com os ensaios foram utilizados para traçar as isotermas de adsorção dos carvões segundo o modelo de Freundlich. No caso da análise dos 8 CAs em amostras de água deionizada contendo estrona e 17 $\beta$ -estradiol, a quantidade adsorvida, em concentração de equilíbrio de 1 $\mu$ g/L, foi de 25,6 a 73,5mg/g para a estrona e 21,3 a 67,6mg/g para o 17 $\beta$ -estradiol, sendo a estrona mais adsorvida devido a sua maior hidrofobicidade.

No caso dos experimentos com carvões pré-utilizados e amostras de água filtrada contendo 17 $\beta$ -estradiol, a quantidade adsorvida, para concentração inicial de 1 $\mu$ g/L, foi de 3,5 a 8,2mg/g de 17 $\beta$ -estradiol. Esse decréscimo na capacidade adsorviva observado nas amostras de água filtrada em comparação às amostras de água deionizada pode ser justificado pela qualidade da água, condições de operação da filtração e por propriedades desconhecidas dos carvões. Já para as amostras de rio e do efluente secundário a quantidade adsorvida de 17 $\beta$ -estradiol foi de 0,14 a 0,20 e 0,28 a 1 $\mu$ g/g, para concentração inicial de 1ng/L, respectivamente. Esses valores baixos devem-se a presença de substâncias competidoras.

Um ponto importante verificado pelos autores foi que a adsorção de estrona e de 17 $\beta$ -estradiol apresenta um comportamento linear com relação a área superficial específica, ou seja, quanto maior a área superficial do carvão maior foi a adsorção dos perturbadores endócrinos aos carvões. Já com relação ao diâmetro dos poros, verificou-se que a adsorção foi menor para carvões com diâmetro de poros maiores.

Da mesma forma que nos demais trabalhos citados nesse item, pretende-se também nessa pesquisa, como já foi mencionado ao longo do texto, realizar estudos de adsorção de perturbadores (17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol) em carvões ativados em pó. No próximo capítulo será apresentada a metodologia adotada e amplamente justificada para a execução de tais experimentos, além das características dos carvões nacionais a serem estudados.

## **4 - METODOLOGIA**

### **4.1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

O presente trabalho, de caráter experimental, foi desenvolvido em escala de bancada. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análise de Águas – LAA do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília (UnB).

As etapas para desenvolvimento do trabalho consistiram em:

- 1º) Escolha dos tipos de carvão ativado em pó (CAP) a serem avaliados;
- 2º) Determinação da capacidade adsortiva dos diferentes tipos de CAPs selecionados na remoção dos perturbadores endócrinos  $17\beta$ -estradiol e p-nonilfenol, em separado;

Essas etapas são descritas de forma detalhada nos itens que se seguem.

### **4.2 – SELEÇÃO DOS TIPOS DE CARVÃO ATIVADO EM PÓ**

Os tipos de carvão ativado em pó utilizados nos experimentos foram os mesmos estudados e caracterizados por outras pesquisas já desenvolvidas no Programa de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos da Universidade de Brasília. Assim, com base nos trabalhos de Brasil (2004) e Silva (2005a) foram selecionados quatro carvões de procedência nacional.

Os fabricantes desses carvões, juntamente com as amostras de CAP, forneceram algumas características, como por exemplo, a granulometria e número de iodo. Entretanto, nem todas as informações eram comuns a todos os carvões, o que dificulta a comparação entre eles. Para sanar esse problema, Silva (2005a) realizou alguns ensaios de caracterização dos CAPs cujos resultados são utilizados nesse trabalho. Na Tabela 4.1 são apresentados os fabricantes, origens e as nomenclaturas que foram adotadas para os diferentes carvões e nas Tabelas A.1, A.2 e A.3, disponíveis no apêndice A, têm-se as características mais relevantes desses carvões

Tabela 4.1 – Nomenclaturas adotadas para os tipos de carvão ativado em pó nacionais utilizados nesse trabalho.

<b>Tipo (Origem)</b>	Casca de Coco (vegetal)	Madeira (vegetal)	Madeira (vegetal)	Osso (animal)
<b>Nomenclatura adotada</b>	COCO	MAD - 1	MAD - 2	OSSO

### 4.3 – DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs

#### 4.3.1 – Definição da configuração dos experimentos

A determinação da capacidade adsortiva dos carvões foi realizada segundo as recomendações da norma D3860-98 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM, 2000), que se fundamenta na determinação da curva de adsorção de acordo com o modelo de Freundlich. No entanto, quando necessário, foram feitas algumas considerações às recomendações da norma, para melhor atender os objetivos do trabalho em questão.

Para a determinação das isotermas é necessário que a reação de adsorção seja promovida à temperatura constante. Assim, optou-se em realizar os experimentos em uma sala climatizada em que os níveis de oscilação da temperatura fossem os menores possíveis. Para monitorar a temperatura na sala foi utilizado um termômetro digital mantido permanentemente no interior desta. Além disso, foi feito o monitoramento da temperatura da amostra durante os experimentos, dispondo-se de um termômetro de bulbo de mercúrio dentro de um frasco com volume similar ao da amostra em ensaio. Na Figura 4.1, tem-se a ilustração dos dois tipos de monitoramento de temperatura.

Os experimentos foram executados utilizando o dispositivo de agitação mecânica para teste de jarros e 6 béqueres de vidro, como apresentado na Figura 4.2. É importante ressaltar que não só os béqueres, mas como todo o material utilizado durante os ensaios foi de vidro, evitando-se que possíveis adsorções que, normalmente, acontecem em materiais plásticos, ocorressem nesses ensaios.



(a) Termômetro digital



(b) Termômetro de bulbo

Figura 4.1 – Tipos de termômetros utilizados no monitoramento de temperatura.



Figura 4.2 – Dispositivo de agitação para teste de jarros.

Como já mencionado na revisão bibliográfica, para a determinação das isotermas de adsorção, é necessário que o tempo de contato do carvão com o adsorvato seja suficiente para alcançar o equilíbrio da reação. A reação de adsorção é reversível, para a maior parte dos compostos, e sua condição de equilíbrio ocorrerá quando o carvão atingir a saturação, ou seja, quando a taxa de adsorção for igual à de dessorção.

De acordo com a norma americana D3860-98 da ASTM (2000), um tempo de contato de duas horas é normalmente necessário para atingir o equilíbrio da adsorção, embora a própria norma recomende que se possível sejam realizados estudos para verificar se esse tempo é realmente suficiente. Já segundo Masschelein (1992), esse tempo pode variar de 30 minutos a 1 hora, dependendo do tipo de carvão. Quanto a Brady (1998), 15 minutos já é tempo necessário para a remoção da maioria dos compostos causadores de odor e sabor.

Em contrapartida, nos estudos de Brasil (2004), verificou-se que o tempo de contato de 2 horas não foi suficiente para que os carvões nacionais, os mesmos estudados nesse trabalho, fossem capazes de atingir o equilíbrio da adsorção para remoção de microcistina

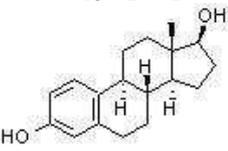
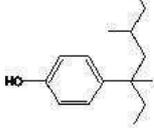
em águas de abastecimento público. Posteriormente, Silva (2005a) também teve dificuldades para atingir o equilíbrio de adsorção mesmo dispondo de um tempo de contato superior a duas horas, no caso, 12 horas. Em seus estudos, Silva (2005a) propôs a remoção de saxitoxinas com os mesmos carvões analisados por Brasil (2004). Assim, a partir desses estudos, constata-se a influência das características do adsorvato na obtenção do equilíbrio de adsorção.

Dessa forma, para os experimentos propostos nesse trabalho, adotou-se por um tempo de contato de quatro horas, que foi escolhido de acordo com os estudos propostos por Yoon *et al.* (2003). Nesses estudos, Yoon e colaboradores analisaram a remoção dos perturbadores endócrinos bisfenol-A, 17 $\beta$ -estradiol e 17 $\alpha$ -etinilestradiol por meio de seis diferentes CAPs de procedência americana e origem vegetal, ou seja, uma situação com características semelhantes às propostas por esse trabalho.

Como já citado no decorrer do trabalho, os perturbadores endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol foram escolhidos, respectivamente, pelo potencial de risco e pelo elevado valor encontrado das concentrações em esgotos e mananciais. Para serem realizados os ensaios, foram utilizadas substâncias purificadas na forma em pó (*Sigma-Aldrich Chemical*). Adotou-se, para as amostras a serem ensaiadas, as concentrações de 1 $\mu$ g/L para o 17 $\beta$ -estradiol e 100 $\mu$ g/L para o p-nonilfenol. Na Tabela 4.2 são descritas mais algumas características dos perturbadores endócrinos utilizados nesse trabalho.

As concentrações adotadas para os perturbadores endócrinos foram bem superiores aos valores referenciados na literatura. Por exemplo, de acordo com os estudos de Ternes *et al.* (1999), realizados com afluentes de ETE, localizada no Brasil, detectou-se concentrações de 0,021 $\mu$ g/L do 17 $\beta$ -estradiol. Já para o p-nonilfenol, tem-se os estudos de Azevedo *et al.* (2001), que obtiveram em amostras de águas subterrâneas portuguesas concentrações no intervalo de 0,2 a 30,0 $\mu$ g/L dos isômeros de 4-nonilfenol. Além desses exemplos, há também os já citados nas Tabelas 3.3 e 3.4. Deve-se ressaltar que concentrações bem superiores não atrapalham os objetivos do trabalho, pois, nessa etapa, pretende-se traçar as isotermas dos carvões e obter a capacidade adsortiva máxima destes em relação à remoção de cada perturbador endócrino em separado, sem a presença de interferentes, já que foram utilizadas amostras preparadas com água deionizada.

Tabela 4.2 – Características do 17 $\beta$ -estradiol e do p-nonilfenol (Choi *et al.*, 2005 e Yoon *et al.*, 2003 - modificado).

Perturbador endócrino	17 $\beta$ -estradiol	p-nonilfenol
<b>Fórmula</b>	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> 	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O 
<b>Fonte</b>	Mais importante hormônio sexual feminino.	Detergentes, combustível, aditivo de óleo, estabilizante plástico, etc.
<b>Peso molecular (g/mol)</b>	272,38	220,35
<b>Número CAS</b>	50-28-2	104-40-5
<b>Log k<sub>ow</sub> (*)</b>	3,30	5,76
<b>Solubilidade em massa (g/L)</b>	Levemente Solúvel pH: 1 a 8 temp: 25°C 0,0030 pH: 9 temp: 25°C 0,0033 pH: 10 temp: 25°C 0,0046	Levemente Solúvel pH: 1 a 7 temp: 25°C 0,019 pH: 8 temp: 25°C 0,020 pH: 9 temp: 25°C 0,021 pH: 10 temp: 25°C 0,033
<b>Solubilidade molar (mol/L)</b>	Levemente Solúvel pH: 1 a 8 temp: 25°C 1,1x10 <sup>-5</sup> pH: 9 temp: 25°C 1,2x10 <sup>-5</sup> pH: 10 temp: 25°C 1,7x10 <sup>-5</sup>	Levemente Solúvel pH: 1 a 7 temp: 25°C 8,8x10 <sup>-5</sup> pH: 8 temp: 25°C 8,9x10 <sup>-5</sup> pH: 9 temp: 25°C 9,5x10 <sup>-5</sup> pH: 10 temp: 25°C 1,5x10 <sup>-4</sup>
<b>Volume molar (cm<sup>3</sup>/mol)</b>	232,6 ± 3,0 temp: 20°C Press: 760 Torr	236,2 ± 3,0 temp: 20°C Press: 760 Torr
<b>pK<sub>a</sub> (constante de acidez)</b>	10,27 ± 0,60 temp: 25°C mais ácido	10,14 ± 0,15 temp: 25°C mais ácido
<b>Pressão de vapor</b>	9,82x10 <sup>-9</sup> Torr temp: 25°C	8,53x10 <sup>-5</sup> Torr temp: 25°C

(\*) Coeficiente de partição octanol/água: é a relação entre a concentração de uma substância química em octanol (solvente orgânico) pela concentração em água, em condições de equilíbrio e temperatura constante. Este parâmetro é usado para determinar o destino de substâncias químicas no ambiente, como, por exemplo, prever a extensão que um contaminante vai bio-acumular em peixes. Ou seja, quanto maior o valor do coeficiente maior será sua acumulação. Isto justifica o fato de haver mais relatos da presença do nonilfenol em peixes. O coeficiente de partição de octanol-água também tem sido correlacionado à solubilidade na água, sendo inversamente proporcional a esta.

A concentração proposta para o 17 $\beta$ -estradiol foi preparada a partir de uma solução estoque em metanol com uma concentração de 1000 $\mu$ g/mL. Essa solução estoque foi

preparada pesando-se 0,0100g de 17 $\beta$ -estradiol, em uma balança analítica, e depois dissolvendo esse material em 10mL de metanol. Em seguida, foram promovidas diluições com água deionizada até alcançar uma concentração de 1 $\mu$ g/L no volume total estimado para os ensaios com cada carvão. Embora a substância 17 $\beta$ -estradiol tenha baixa massa solúvel em água deionizada (0,003g/L), esta apresenta mais de um grupo funcional polar em sua estrutura química. Portanto, sua diluição é possível em solventes polares como a água e o metanol, sendo o metanol mais vantajoso para promover a dissolução inicial, devido à semelhança de grupos funcionais de sua estrutura química com a do 17 $\beta$ -estradiol.

A opção por uma solução estoque em metanol foi devida não somente a facilidade de diluição, mas também pela melhor conservação que pode ser conseguida quando comparada com a conservação em água. Além é claro, das referências de procedimentos similares como os executados por Yoon *et al.* (2003) e Fukuhara *et al.* (2006) e ao fato do metanol ser pouco adsorvido pelo carvão ativado, como já comentado na revisão bibliográfica desse trabalho. Deve-se enfatizar que outros solventes polares, como o etanol, também poderiam ser utilizados, sendo este mais vantajoso por ser menos tóxico quando comparado ao metanol. No entanto, ainda assim, por uma questão de compatibilidade, optou-se pelo metanol, já que este é o mesmo solvente utilizado na preparação simplificada dos ensaios ELISA.

Já no caso do p-nonilfenol, a molécula apresenta uma estrutura química mais complexa, pois, é constituída de uma parte hidrófila que atrai as moléculas de água e uma parte hidrófoba que dificulta essa solubilidade. Como a parte hidrófoba forma uma cadeia bem maior, essa substância apresenta uma grande tendência a apolaridade, e portanto uma baixa massa solúvel em água deionizada, na ordem de 0,019g/L. Fato este que também pode ser constatado pelo maior valor do coeficiente de partição octanol/água quando comparado ao 17 $\beta$ -estradiol. Assim, devido a essa particularidade da molécula, existe uma grande dificuldade em se preparar a água de estudo e, portanto, foram propostas diferentes tentativas para promover a solubilização do p-nonilfenol, como, por exemplo, promovendo a solubilização somente em água deionizada; somente em metanol ou combinando dois solventes (metanol e DMSO). Todas as tentativas realizadas serão mais bem discutidas no capítulo cinco desse mesmo trabalho.

De acordo com a norma D3860-98 da ASTM (2000), o volume da amostra e as dosagens de CAP a serem utilizados nos experimentos de determinação da capacidade adsortiva dependem da concentração do adsorvato (Tabela 4.3). Assim, na Tabela 4.3 observa-se que quanto menor a concentração de adsorvato maior é o volume da amostra sugerido. Como a concentração proposta, nesse trabalho, para os adsorvatos (perturbadores endócrinos) é bem inferior ao menor valor de adsorvato sugerido pela norma, optou-se por um volume 1,0 litro, pois, este é superior ao volume recomendado.

Tabela 4.3 – Volumes para amostra e massas de carvões indicados para determinados níveis de concentração de adsorvato (D3860-98 da ASTM, 2000 – modificado).

<b>Concentração de adsorvato (mg/L)</b>	<b>Volume da amostra (mL)</b>	<b>Massas de carvão indicadas</b>
≤ 10	500	1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 25,0 e 50,0 mg.
> 10; 100	100	0,01; 0,02; 0,04; 0,10; 0,20; 0,40; 1,0; 2,0 e 4,0 g.
> 100	100	0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 g

Já com relação às dosagens de CAP, optou-se por valores na faixa de 3 a 20mg/L. Esse intervalo foi adotado com base nos estudos desenvolvidos por Yoon *et al.* (2003). Yoon e colaboradores verificaram que na faixa de dosagem de 1 a 50mg/L alguns CAPs de origem vegetal, produzidos nos EUA, mostraram-se eficientes na remoção dos perturbadores endócrinos 17β-estradiol, bisfenol-A e 17α-ethinilestradiol, sendo que para o intervalo de dosagens inferiores a 10mg/L essas remoções foram maiores.

Assim, foram adotadas as massas diferenciadas de CAP: 3, 5, 10, 15, 20mg/L com o objetivo de trabalhar dentro do intervalo de maior remoção. É importante lembrar que cada carvão foi analisado em duplicata, sendo cada ensaio composto de seis jarros: cinco destes para aplicação dos carvões e um jarro de controle em que se objetiva detectar a concentração inicial, realmente, presente na amostra. Cabe ressaltar que os estudos de Yoon *et al.* (2003), da mesma forma que nesse trabalho, foram compatíveis com a D3860-98 da ASTM (2000).

### 4.3.2 – Desenvolvimento dos experimentos

O ensaio de capacidade adsorptiva foi dividido em três etapas. A primeira consistia na preparação do carvão, a segunda no ensaio propriamente dito e a terceira no processo de detecção dos perturbadores endócrinos.

Na primeira fase eram feitas as pesagens dos CAPs correspondentes às dosagens a serem adicionadas. Cada massa de CAP era colocada em um pequeno béquer com 20mL de água deionizada, já que o carvão ativado deve ser adicionado ao ensaio sob a forma de suspensão. Os frascos contendo essas suspensões foram, primeiramente, colocados em um dessecador acoplado a uma bomba a vácuo (Figura 4.3) e deixados sob condições de subpressão por pelo menos 10 horas antes de serem adicionados às amostras durante os ensaios.

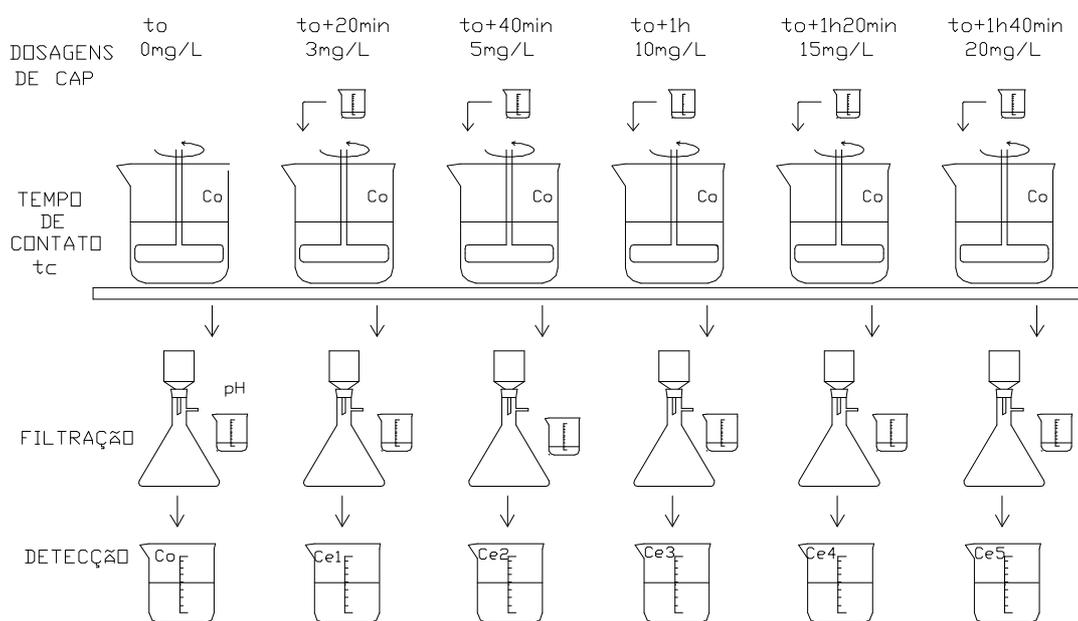


Figura 4.3 – Dessecador acoplado a bomba a vácuo

O carvão foi preparado previamente dessa maneira, para que fosse promovida a sua hidratação e a retirada do ar dos seus interstícios, colocando a superfície dos poros em contato com o meio líquido e com isso favorecendo a cinética da adsorção. Cabe ressaltar que eram sempre realizadas pesagens suficientes para dois ensaios, pois as duas baterias propostas para cada um dos carvões eram ambas ensaiadas no dia seguinte às pesagens.

Na segunda etapa, que consistia no ensaio propriamente dito, as amostras contendo o perturbador endócrino eram distribuídas nos seis jarros e iniciava-se a adição do CAP. A

Figura 4.4 apresenta um esquema da realização do experimento. As amostras contendo o CAP eram agitadas a 100rpm para manter o carvão em suspensão durante todo o tempo de contato de 4 horas. Ao colocar as amostras no equipamento eram registradas as leituras de pH e de temperatura da sala e do líquido. Depois de decorridas 2 horas de ensaio eram realizadas novas leituras de temperatura. Ao final das 4 horas, novamente, novas leituras de pH e temperatura eram realizadas e uma fração da amostra era coletada e submetida a filtração em membrana de 0,22 $\mu$ m, com o objetivo de remover o carvão presente na amostra. A Figura 4.5 apresenta o equipamento para filtração a vácuo utilizado para filtragem das amostras após os ensaios.



$C_0$ : concentração inicial do adsorvato;

$C_{ei}$ : concentração residual do adsorvato ( $i = 1, 2, \dots, 5$ );

$t_0$ : tempo inicial para colocar a amostra no agitador.

Figura 4.4 – Esquema do procedimento utilizado nos experimentos de determinação da capacidade adsorptiva dos CAPs.

É importante comentar que as concentrações de carvão em suspensão eram adicionadas em intervalos regulares, de 20 minutos, em cada um dos recipientes (Figura 4.4). Com esse procedimento garantia-se que o tempo despendido na filtração de cada amostra após a sua retirada do equipamento de agitação não ia interferir no tempo de contato e no momento de retirada da amostra seguinte.

É importante também salientar que as leituras de pH e temperatura realizadas ao longo dos experimentos são essenciais para verificar possíveis oscilações nesses parâmetros que possam causar interferências na adsorção. As medidas de pH foram realizadas com o medidor Thermo Orion modelo 210 (termômetro e potenciômetro).



Figura 4.5 – Filtração a vácuo

Em seguida, tem-se a terceira etapa do experimento em que a fração filtrada é submetida à detecção dos residuais do perturbador endócrino pelo método ELISA. Essa terceira etapa sempre era realizada no dia seguinte aos ensaios de capacidade adsorptiva e as amostras, para que não sofressem degradações, eram conservadas na geladeira a 4°C durante aproximadamente 15 horas.

É importante esclarecer a opção pela conservação em geladeira. Essa forma de conservação foi adotada com base nos estudos de Baronti *et al.* (2000) que constataram que o armazenamento de amostras com 1% de aldeído à 4°C não causam perdas significantes em estrogênios por 28 dias quando comparada a amostras não preservadas. Como para os primeiros ensaios com 17 $\beta$ -estradiol, a conservação apenas em geladeira aparentemente não causou degradação das amostras, foi suposto que não haveria a necessidade da adição de aldeído as mesmas, já que este poderia vir a causar alguma interferência na detecção. No entanto, é recomendável que em pesquisas futuras sejam feitos testes para comprovar se tal suposição é realmente correta.

Outra opção estudada por Baronti *et al.* (2000), que é mais vantajosa para situações onde há necessidade de extrações das amostras, é o uso do cartucho C18. Baronti e seus

colaboradores relataram que esse tipo de cartucho, além de promover excelente extração, é uma ótima forma de armazenagem. Pois, ao armazená-los a  $-18^{\circ}\text{C}$ , esses cartuchos preservam as amostras contendo estrogênios, sem nenhuma perda significativa, por 60 dias.

#### 4.3.3 – Quantificação dos perturbadores endócrinos em estudo

A detecção de ambos os perturbadores endócrinos estudados foi realizada utilizando o método de imunoenensaio ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Esse método foi adotado porque:

- Apresenta um limite de detecção adequado para o propósito do trabalho;
- Facilidade de execução;
- Possibilidade da análise de várias amostras ao mesmo tempo;
- Preparação simplificada das amostras e
- Autonomia no desenvolvimento dos experimentos, pois, são adquiridos kits comerciais cuja análise pôde ser realizada no próprio LAA, sem haver necessidade de equipamentos sofisticados ou dependência de equipamentos de outros laboratórios.

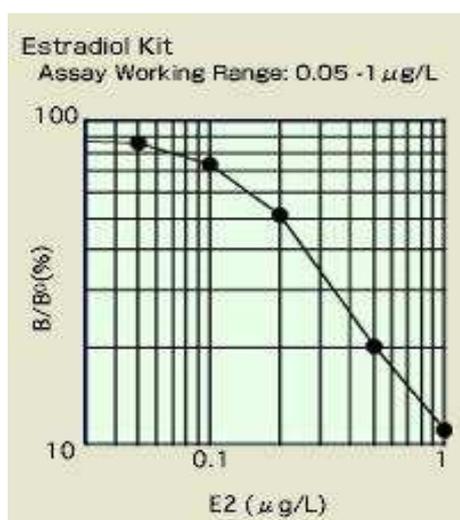
Nesse trabalho foram utilizados dois tipos de kit ELISA, sendo cada tipo relacionado à detecção de um perturbador endócrino específico ( $17\beta$ -estradiol e p-nonilfenol). Os kits são fabricados pela *Japan EnviroChemical* conhecido como “*Environmental Diagnosis*”. As principais características de ambos os kits são apresentadas na Tabela 4.4 e A.4 (apêndice A) e complementadas na Figura 4.6, com exemplos das curvas de calibração padrão de ambos.

O ensaio de detecção ELISA consiste na mistura de  $100\mu\text{L}$  da amostra com  $100\mu\text{L}$  da solução conjugada antígeno-enzima dentro de cada poço da placa não sensibilizada. Dessa mistura presente em cada poço se retira  $100\mu\text{L}$  e adiciona-se em cada poço de uma outra placa já sensibilizada com uma solução de anticorpos. Essa placa sensibilizada, então, deve ser incubada por 60 minutos em temperatura de  $18-25^{\circ}\text{C}$ . Durante esse período, os anticorpos presentes na placa são capazes de se ligar aos contaminantes (perturbadores

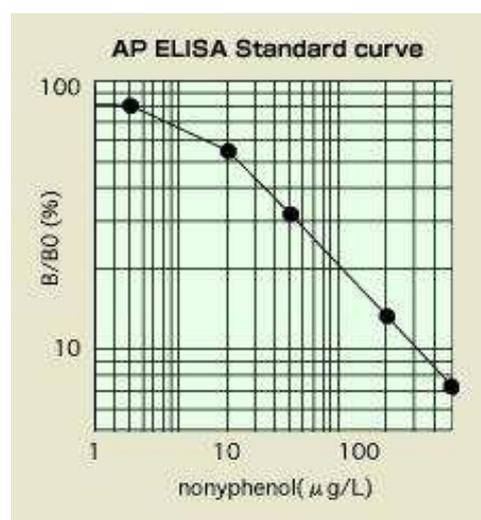
endócrinos) da amostra, enquanto os conjugados antígeno-enzima competem com os contaminantes pelos sítios de ligação ainda disponíveis nos anticorpos.

Tabela 4.4 – Principais características dos kits ELISA utilizados nesse trabalho.

Kit ELISA	Compostos alvos	Taxas limites para análise	Padrões fornecidos para a curva de calibração (µg/L)	Características similares em ambos os kits
17β-estradiol (E2)	17β-estradiol (E2)	0,05 a 1,00 µg/L	0,00 0,05 0,15 0,40 1,00	- Coeficiente de variação em sua maioria menor que 10%; - Tempo total de medida por volta de 2,5 horas; - Reatividade de 100% para o nonilfenol e 17β-estradiol;
Alquifenóis (AP)	Nonilfenol (NP) Octilfenol (OP)	5 a 500µg/L	0 50 200 1000 5000	- Pré-tratamento: filtração e preparação simplificada sugeridas pelo kit.



17β-Estradiol  
(limite de detecção 0,05 a 1,00µg/L)



p-nonilfenol  
(limite de detecção 5 a 500µg/L)

Figura 4.6 – Exemplos de curvas de calibração dos kits ELISA (Japan EnviroChemicals, 2005).

Em seguida, é promovida a “lavagem” da placa sensibilizada para retirar o líquido remanescente presente nos poços, não permitindo que este seja detectado e influencie na etapa seguinte. A solução de lavagem fornecida pelo kit é diluída em água deionizada e, depois, adicionada num volume de 300µL em cada poço da placa sensibilizada. Esse procedimento é repetido três vezes. Cabe aqui ressaltar que o momento da “lavagem” merece bastante atenção por parte de quem a executa, pois qualquer resíduo da solução de lavagem que restar dentro dos poços após essa etapa pode causar grandes interferências nas próximas reações promovidas e, portanto, nos resultados finais.

Após a lavagem, adiciona-se 100µL de substrato de cor (cromogene ou *color solution*) em cada poço para promover a coloração da mistura quando o substrato se ligar à enzima do conjugado. Nessa fase da detecção, a placa deve ser incubada por 30 minutos em temperatura de 18 a 25°C e, após esse período, deve ser adicionado em cada poço 100µL da solução de parada (*stop solution*) para cessar a ação da enzima que promove a cor. Para a ação dessa solução é necessário esperar mais 15 minutos de incubação e depois já é possível ser feita a leitura de intensidade de cor. Na Figura 4.7 é apresentada uma ilustração simplificada da seqüência de etapas do ensaio ELISA.

A intensidade da cor é quantificada pela medida da densidade ótica da mistura (absorbância). Para fazer essa medida, utilizou-se de uma leitora ELISA (Bio-Rad, modelo 550) e um filtro especial para leitura em comprimento de onda de 450nm. Na Figura 4.8, tem-se a ilustração da leitora ELISA utilizada nos ensaios.

Com o valor da densidade ótica é possível determinar a concentração do contaminante presente na amostra. Para isso deve-se traçar, para cada ensaio proposto, a curva de calibração padrão (Figura 4.6).

Essa curva relaciona de forma inversamente proporcional a concentração do contaminante e a densidade ótica, dentro do intervalo limite de análise proposto pelo kit. Para traçar a curva são necessários no mínimo 5 poços, ou seja, no mínimo um para cada padrão fornecido no kit (Tabela 4.4). O procedimento é similar ao já descrito para a detecção das amostras, só que nesse caso, no lugar da adição de 100µL da amostra utiliza-se um volume de 100µL do padrão fornecidos pelos kits.

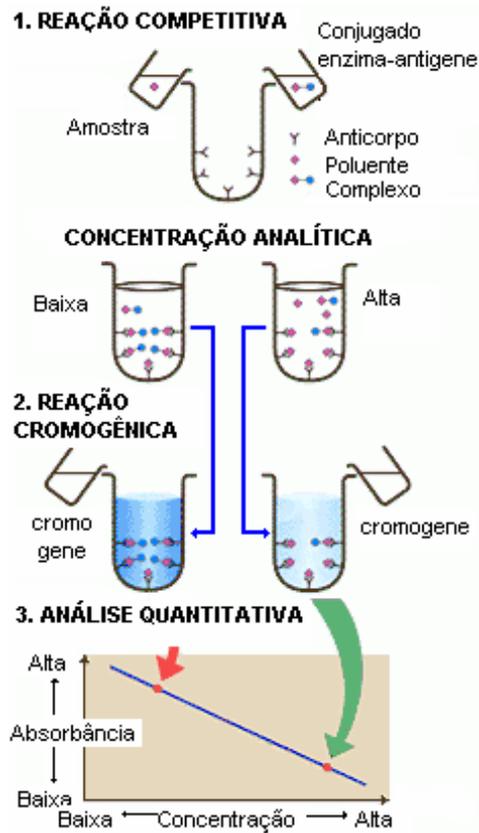


Figura 4.7 – Etapas do ensaio ELISA (Japan EnviroChemicals, 2005 - modificado).



Figura 4.8 – Leitora ELISA

Cada amostra analisada no ELISA deve ser feita no mínimo em duplicata com o intuito de fornecer mais segurança ao resultado obtido, pois mudanças de temperatura e falta de precisão ao pipetar as amostras podem gerar erros. Daí também a importância de se repetir à curva de calibração em todos os ensaios.

É importante ressaltar que algumas observações podem ser feitas a partir de uma análise visual das amostras durante o ensaio. Como por exemplo, caso a mistura apresente uma

coloração escura, significa que não há contaminante (perturbador endócrino) na amostra ou estes estão em pequenas quantidades, pois o conjugado antígeno-enzima ocupa todos ou a maior parte dos sítios de ligação disponíveis nos anticorpos. Já se houver a presença considerável de contaminantes (perturbadores endócrinos), estes ocupam grande parte dos sítios disponíveis nos anticorpos, deixando poucos sítios para serem ocupados pelo conjugado, o que resulta em uma coloração mais clara.

Outro ponto que deve ser enfatizado sobre o processo analítico é que as amostras submetidas à detecção ELISA devem passar anteriormente por certas etapas de preparação que são sugeridas nas instruções dos próprios kits. Assim, após a filtração da amostra é realizada a extração em fase sólida da mesma, com o objetivo de purificá-la e concentrar a substância de interesse analítico. No entanto, para situações em que a concentração residual do contaminante já está dentro dos limites de detecção dados pelos kits, não se faz necessário tal procedimento. Apenas deve-se realizar uma preparação simplificada que consiste na adição de pequenas percentagens de solvente, metanol e/ou DMSO, de forma que as amostras fiquem nas mesmas condições dos padrões fornecidos pelos kits. Assim, sendo possível a comparação dos resultados obtidos para as amostras com os valores das curvas de calibração.

Nesse trabalho não foi necessário fazer extração/concentração das amostras, tendo em vista que os experimentos foram previamente elaborados para que se atingisse concentrações residuais dentro dos limites dos kits (Tabela 4.4). Dessa forma, para remoções com CAPs entre 0 e 95%, o residual do contaminante (perturbador endócrino) estaria entre  $1\mu\text{g/L}$  e  $0,05\mu\text{g/L}$  para  $17\beta$ -estradiol e entre  $100\mu\text{g/L}$  e  $5\mu\text{g/L}$  para o p-nonilfenol, ou seja, ambos os intervalos dentro dos limites de detecção. Portanto, não havendo a necessidade de extrações. Mesmo para os casos de remoções acima de 95%, optou-se em não realizar as extrações, pois seria um gasto a mais diante de um resultado que já configuraria a tecnologia de remoção com CAPs como eficiente. Na Figura 4.9 é apresentado o procedimento de pré-tratamento completo sugerido pelo kit para as amostras com  $17\beta$ -estradiol e na Figura 4.10 o procedimento para as amostras com p-nonilfenol. Em ambos os fluxogramas, as caixas com fundo branco constituem no caminho seguido para a preparação das amostras nesse trabalho.

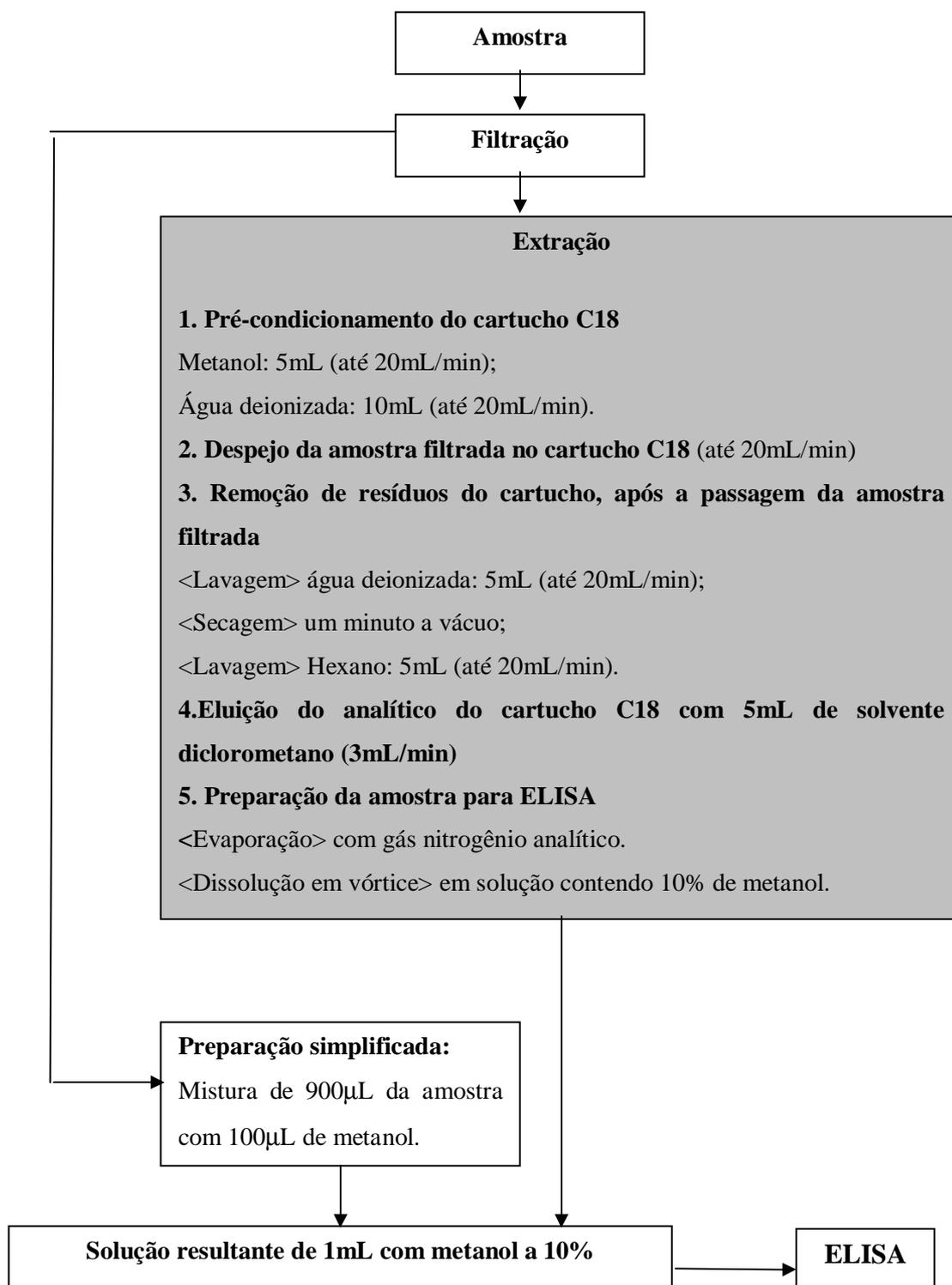


Figura 4.9 – Esquema de pré-tratamento para amostras com 17β-estradiol

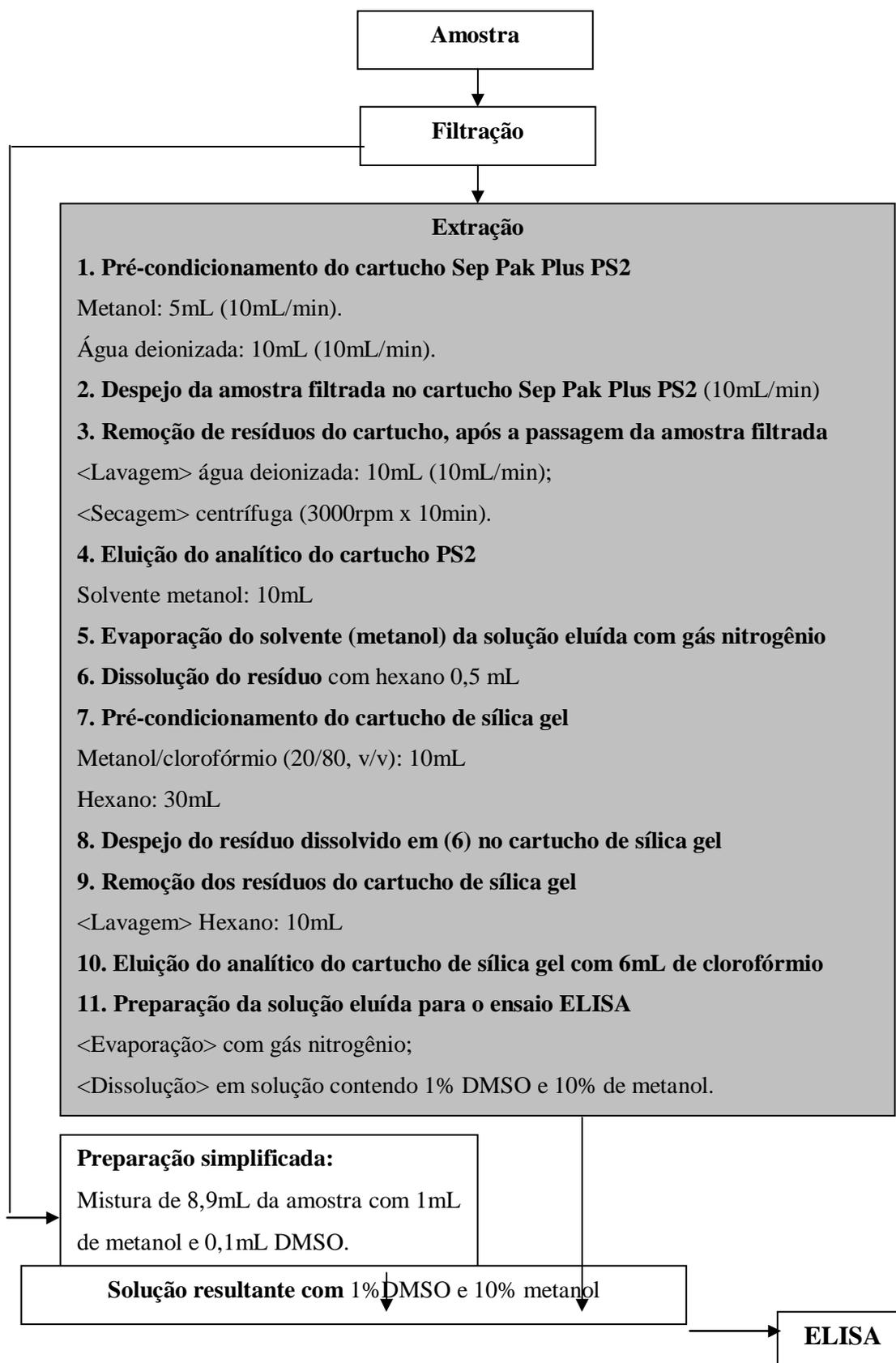


Figura 4.10 – Esquema de pré-tratamento para amostra com p-nonilfenol.

É importante destacar que foram adotadas as etapas de pré-tratamento sugeridas pelo fabricante dos kits, no entanto houve a preocupação de confirmar, por meio de outras referências, se tais procedimentos eram adequados. Dentre as referências analisadas estão, por exemplo, os trabalhos, já citados na revisão bibliográfica sobre remoção de estrogênios, desenvolvidos por Rudder *et al.* (2004), Lee *et al.* (2004) e Fukuhara *et al.* (2006). Nesses estudos foram utilizadas as tecnologias de EFS com cartucho C18 havendo apenas algumas alterações de dosagens e tipos de solventes quando comparado aos processos sugeridos pelo fabricante do kit ELISA E2. Quanto ao nonilfenol, tem-se o trabalho de Komori *et al.* (2006) que estudaram a ocorrência do nonilfenol e de substâncias relacionadas no esgoto do Japão. Nesse trabalho desenvolve-se exatamente o mesmo método de EFS sugerido pelo kit ELISA AP.

#### 4.4 - CONSTRUÇÃO DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

De posse das informações de dosagem de CAP ( $d_{CAP}$ ), concentração inicial ( $C_o$ ) e residual ( $C_e$ ) do perturbador endócrino foram construídas as isotermas de adsorção dos carvões para o modelo de Freundlich, como descrito pela norma D3860-98 da ASTM (2000), e para o modelo de Langmuir, com o objetivo de complementar o estudo dos carvões com mais um tipo de ajuste.

Para construção da isoterma de Freundlich, foram calculados os logaritmos da concentração residual ( $C_e$ ) e da massa do perturbador endócrino por unidade de carvão ( $q_e$ ), conforme a Equação 4.1. Com base na Figura 4.11, que representa a equação linearizada de Freundlich (Equação 3.5), obteve-se a capacidade máxima de adsorção do carvão ativado ( $q_{máx}$ ) que é o valor de  $\log q_e$  correspondente ao logaritmo da concentração inicial ( $\log C_o$ ) no eixo das abscissas. Além disso, tem-se que a inclinação da reta fornece o valor de '1/n' e o ponto no eixo das ordenadas em que  $\log C_e$  é nulo, o valor de  $\log K$ .

$$q_e = \frac{C_o - C_e}{d_{CAP}} \quad \text{Equação (4.1)}$$

A isoterma de Langmuir (Figura 4.12) foi construída conforme sua equação linearizada (Equação 3.3) em que os valores das abscissas correspondem a '1/ $C_e$ ' e os da ordenadas

' $1/q_e$ '. Nesse caso a capacidade adsortiva máxima é obtida pelo inverso do ponto das ordenadas que correspondente ao valor nulo de ' $1/C_e$ '.

É importante comentar que toda a vidraria utilizada durante os ensaios com p-nonilfenol foi limpa com sabão especial sem surfactantes para evitar interferências nos ensaios de detecção.

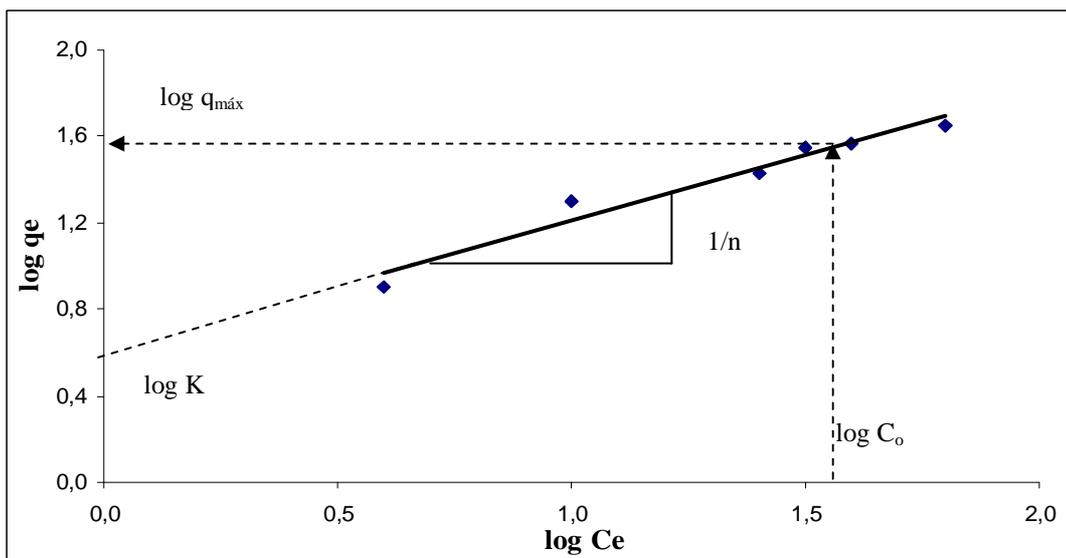


Figura 4.11 – Exemplo hipotético de uma isoterma de adsorção segundo a equação de Freundlich.

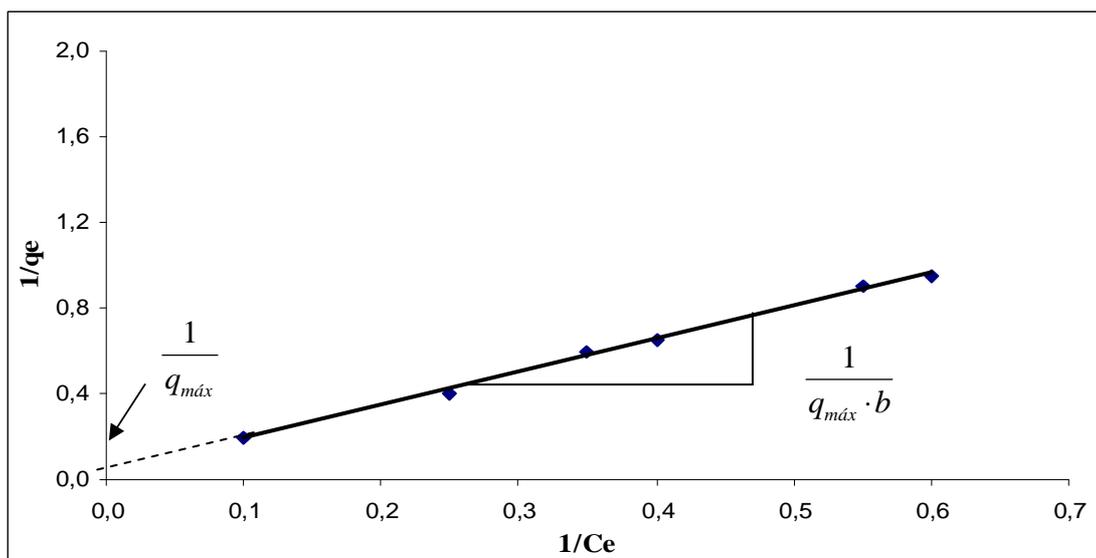


Figura 4.12 – Exemplo hipotético de uma isoterma de adsorção segundo a equação de Langmuir.

## 5 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste item são apresentados e discutidos os problemas enfrentados e os resultados obtidos a partir dos experimentos de capacidade adsorptiva para diferentes tipos de CAPs utilizados com o objetivo de avaliar a remoção dos perturbadores endócrinos p-nonilfenol e 17 $\beta$ -estradiol. Inicialmente, em função dos problemas vivenciados, serão discutidos os ensaios com p-nonilfenol, e, em seguida, os resultados dos experimentos realizados com 17 $\beta$ -estradiol.

### 5.1 – EXPERIMENTOS COM P-NONILFENOL – PROBLEMAS ENFRENTADOS

A primeira dificuldade enfrentada nessa etapa do trabalho foi dissolver o material em pó adquirido do fornecedor de produtos químicos, *Sigma-Aldrich Chemical*. O produto obtido foi o *4-nonylphenol* PESTANAL, classificado como padrão analítico para pesticida.

Apesar da literatura relatar que o 4-nonilfenol é apenas levemente solúvel em água, optou-se por fazer alguns testes tentando solubilizar essa substância apenas em água deionizada. Nessa primeira tentativa preparou-se uma amostra com concentração teórica de 100 $\mu$ g/L, como foi proposto na metodologia. No entanto, após a pesagem do material e sua adição em água deionizada o pó permaneceu disperso no líquido, podendo ser visualizado. Para avaliar se ao menos parte do material adicionado havia sido solubilizado, realizou-se uma análise utilizando o kit ELISA AP e foi detectado apenas, aproximadamente, 9 $\mu$ g/L, ou seja, muito abaixo do valor esperado de 100 $\mu$ g/L.

É conveniente comentar que o kit ELISA AP utilizado, nesse momento, estava em perfeitas condições de uso e dentro do prazo de validade, até porque a curva de calibração foi feita e forneceu resultados coerentes. Cabe ressaltar também que embora os resultados das detecções fossem muito baixos, estes apresentaram coerência quando foram promovidas diluições com as amostras, ou seja, amostras mais diluídas apresentaram valores mais baixos e dentro de uma certa proporção.

Uma segunda tentativa para solubilizar o nonilfenol foi criar uma solução estoque semelhante aos padrões fornecidos pelo kit ELISA AP, nos quais a substância se encontra

dissolvida em solventes orgânicos. Essa alternativa é semelhante ao procedimento adotado para o 17 $\beta$ -estradiol. Assim, preparou-se uma solução estoque de 1,0 litro de metanol contendo 2,0mg de 4-nonilfenol e 10% de DMSO. Constatou-se visualmente que a combinação desses dois solventes foi capaz de solubilizar o 4-nonilfenol. No entanto, ao se adicionar 100,0mL dessa solução estoque a 2,0 litros água deionizada, com o intuito de promover uma diluição e alcançar a concentração proposta de 100 $\mu$ g/L, observou-se que havia precipitação de um sólido, provavelmente o nonilfenol. Para avaliar o procedimento realizou-se as quantificações em ELISA, na qual se obteve resultados com valores baixos, da ordem de 14 $\mu$ g/L.

Prosseguindo nas pesquisas sobre o assunto, em literaturas relacionadas, e entrando em contato com o Departamento de Química da UnB, verificou-se que o *4-nonylphenol* PESTANAL é uma substância bastante pura que apresenta uma estrutura química complexa semelhante a um sabão. Esta é formada por uma parte hidrófila que atrai as moléculas de água e por uma parte hidrófoba que dificulta essa solubilidade. Como a parte hidrófoba forma uma cadeia bem maior do que a hidrófila, essa substância apresenta uma grande tendência a apolaridade. Além disso, apresenta um baixo valor de massa solúvel em água, que pode ser constatado pelo maior valor do coeficiente de partição octanol/água quando comparado ao 17 $\beta$ -estradiol, que já é pouco solúvel. É importante relatar que os solventes orgânicos como o metanol e o DMSO são menos polares que a água, além de apresentarem grupos funcionais mais semelhantes à estrutura do nonilfenol e, portanto, capazes de melhor dissolver essa substância.

Cabe relatar aqui que a combinação de dois solventes tem a função de um auxiliar ao outro para se ter uma melhor capacidade de solubilização. No entanto, a melhor opção para dissolver o nonilfenol seria um solvente apolar como o hexano, mas isso inviabilizaria as posteriores diluições em água deionizada, necessárias para alcançar a concentração proposta na metodologia, já que a água e o hexano são imiscíveis.

Na busca de uma nova solução para esse impasse, resolveu-se por entrar em contato com a Dra K. J. Choi, autora do artigo *Effects of activated carbon types and service life on removal of endocrine disrupting chemicals: amitrol, nonilfenol, e bisfenol A*, publicado na revista *Chemosphere* em 2005. Nesse artigo havia uma breve explicação sobre como a

autora e colaboradores prepararam as amostras com nonilfenol. A Dra Choi sugeriu que o nonilfenol deveria ser dissolvido em metanol, sob condições de agitação. A partir dessa solução, que deveria ter alta concentração, seriam promovidas diluições em água deionizada. Já quanto aos resultados das detecções, estes deveriam ser analisados de forma relativa, cujo referencial seria sempre o jarro de controle (branco) do ensaio. Essa situação é semelhante a que foi realizada para o 17 $\beta$ -estradiol, sendo que nesse caso os jarros de controle apresentam valores de concentrações variadas e nem sempre próximas.

Assim, testou-se o procedimento sugerido pela Dra Choi. Ao se adicionar o nonilfenol ao metanol, resultando em uma solução estoque de 500 $\mu$ g/mL, observou-se uma perfeita dissolução. Contudo, ao se acrescentar água deionizada à mistura, a solução ficou com aspecto turvo, indicando precipitação. Realizando a quantificação utilizando o kit ELISA específico, obteve-se um valor de 7 $\mu$ g/L quando se esperava uma concentração de 100 $\mu$ g/L. Ou seja, um valor muito abaixo indicando, que houve novamente uma má solubilização do produto. Nesse caso, não houve problemas com homogeneização já que o recipiente onde foi promovida a mistura foi mantido em agitação num equipamento para teste de jarros.

É importante comentar que os resultados das concentrações de nonilfenol encontrados nas tentativas de solubilização do 4-nonilfenol PESTANAL foram calculados com base em duas curvas de calibração realizadas no decorrer dessas tentativas. Não foram feitas curvas de calibração em todas as tentativas para economizar os poços do kit em função do elevado custo do mesmo.

Uma nova tentativa de solubilizar o nonilfenol em água deionizada foi realizada, mas agora se baseando nos dados fornecidos pelo programa Scifinder Scholar disponível na página web da Biblioteca da Universidade de Brasília que fornece dados sobre diversos produtos químicos. De acordo com esse programa que utiliza o *Advanced Chemistry Development Software V8.14 for Solaris* para calcular algumas propriedades químicas de diversas substâncias, a massa solúvel em água do 4-nonilfenol é de 0,019g/L (19mg/L). Dessa forma, a partir desse dado de solubilidade, tentou-se novamente dentro dessa condição uma nova solubilização em água deionizada. A solução novamente ficou turva e, portanto, não

houve sucesso nessa tentativa, obtendo-se um resultado foi por volta de 2,5µg/L, onde se esperava 100µg/L.

Como nenhuma das estratégias de solubilização testadas permitiu se obter uma concentração na água de estudo próxima a 100µg/L optou-se por mudar de estratégia mais uma vez. Como em tentativas anteriores, verificou-se uma certa proporção nos resultados, embora em valores baixos, para amostras com e sem diluições. Optou-se por testar o quanto o kit ELISA AP seria capaz de detectar caso fossem utilizadas amostras com valores de concentração bem superiores a 100µg/L. Dessa forma, foram feitos dois testes a partir de uma solução estoque em metanol com uma concentração de 500µg de 4-nonilfenol/mL. No primeiro teste retirou-se 1,00mL da solução estoque, adiciono-o em 1,0 litro de água deionizada contendo 10% de metanol e 1% de DMSO, resultando em uma concentração final de 500µg/L. No segundo retirou-se 2,00mL da solução estoque e o adicionou em 1,0 litro de água deionizada contendo 10% de metanol e 1% de DMSO, resultando em uma concentração final de 1000µg/L.

Novamente, os valores encontrados foram bem abaixo das concentrações esperadas. Para o primeiro teste obteve-se 43µg/L e para o segundo 450µg/L. Apesar dos valores discrepantes houve algum tipo de detecção, e, portanto, os experimentos poderiam ser realizados, porém considerando somente resultados relativos. É conveniente ressaltar que essas soluções também apresentaram um aspecto visualmente turvo.

Uma outra tentativa foi realizada com o próprio padrão do kit ELISA AP. Retirou-se 100µL do padrão de 5000µg/L e o adicionou em 10,00mL de água deionizada contendo 10% de metanol e 1% de DMSO, resultando em uma concentração final de 50µg/L. Nesse caso, a detecção apresentou um resultado próximo ao esperado, obtendo-se um valor de 62µg/L. Assim, a utilização dos padrões do kit para fazer as amostras parecia ser uma opção possível. No entanto, como havia uma quantidade pequena de padrão fornecida no kit, as amostras deveriam ter volumes menores e, provavelmente, uma nova metodologia de ensaio deveria ser elaborada.

A partir dos resultados das duas tentativas descritas, optou-se por realizar os ensaios, primeiramente, com altas concentrações teóricas de nonilfenol e uma análise de resultados relativa. Para isso utilizou-se 2,00mL da solução estoque de 500µg de 4-nonilfenol/mL para cada litro de amostra necessária no ensaio. Em seguida, realizou-se um experimento com o carvão COCO como descrito na metodologia, mas os resultados obtidos não se apresentaram dentro do esperado. Para ambas as baterias de experimentos realizadas, algumas amostras ficaram fora do limite da curva de calibração e outras apresentaram valores de densidade ótica similares para diferentes dosagens de CAP. Adicionalmente, em ambas as baterias, as soluções de controle apresentaram resultados incoerentes.

Na Tabela 5.1 têm-se os valores das medidas de densidade ótica obtidas para a curva de calibração e para as amostras. Percebe-se que os valores de densidade ótica das amostras quando comparados com os valores da curva de calibração correspondem basicamente ao intervalo entre 0 e 5µg/L de nonilfenol, ou seja, os residuais de nonilfenol obtido para as amostras resultam sempre nesse intervalo. No entanto, esperava-se que no jarro de controle o valor do nonilfenol estivesse na ordem de 450µg/L, como observado na primeira tentativa realizada, e que as demais amostras apresentasse um decréscimo no valor do nonilfenol a medida que dosagem de CAP aumentasse. Assim, diante desses resultados não foi possível concluir se o CAP tinha sido capaz de remover todo o nonilfenol nas menores dosagens ou se não havia ocorrido solubilização do material.

Tabela 5.1 – Resultados dos ensaios realizados com o carvão COCO para remoção do 4-nonilfenol

Curva de Calibração		Concentração do carvão (mg/L)	Densidade ótica das amostras após a realização dos ensaios	
			Bateria 1	Bateria 2
NP (µg/L)	Densidade ótica	0	0,767	0,901 (*)
0	0,840	3	0,677	0,725
5	0,607	5	0,710	0,771
20	0,425	10	0,723	0,842 (*)
100	0,301	15	0,806	0,853 (*)
500	0,133	20	0,931 (*)	0,895 (*)

(\*) Fora dos limites da curva de calibração.

É importante comentar que também foram testados dois produtos comerciais. O primeiro deles foi o detergente da marca Ypê (Química Amparo Ltda), cuja embalagem era muito sucinta na descrição da composição química, não relatando a presença do nonilfenol. Mas

mesmo assim o produto foi testado. Nesse caso, o valor encontrado foi bastante baixo, da ordem 10µg/L.

Testou-se também o desinfetante Zupp (Zuppani Industrial Ltda.) que, de acordo com sua composição química, continha nonilfenóis etoxilatos, que são sais solúveis de nonilfenol. Embora o kit ELISA AP não seja muito reativo a esse tipo de substância (Tabela A.4), esperava-se que algo fosse detectado, já que não haveria outros interferentes. Assim, foram feitos alguns testes de detecção: com o produto puro; em amostras com o produto diluído; em amostra com o produto diluído após ensaio de adsorção por 4 horas com concentração de 5mg/L de CAP COCO e com amostra contendo o produto diluído mais 4 gotas de ácido clorídrico. No caso dessa última amostra, a adição do ácido a amostra tornou a mesma visualmente mais clara, ou seja, o produto perdeu a coloração inicial.

Cabe mencionar que a tentativa em se colocar um pouco de ácido clorídrico em uma das amostras teve como objetivo promover uma reação com as moléculas de nonilfenóis etoxilatos. O nonilfenol na sua forma mais pura, como já mencionado, apresenta uma estrutura complexa como um sabão que ao reagir com uma base forma sais como os nonilfenóis etoxilatos. A idéia foi tentar induzir o processo inverso, produzindo a forma nonilfenol para que pudesse ser detectado pelo kit, mas não se obteve sucesso. Talvez porque com a reação reversa a substância precipite e não seja detectada.

Para todas as amostras o resultado de concentração do nonilfenol foi muito acima do esperado, inclusive acima do limite máximo da curva de calibração, indicando, por extrapolação, um valor da ordem de 1000µg/L. Esse resultado se mostrou incoerente não somente pelo valor propriamente dito, mas pelo fato da reatividade do kit alquifenóis (AP) não ser muito alta para os compostos de nonilfenóis etoxilatos. Além disso, constatou-se que a coloração obtida na reação produzida durante o procedimento de detecção era muito clara, como se não tivesse ocorrido reação alguma. A partir desse ensaio, surgiram dúvidas a respeito do funcionamento do kit e da validade dos reagentes.

Como nenhuma das tentativas anteriores apresentou bons resultados, optou-se por mais um novo caminho. Comprou-se uma nova substância nonilfenol do fornecedor de produtos químicos *Sigma-Aldrich Chemical*, conhecida como “*nonylphenol branches*”, uma mistura

líquida que possui não só o 4-nonilfenol em sua composição, mas os sais solúveis nonilfenóis etoxilatos, entre outras substâncias.

Com essa nova substância foram feitas tentativas semelhantes às anteriores. Primeiramente, testou-se a mistura dessa nova substância em água deionizada. Por se tratar de um líquido muito viscoso, essa substância não foi miscível em água e formou uma espécie de bolha de óleo insolúvel. Resolveu-se por aquecer a solução em banho-maria, no entanto, não foi observada nenhuma alteração na amostra. Dessa forma, optou-se em misturar a substância em metanol e depois adicioná-la em água deionizada. A mistura em metanol foi possível, mas a bolha de óleo voltou novamente a aparecer ao se adicionar água à solução. Além disso, a solução apresentou um aspecto turvo com um certo precipitado na superfície, semelhante ao que ocorria nas tentativas com a substância nonilfenol na forma em pó.

Mesmo assim, foram feitas algumas diluições com essa solução turva. A solução turva apresentava uma concentração de 500mg/L e a partir dela foi feita uma diluição de 1:100 (5mg/L) e dessa última, outras diluições foram feitas de 1:10 (500µg/L), 1:20, 1:40, 1:50, 1:60, 1:80 e 1:100 (50µg/L), com o objetivo de abranger grande parte do intervalo de detecção do kit ELISA AP (Tabela 4.4). Esse ensaio foi repetido duas vezes e as leituras de densidade ótica foram praticamente iguais para todas as diluições. Assim, aumentou-se a suspeita de que havia algum problema com o kit ELISA, pois, desde o ensaio com o desinfetante Zupp, a coloração dos poços durante o ensaio ELISA era muito clara, como se nos poços não tivesse ocorrido reação.

Como nenhuma tentativa até o momento havia realmente funcionado, resolveu-se por retomar a idéia de se utilizar os próprios padrões do kit ELISA AP como solução estoque. Como a quantidade desses padrões era muito pequena, as amostras a serem utilizadas nos experimentos também deveriam ter volumes menores do que 1,0 litro, que era o volume proposto na metodologia inicial. Assim, o volume passou a ser de 10,00mL para cada amostra a ser ensaiada.

Como o volume das amostras foi modificado, as massas de carvão a serem adicionadas foram também reduzidas para que se mantivesse as dosagens dos CAPs de 3 a 20mg/L. No entanto, constatou-se a impossibilidade, devido a precisão da balança analítica, de se pesar

diretamente as novas massas de carvão: 0,03mg a 0,20mg. Portanto, decidiu-se, ao contrário da metodologia anterior, em preparar uma água de estudo contendo o carvão ativado ao invés do perturbador endócrino que seria adicionado posteriormente. No preparo da água de estudo seriam utilizadas as mesmas massas de CAPs que foram adotadas na metodologia e, dessa forma, não haveria a necessidade de pesar quantidades tão pequenas de carvão. Além disso, ao invés de se realizar cada experimento com um único CAP e várias dosagens, optou-se por avaliar todos os CAPs sob mesma condição de dosagem, iniciando-se pela dosagem de 3mg/L e, de acordo com os resultados obtidos, estipulando o próximo valor de dosagem a ser estudado.

O ensaio iniciava-se com a pesagem da mesma massa para todos os carvões (0,0030mg), sendo estes submetidos posteriormente à hidratação a vácuo e remoção de ar dos interstícios como descrito na metodologia. Em seguida, essas massas eram colocadas em um béquer com água deionizada para atingir um volume final de 1,0 litro. Cada béquer era agitado em equipamento de teste de jarros para se obter uma suspensão homogênea dos CAPs. De cada suspensão homogênea eram retiradas duas alíquotas de 10,00mL (que seriam equivalentes aos resultados das duas baterias de experimentos da antiga metodologia) e transferidas para tubos de ensaios dotados de tampa.

Nos tubos de ensaio contendo a suspensão de CAP na concentração desejada, eram então adicionadas 100µL do padrão de 5000µg/L de nonilfenol disponível no kit ELISA AP. Com isso obtinha-se uma concentração aproximada de 50µg/L nos tubos de ensaio contendo a determinada concentração de CAP. Os tubos de ensaios, então, eram agitados por 4 horas em um equipamento especial para homogeneização de sangue, modelo AP22 da Phoenix (Figura 5.1) e com o término do ensaio eram realizadas as detecções do nonilfenol residual por detecção ELISA. É importante ressaltar que no experimento, além dos tubos com as concentrações de CAPs, haviam dois tubos de ensaio sem carvão, apenas com o 100µL do padrão, que correspondiam às amostras de controle.

Os resultados obtidos com a concentração de 3mg/L forneceram valores muito elevados de residual de nonilfenol, da ordem de 1000µg/L (por extrapolação), onde se esperava valores iguais ou superiores a 50µg/L. Mais uma vez observou-se uma coloração clara semelhante a das últimas tentativas. Tais resultados foram bastante incoerentes até porque já havia sido

feita uma tentativa anterior com amostras contendo o padrão de 5000 $\mu$ g/L em que a detecção foi bastante confiável. Além disso, a curva de calibração desse ensaio também não apresentou dados coerentes, uma vez que todos os poços apresentavam coloração bem clara, como se não houve ocorrido a reação.



Figura 5.1 – Homogeneizador de sangue

Assim, considerando os fortes indícios de problemas com o kit ELISA, resolveu-se testar os reagentes para avaliar se os mesmos estavam em boas condições. Nesse teste, misturou-se, em um tubo tipo eppendorf, o conjugado com um pouco da solução de cor e constatou-se que havia reação com produção de cor característica, ou seja, o conjugado e a solução de cor pareciam estar em boas condições. No entanto, ao se colocar um pouco da substância de lavagem, verificou-se que esta reagia com a solução, eliminando a coloração da reação. Esse comportamento sugeria que o problema do kit poderia está associado ao procedimento de lavagem. Ao mesmo tempo permanecia a dúvida, pois nas primeiras vezes em que o kit foi utilizado haviam ocorrido reações visíveis e o procedimento de lavagem, nesses casos, tinha sido o mesmo.

Cabe ressaltar que nos primeiros ensaios com o kit ELISA E2, utilizado para a detecção do 17 $\beta$ -estradiol, houve alguns problemas no procedimento da lavagem. A lavagem se trata de uma etapa crítica do ensaio, uma vez que qualquer resíduo deixado nos poços pode causar interferências nos resultados. Na época dos ensaios com 17 $\beta$ -estradiol, buscou-se informações com os técnicos e pesquisadores do Laboratório de Farmacologia Molecular e do Laboratório de Doenças de Chagas, ambos localizado na Faculdade de Saúde da UnB, já que nesses laboratórios é rotineiro o trabalho com kits ELISA, sendo que, no caso do Laboratório de Doenças de Chagas, existe a própria fabricação de reagentes e placas sensibilizadas. Com as informações obtidas foi possível dirimir algumas dúvidas a respeito do procedimento do ensaio ELISA que, normalmente, não estão descritas nos manuais.

Como por exemplo, a respeito do procedimento de lavagem dos poços e manipulação e conservação das placas que são extremamente sensíveis.

Para se verificar se o problema estava associado à solução de lavagem decidiu-se testar o procedimento de lavagem. Assim, testou-se a detecção dos padrões 50 e 1000µg/L do kit ELISA AP, executando-se diferentes procedimentos de lavagem:

1. Sem utilização da solução de lavagem, apenas retirando o excesso de líquido dos poços da placa ELISA após a reação conjugado, padrão e anticorpo;
2. Procedendo a lavagem dos poços com a solução fornecida pelo kit na diluição proposta no mesmo;
3. Procedendo a lavagem dos poços com a solução fornecida pelo kit usando uma diluição maior;
4. Procedendo a lavagem dos poços apenas com água deionizada.

Analisando os resultados, observou-se que apenas nos poços não lavados houve coloração. Ou seja, nos poços em que foi realizado qualquer tipo de lavagem não houve coloração, como vinha acontecendo desde os ensaios com o desinfetante Zupp. Provavelmente, a coloração observada nos poços não lavados foi devida a algum resíduo solto do conjugado e não ao conjugado preso aos anticorpos presentes na placa. Dessa forma, acredita-se que o problema era na placa sensibilizada do kit e, portanto, nos anticorpos.

O problema com a placa de ELISA pode ter várias origens, desde problemas na fabricação e transporte, até quedas de energia no próprio laboratório, já que os kits devem ser mantidos sob baixa temperatura, 4°C.

É importante relatar que a temperatura é um fator que pode causar interferências significantes, além de promover a degradação de placas e reagentes. Por exemplo, ao realizar os experimentos em temperatura ambiente com o 17β-estradiol, verificou-se que, devido a oscilações da temperatura ambiente ao longo das semanas, houve alterações significativas nos resultados de determinadas curvas de calibração. No caso dos ensaios com 17β-estradiol, quando se percebeu que essas oscilações poderiam causar mudanças significativas, passou-se a controlar a temperatura, embora não as tenha relatado nesse trabalho.

Optou-se em não relatar os dados de temperatura porque nos primeiros ensaios não houve a iniciativa de fazer essas observações, embora tenha sido feita uma análise qualitativa (sensibilidade térmica). Nos demais ensaios essas temperaturas foram realmente medidas, mas os valores observados sempre ficaram no mesmo intervalo, pois os experimentos eram executados no mesmo horário e dentro do intervalo de 18 a 25°C, sugerido pelo kit, não aceitando desvio de temperatura, mesmo que levemente. Caso no dia a temperatura estivesse fora dos limites, optava-se por não fazer o ensaio.

Em função do primeiro kit ELISA adquirido ter sido completamente utilizado para realização de testes de solubilização do 4-nonilfenol e o segundo kit apresentar os problemas de detecção descritos, não foi possível realizar os ensaios propostos para a substância nonilfenol, comprometendo parte dos objetivos desse trabalho.

## **5.2 – AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs PARA REMOÇÃO DO 17 $\beta$ -ESTRADIOL**

Os experimentos para determinação da capacidade adsortiva dos CAPs, como mencionado na metodologia, foram realizados em duplicata. Contudo, cabe acrescentar que um número maior de repetições seria adequado para fornecer dados mais precisos.

A Tabela 5.2 apresenta as concentrações iniciais do 17 $\beta$ -estradiol em cada um dos experimentos realizados. Observa-se, a partir de uma análise comparativa que não houve uma reprodução das concentrações iniciais entre os experimentos de cada carvão. Esse fato pode ser justificado por problemas na homogeneização da solução base usada na preparação da água de estudo. Além disso, vivenciaram-se dificuldades na detecção dos valores presentes nas amostras, pois, em alguns casos, estes excederam ao limite de detecção do kit E2. Apesar desses problemas, constatou-se que as concentrações iniciais detectadas foram, na sua maioria, próximas do valor de 1 $\mu$ g/L, proposto pela metodologia.

De um modo geral, apesar das concentrações iniciais de 17 $\beta$ -estradiol ( $C_0$ ) variarem entre os experimentos, observou-se que os residuais de 17 $\beta$ -estradiol para todos os carvões seguiram o comportamento esperado, pois o valor residual decresceu à medida que se aumentava a dosagem de CAP, como pode ser constatado na Figura 5.2. É importante

ressaltar que na Figura 5.2 para o carvão COCO desconsiderou-se o experimento 2 devido o valor detectado da concentração inicial ser muito abaixo do esperado (1µg/L).

Tabela 5.2 – Resumo das concentrações iniciais do 17β-estradiol.

Tipo de Carvão	COCO		OSSO		MAD 1		MAD 2	
Experimento	1	2	1	2	1	2	1	2
Co (µg/L)	0,98	0,50	0,72	(*)	(*)	1,00	0,98	0,87

(\*) Valores acima do limite de detecção.

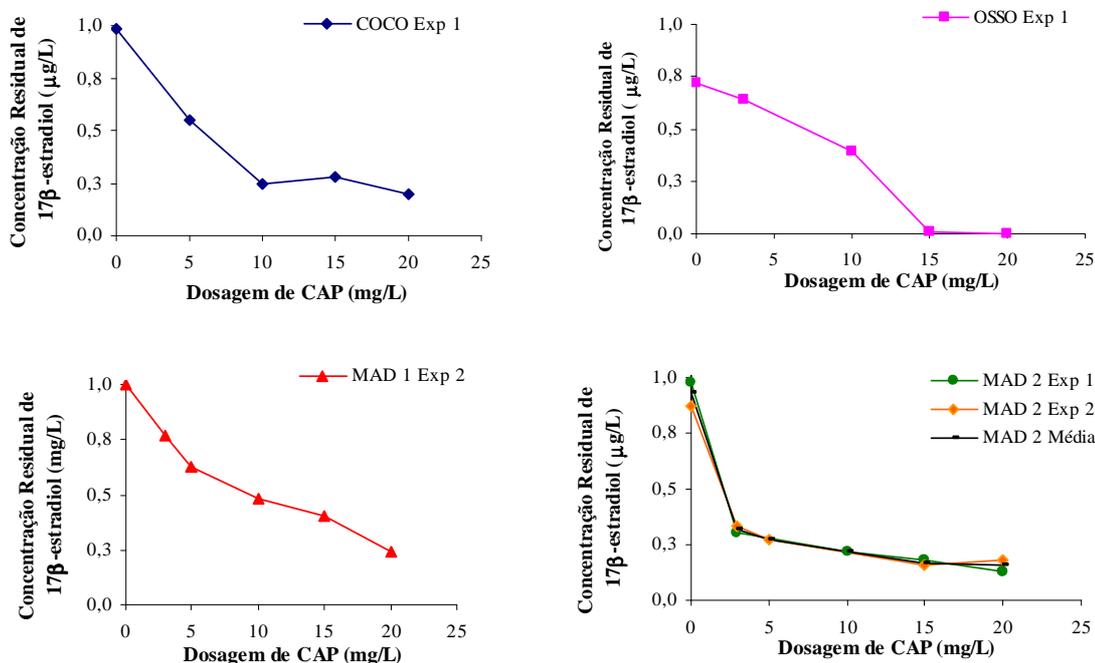


Figura 5.2 – Residuais de 17β-estradiol com as dosagens de CAP

Observa-se também, na Figura 5.2, que as curvas de residuais assemelham-se a um decaimento exponencial negativo com relação à dosagem de carvão. Ou seja, verifica-se uma remoção considerável para as dosagens mais baixas e ganhos de remoções poucos significativos para dosagens mais elevadas. De um modo geral, os CAPs apresentaram boa remoção do 17β-estradiol com dosagens inferiores a 10mg/L, sendo que para os carvões MAD 1, de origem vegetal, e OSSO, de origem animal, ainda houve remoções significativas para dosagens maiores. É importante ressaltar que maiores remoções para dosagens inferiores a 10mg/L já foram constatadas nos estudos desenvolvidos por Yoon *et*

*al.* (2003), que avaliaram a remoção dos perturbadores 17 $\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ -etinilestradiol e bisfenol A (para uma solução com concentração inicial total de 100nM) em amostras de rio e água deionizada com carvões de origem vegetal produzidos nos EUA.

Na Tabela B.1 (Apêndice B) são apresentados os dados utilizados para traçar os gráficos da Figura 5.2. Como pode ser observado nessa Tabela, dados foram perdidos em função da leitura de densidade óptica não permitir o uso da curva de calibração ou foram descartados porque estes não seguiram a tendência dos demais resultados, o que comprometeu a confiabilidade do experimento. Assim, para cada carvão, optou-se por trabalhar apenas com o experimento mais confiável. Dessa forma, as equações apresentadas, bem como os parâmetros e os valores da capacidade adsortiva máximas obtidos nesse trabalho, não devem ser analisados em termos dos seus valores absolutos, mas sim em relação a sua tendência relativa.

De acordo com a Figura 5.3, obtida com base nos dados fornecidos na Tabela B.3, tem-se uma visualização da remoção verificada para cada carvão com o aumento das dosagens. Observou-se que o maior percentual de remoção do 17 $\beta$ -estradiol, 100%, foi atingido pelo carvão OSSO na dosagem de 20mg/L, seguido do percentual de 87%, do carvão MAD 2 Exp. 1 (Tabela B.3), para esta mesma dosagem. Quanto aos outros dois carvões, estes atingiram remoções inferiores a 80% do 17 $\beta$ -estradiol originalmente presente em cada experimento.

Na Figura 5.4 e 5.5 são apresentados os ajustes dos dados experimentais aos modelos de isoterma de Freundlich e Langmuir, respectivamente. A Tabela B.2 apresenta os valores de  $C_e$  e  $q_e$  utilizados para os ajustes aos modelos de isotermas e na Tabela 5.3 as equações das curvas ajustadas e seus respectivos coeficientes de correlação.

Analisando os valores dos coeficientes de ajuste  $R^2$  na Tabela 5.3, constata-se que os dados obtidos de um modo geral apresentaram bons ajustes aos dois modelos, com valores de  $R^2$  maiores que 0,70, exceto para o CAP COCO. É importante observar que os ajustes para o CAP OSSO apresentaram retas com inclinação negativa, em desacordo com o previsto nos modelos, apesar da excelente remoção apresentada por esse carvão (Figura 5.2) É possível que esse fato tenha ocorrido devido a pouca quantidade de pontos utilizados nos ajustes. O

ajuste do CAP OSSO baseou-se apenas em três pontos porque, ao contrário dos outros carvões, o valor da concentração residual correspondente à dosagem de 20mg/L de CAP foi zero. Assim, não sendo possível de ser computado no gráfico, tendo em vista que o logaritmo de zero e a divisão por zero não existem.

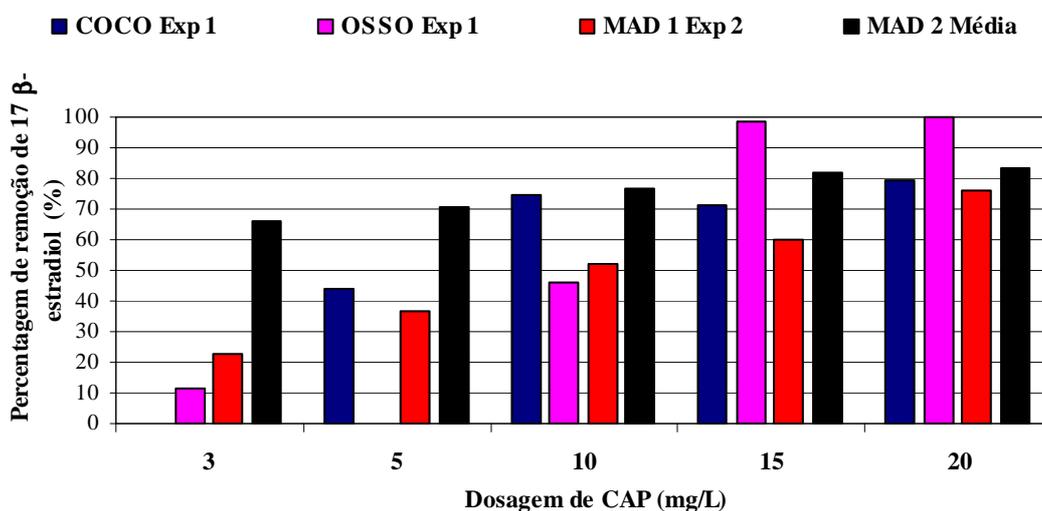


Figura 5.3 – Remoção de 17β-estradiol em diferentes dosagens para cada CAP.

Tabela 5.3 – Equações das isotermas de 17β-estradiol dos CAPs estudados para os diferentes ajustes aos modelos de Freundlich.

<b>Modelo de Freundlich</b>			
<b>CAP</b>	<b>Origem dos valores</b>	<b>Equação</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>COCO</b>	Experimento 1	$\log q_e = 0,66 \cdot \log C_e - 0,89$	0,59
<b>OSSO</b>	Experimento 1	$\log q_e = -0,12 \cdot \log C_e - 1,57$	0,93
<b>MAD 1</b>	Experimento 2	$\log q_e = 0,68 \cdot \log C_e - 1,05$	0,85
<b>MAD 2</b>	Média (Ex. 1 e 2)	$\log q_e = 2,24 \cdot \log C_e + 0,40$	0,98
<b>Modelo de Langmuir</b>			
<b>CAP</b>	<b>Origem dos valores</b>	<b>Equação</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>COCO</b>	Experimento 1	$\frac{1}{q_e} = 3,82 \cdot \frac{1}{C_e} + 4,35$	0,60
<b>OSSO</b>	Experimento 1	$\frac{1}{q_e} = -0,13 \cdot \frac{1}{C_e} + 34,19$	0,82
<b>MAD 1</b>	Experimento 2	$\frac{1}{q_e} = 4,85 \cdot \frac{1}{C_e} + 8,14$	0,77
<b>MAD 2</b>	Média (Ex. 1 e 2)	$\frac{1}{q_e} = 6,07 \cdot \frac{1}{C_e} - 14,59$	0,98

Outra inconsistência observada é que a aplicação do modelo de Langmuir à adsorção do 17β-estradiol pelo carvão MAD 2 gerou valor de capacidade adsortiva máxima negativo, o

que não tem significado físico. Tal fato pode ser observado na Tabela B.4 e na Figura 5.6 (b). Já na Tabela B.6 são apresentados os valores do coeficiente **b** do modelo de Langmuir, que são apresentados apenas com o objetivo de complementar o estudo desse modelo.

De acordo com Snoeyink (1990) e Masschelein (1992), o modelo de Freundlich é o que melhor representa o processo adsorptivo. A partir dessa informação, observando-se a Figura 5.6, é possível concluir que o CAP MAD 2 foi o mais eficiente entre os carvões estudados, seguido dos carvões COCO e MAD 1. É importante ressaltar que os valores da capacidade adsorptiva do COCO e MAD 1 foram próximos, o que pode ser também constatado na semelhança gráfica destes nas Figuras 5.4 e 5.5.

Além da capacidade adsorptiva máxima, devem ser avaliados os parâmetros **n** e **K** do modelo de Freundlich. Cabe lembrar que o valor de **n** está relacionado à intensidade da força de adsorção entre a superfície do carvão e o adsorvato, enquanto, o de **K** está relacionado à capacidade de adsorção. Na Figura 5.7 e na Tabela B.5 são apresentados os resultados obtidos a partir dos ajustes realizados.

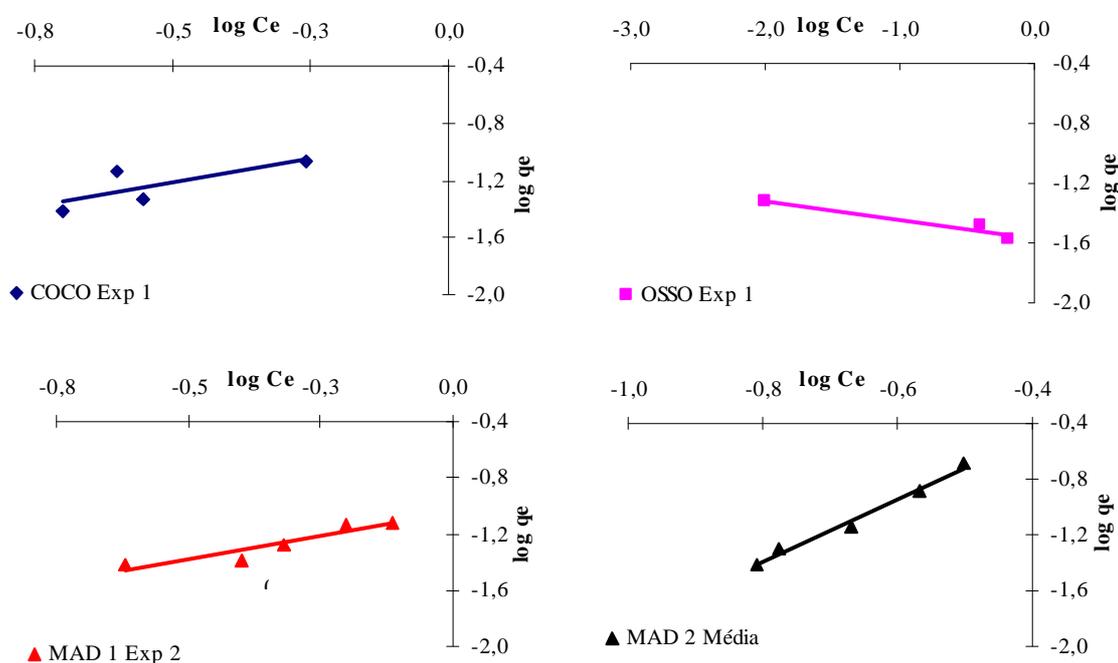


Figura 5.4 – Isotermas de adsorção do 17 $\beta$ -estradiol para diferentes CAPs (ajuste ao modelo de Freundlich).

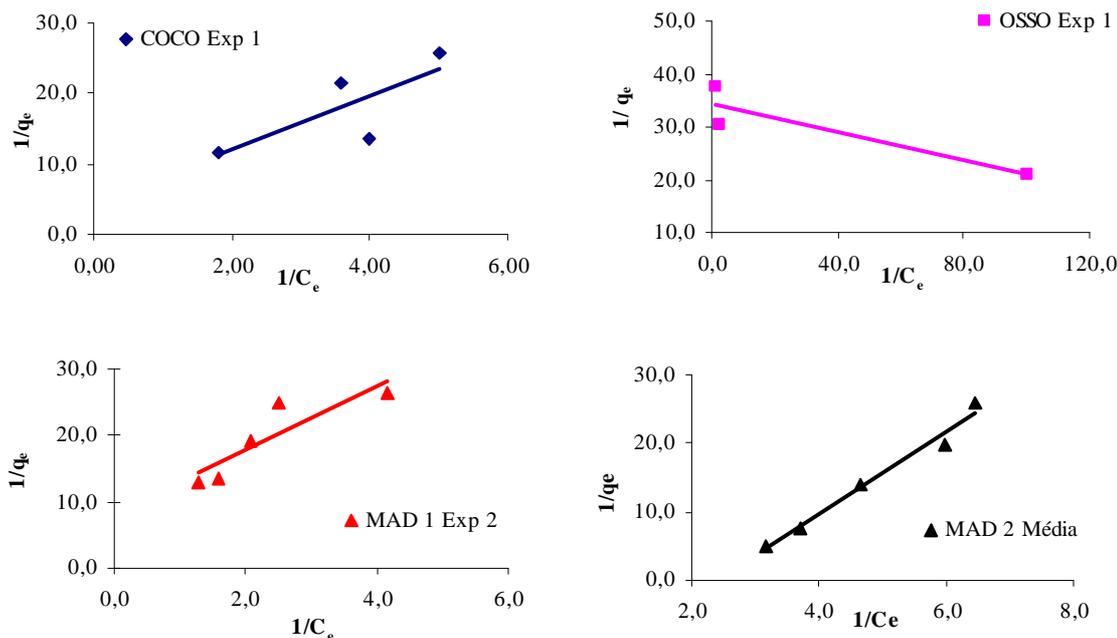


Figura 5.5 – Isothermas de adsorção do 17β-estradiol para diferentes CAPs (ajuste ao modelo de Langmuir).

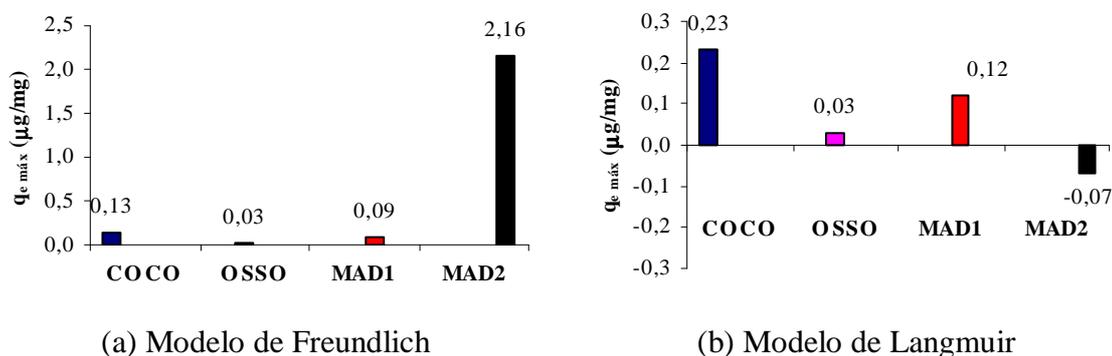


Figura 5.6 – Valores das capacidades adsorptivas máximas ( $q_e \text{ máx}$ ), obtidas a partir do ajuste aos modelos de Freundlich e Langmuir, considerando a concentração inicial de 1µg/L de 17β-estradiol.

Na Figura 5.7, analisando os valores obtidos para o coeficiente  $n$  é possível inferir sobre o fenômeno de desorção do material aderido aos carvões, ou seja, o grau de reversibilidade do processo de adsorção. Observa-se que o carvão COCO demonstra ter maior dificuldade de desorção, por apresentar, de acordo com o modelo de Freundlich, o maior valor para o parâmetro  $n$ . Já para o carvão MAD 2, tem-se que este possui maior fragilidade nas suas ligações adsorptivas. Quanto ao carvão OSSO, nada pode ser concluído sobre as ligações adsorptivas uma vez que o parâmetro  $n$  encontrado apresentou valor negativo, já que o CAP OSSO não se adequou ao modelo de Freundlich. Constatou-se, também, que os carvões

COCO e MAD1 apresentaram valores dentro do intervalo de  $1,43 < n < 3,33$ , comum a maioria dos carvões, segundo Masschelein (1992). Esses valores também são próximos ao intervalo de  $1,64 < n < 3,0$  obtido nos estudos de Fukuhara *et al.* (2006), com carvões vegetais.

A avaliação do parâmetro  $n$  é conveniente, pois a característica de maior irreversibilidade de adsorção para um carvão ativado em pó é considerada uma vantagem, uma vez que para este tipo de material não há interesse na regeneração após a utilização. Além do que, o carvão pode passar, dependendo do ponto de aplicação, por praticamente todas as etapas de tratamento sem sofrer demasiadamente com efeitos externos ao processo adsorptivo. Dessa forma, embora o CAP MAD 2 tenha apresentado maior capacidade adsorptiva máxima que o carvão COCO, esse último é mais vantajoso quando se deseja minimizar os efeitos externos.

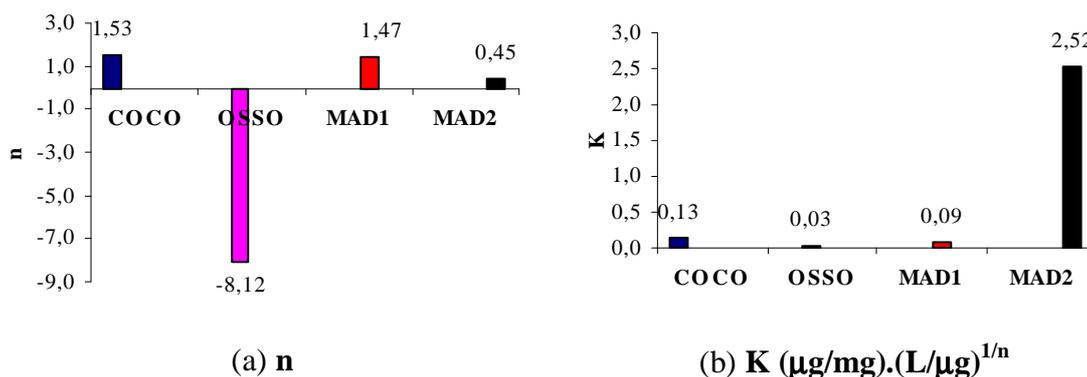


Figura 5.7 – Parâmetros  $K$  e  $n$  do modelo de Freundlich.

É importante ressaltar com relação ao parâmetro  $K$  que este apresentou resultados iguais ou pouco superiores aos valores de capacidade adsorptiva máxima. Em geral, os valores  $q_{\text{máx}}$  obtidos por meio do ajuste ao modelo de Freundlich são superiores aos valores de  $K$  (Equação 3.5 e Figura 4.11). No entanto, nesse estudo, como os valores de  $C_0$  (Tabela 5.2) eram aproximadamente  $1\mu\text{g}/\text{L}$  (e,  $\log K = \log 1 = 0$ ) obteve-se valores de  $K$  praticamente iguais aos  $q_{\text{máx}}$ .

Outro aspecto a ser avaliado, nessa discussão dos resultados, é a relação entre as características dos CAPs (distribuição de tamanho de poros, número de iodo, etc) e os valores obtidos para o parâmetro  $K$ , sendo utilizado para isto a correlação de Pearson. Na

Tabela 5.4, que é um resumo da Tabela B.8, são apresentados os coeficientes de Pearson obtidos, ou seja, a correlação encontrada para as diferentes variáveis combinadas. Os dados referentes às características dos carvões são fornecidos no Apêndice A, Tabelas A.1 e A.2, já os valores de **K** são fornecidos na Tabela B.5, Apêndice B.

É importante ressaltar que as correlações deveriam ser realizadas entre as características dos CAPs e os valores tanto de **K** quanto de  $q_{m\acute{a}x}$ . No entanto, como os parâmetros **K** e  $q_{m\acute{a}x}$  foram praticamente os mesmos, buscou-se avaliar também a correlação entre a concentração adsorvida por cada CAP na dosagem de 20 mg/L. Esse valor foi obtido por meio da diferença entre a concentração de 17 $\beta$ -estradiol inicial na amostra e o residual encontrado nessa dosagem de CAP. Observando a Figura 5.2, percebe-se que para essa dosagem de CAP, com exceção do MAD 1 que não apresenta um estabilidade bem definida, os demais carvões parecem já ter atingido o máximo de remoção possível.

Tabela 5.4 – Resumo das correlações obtidas entre as características dos CAPs e a concentração adsorvida de 17 $\beta$ -estradiol na dosagem de 20mg de CAP/L e o valor de **K**.

<b>Características Gerais dos CAPs</b>	<b>K</b> ( $\mu\text{g}/\text{mg} \cdot (\text{L}/\mu\text{g})^{1/n}$ )	<b>Valor máximo adsorvido de 17<math>\beta</math>-estradiol (<math>\mu\text{g}/\text{L}</math>)</b>
Microporos Primário ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	0,30	0,68
Microporos Secundário ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	0,33	0,70
Microporos Totais ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	0,31	0,69
Mesoporos ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	-0,88	-0,86
Macroporos ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	-0,59	-0,77
Volume total de poros ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	0,03	0,45
Área BET ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	0,21	0,59
Número de iodo (mg/g)	0,12	0,51

Dos valores dos coeficientes de Pearson da Tabela 5.4 observa-se que as correlações positivas entre as características dos CAPs e os parâmetros **K** apresentaram valores baixos, inclusive com coeficientes próximos de zero, o que indica não correlação entre as variáveis. Valores mais elevados do coeficiente de Pearson corresponderam aos volumes de mesoporos e macroporos que, no entanto, apresentaram uma correlação negativa. Ou seja, segundo esses valores, o aumento no volume de mesoporos e macroporos promove uma diminuição da capacidade de adsorção dos carvões, o que não parece consistente.

Uma razão para que os coeficientes tenham apresentado valores baixos ou incorrentes pode ser o mau ajuste do CAP COCO ao modelo de Freundlich (Tabela 5.3), resultando em um parâmetro **K** impreciso que compromete o conjunto de dados que já é muito pequeno (n = 4).

Já com relação às correlações entre as características dos CAPs com os valores adsorvidos de 17 $\beta$ -estradiol na concentração de 20mg de CAP/L, estas apresentaram valores de coeficiente de Pearson mais elevados. Novamente tanto o volume de mesoporos como de macroporos apresentaram uma correlação negativa. Quanto aos microporos, a correlação obtida foi mais significativa já que os valores foram aproximadamente 0,70. Assim, é possível inferir que há uma tendência de que quanto maior o volume de microporos tem-se um aumento na concentração adsorvida de 17 $\beta$ -estradiol.

A importância do volume de microporos na remoção do 17 $\beta$ -estradiol encontra fundamento no trabalho de Fukuhara *et al.* (2006), que constataram que a adsorção do 17 $\beta$ -estradiol, assim como da estrona, foi menor em carvões vegetais com grande diâmetro de poros. Nesse estudo, Fukuhara e colaboradores também calcularam os valores de **K**, que para as amostras de água deionizada contendo 17 $\beta$ -estradiol variaram no intervalo de 21,3 a 67,6, portanto, valores bem superiores aos relatados na Figura 5.7, obtidos nesse trabalho. No entanto, os carvões estudados por Fukuhara *et al.* (2006) apresentam número de iodo variando entre 1010 e 1530mg/g e superfície BET entre 991 e 1831m<sup>2</sup>/g, ou seja, indicando uma maior presença de microporos e, também maior superfície de adsorção, quando comparados às características dos carvões apresentados na Tabela A.1. Dessa forma, tais resultados reforçam ainda mais a maior tendência de adsorção do 17 $\beta$ -estradiol por parte dos microporos.

Além disso, é importante mencionar que o 17 $\beta$ -estradiol apresenta um peso molecular de 272,4Da e, portanto, trata-se de uma molécula relativamente pequena, que conforme Snoeyink (1990) tenderá a ser adsorvida de preferência por poros com estruturas e dimensões semelhantes. Segundo Snape e Nakajima (1996), a osmose reversa é utilizada para remoção de partículas com peso molecular menor que 350Da e, ao mesmo tempo, de acordo com o esquema apresentado na Figura B.1, Apêndice B, a osmose reversa é capaz de remover partículas com tamanho da ordem de 1nm. Logo, essa associação de idéias

sugere que o  $17\beta$ -estradiol tem um tamanho próximo de 1nm com tendência a ser adsorvido em microporos, que conforme a Tabela 3.8, apresentam diâmetros médios menores que 2nm.

Cabe também comentar que os coeficientes de Pearson obtidos para o número de iodo, área BET e volume de microporos, quando relacionados com os valores adsorvidos de  $17\beta$ -estradiol, apresentaram valores próximos. Isto provavelmente se deve ao fato do número de iodo expressar indiretamente a microporosidade dos carvões e, de acordo com Snoeyink (1990), devido à área BET aumentar com a quantidade de microporos.

Complementando as observações a cerca da relação da microporosidade com a adsorção do  $17\beta$ -estradiol, verificou-se que o carvão COCO, embora possua os maiores volumes de micro e mesoporos dentre os carvões vegetais (Tabela A.2), não foi capaz de obter o melhor percentual de remoção para a dosagem de 20mg/L (Tabela B.3), fato este que parece incoerente diante do que foi observado a respeito da afinidade do  $17\beta$ -estradiol com microporos. No entanto, deve-se lembrar que outros fatores podem ter influenciado na adsorção como, por exemplo, a química na superfície do CAP.

A exceção a essa análise sobre a importância dos microporos na remoção do  $17\beta$ -estradiol foi o carvão animal, OSSO, que apresentou 100% de remoção com uma distribuição de poros baseada, principalmente, na presença de mesoporos. É importante ressaltar que esse carvão apresenta um comportamento peculiar, e não parece se ajustar bem aos modelos de adsorção mais usuais, Freundlich e Langmuir, como pode ser visto na Figura 5.4, 5.5. Silva (2005) também relata que a adsorção de saxitoxinas pelo carvão OSSO não se ajustou aos modelos de Freundlich e Langmuir. Como foram poucos os dados obtidos nesse trabalho para que se possa afirmar algo sobre o comportamento desse carvão, o CAP OSSO torna-se uma opção interessante para novos estudos, pois apresenta um comportamento diferenciado em relação aos demais carvões.

Finalizando essa discussão dos resultados, deve-se ressaltar novamente, como já visto na metodologia, que os ensaios de capacidade adsorptiva foram realizados sob temperatura controlada. Na Tabela B.7.1 são apresentados os valores registrados. Observou-se, em geral, que a diferença entre as médias de temperatura da sala ou do líquido entre os

experimento de cada carvão foram inferiores a 2°C e que a maior parte das temperaturas relatadas ficaram dentro do desvio padrão calculado. Portanto, pôde-se inferir que as diferenças não foram significativas a ponto de promover alterações nos resultados das isotermas.

Já na Tabela B.7.2, têm-se os valores de pH registrados no início e final dos mesmos experimentos. A principal constatação, nesse caso, foi que as medidas de pH do final do experimento foram em geral mais baixas que as medidas iniciais devido a interferências causadas pela presença do CAP em solução. No entanto, observou-se que essa diferença, como no caso da temperatura, não foi significativa a ponto de modificar os resultados obtidos.

## 6 – CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Neste capítulo as conclusões apresentadas serão relativas aos experimentos com  $17\beta$ -estradiol, visto que os experimentos com p-nonilfenol não foram bem sucedidos e o relato sobre todo o ocorrido já foi abordado no capítulo referente à discussão dos resultados.

Assim, com base nas discussões a cerca dos experimentos com  $17\beta$ -estradiol, tem-se que dentre os carvões ativados em pó estudados, aqueles que apresentaram maiores percentuais de remoção do perturbador endócrino  $17\beta$ -estradiol na faixa de dosagem de 20mg de CAP/L foram os carvões de origem animal OSSO (100%) e de origem vegetal MAD2 (86,7%). Quanto aos outros dois carvões, estes atingiram remoções inferiores a 80% do  $17\beta$ -estradiol originalmente presente em cada experimento.

Observou-se que todas as curvas de residuais assemelharam-se a um decaimento exponencial negativo com relação à dosagem de carvão, ou seja, o valor residual decrescia à medida que se aumentava a dosagem de CAP. Por meio dessas curvas também foi possível verificar que, de um modo geral, boas remoções foram obtidas para as dosagens inferiores a 10mg de CAP/L. Embora que para os carvões MAD 1, de origem vegetal, e OSSO, de origem animal, ainda tenham ocorrido remoções significativas para dosagens maiores.

Quanto aos modelos de Freundlich e Langmuir, verificou-se que o modelo de Freundlich foi o que melhor se ajustou a todos os carvões, com exceção apenas ao carvão OSSO que possui um comportamento contraditório, pois ao mesmo tempo que apresenta grande capacidade de remoção do  $17\beta$ -estradiol não é capaz de se ajustar aos modelos. No entanto, deve-se ressaltar que devido aos poucos dados experimentais obtidos, as análises concluídas a partir dos parâmetros dos modelos apresentaram apenas um caráter relativo. Dessa forma, inferiu-se, de acordo com o modelo de Freundlich, que o carvão MAD 2 foi o mais eficiente entre os carvões estudados, seguido dos carvões COCO e MAD 1. No entanto, o carvão MAD 2 apresentou o menor valor para a constante n (0,45), o que sugere que esse carvão tem maior facilidade de desorção e, portanto, é mais sensível aos efeitos externos. Característica que não é adequada para um carvão ativado em pó, pois não há interesse em regenerá-lo após a utilização do mesmo.

Nesse trabalho também foram avaliadas as correlações entre as características dos CAPs (distribuição de tamanho de poros, número de iodo, etc) com os valores obtidos de K e com os valores adsorvidos de 17 $\beta$ -estradiol na concentração de 20mg de CAP/L. Verificou-se que as correlações entre os volumes de microporos e os valores adsorvidos de 17 $\beta$ -estradiol foram as mais significativas e, portanto, as que devem ser ressaltadas. Inclusive porque estas apresentaram coeficientes (aproximadamente 0,70) próximos aos coeficientes das características de CAP diretamente relacionadas aos microporos como a área BET (0,59) e o número de iodo (0,52). Outro ponto observado foi a associação de idéias baseada no peso molecular do 17 $\beta$ -estradiol e no tamanho médio de microporos, abordada no capítulo 5, que reforçou a suposição da maior tendência de adsorção do 17 $\beta$ -estradiol por parte dos microporos.

Assim, com base no conjunto de resultados obtidos, concluiu-se que a adsorção pelos CAPs estudados nesse trabalho foi capaz de remover frações significativas de 17 $\beta$ -estradiol em concentrações bem superiores às encontradas na natureza. Esse fato torna a adição de CAP aos processos de tratamento convencional de água e polimento final de esgoto uma possível estratégia a ser aplicada, pois é capaz de complementar a remoção já existente. Entretanto, pesquisas devem ser realizadas com o objetivo de aprofundar esse tipo de avaliação, contemplando principalmente o aspecto da presença de interferentes. Pois, de acordo com relatos na literatura, essa presença pode reduzir significativamente a capacidade de adsorção, principalmente no caso de carvões com valores de K baixos como os obtidos nesse trabalho, entre 0,03 e 2,52 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ).( $\text{L}/\mu\text{g}$ )<sup>1/n</sup>.

É importante lembrar que trabalhos voltados para remoção de perturbadores endócrinos ainda são pioneiros no Brasil. Portanto, essa pesquisa deve ser entendida como um estudo preliminar que visa, ao mesmo tempo, apresentar dados sobre a capacidade de remoções de carvões nacionais como contribuir, cientificamente, para projetos futuros, ao detalhar os problemas enfrentados durante os ensaios, em particular com a substância p-nonilfenol. Nesse sentido recomenda-se a realização de outros estudos enfatizando os seguintes aspectos:

- Avaliar outros tipos de carvão ativado em pó;
- Prosseguir com os estudos mais detalhados sobre a adsorção no carvão OSSO;

- Realizar novos ensaios, com os carvões apresentados nesse trabalho, aumentando o número de dados com relação aos mesmos;
- Avaliar a interferência de coagulantes e substâncias como o cloro e outros oxidantes, na adsorção dos perturbadores endócrinos pelos CAPs;
- Avaliar a presença de outros interferentes que podem competir com os perturbadores endócrinos no processo de adsorção, utilizando amostras provenientes de efluentes de ETE, corpos receptores e mananciais;
- Analisar a redução da capacidade adsortiva devido à presença de bases; ácidos húmicos e surfactantes que podem causar derivatizações ao interagir com os grupos funcionais dos perturbadores endócrinos e, assim, aumentar a solubilidade destes;
- Avaliar a remoção de outros tipos de perturbadores endócrinos como, por exemplo, a estrona e o bisfenol-A, que também apresentam alto potencial de risco aos seres vivos e elevado valor das concentrações presente em efluentes de ETEs e corpos de água receptores;
- Avaliar a remoção de mais de um perturbador endócrino sob influência de outros perturbadores endócrinos (misturas);
- Prosseguir as pesquisas com o nonilfenol, juntamente com uma avaliação sobre os sais solúveis do mesmo (NPnEOs), já que esses últimos são mais facilmente encontrados na natureza;
- Realizar estudos epidemiológicos para avaliar o potencial de risco dos perturbadores endócrinos à saúde e sugerir valores máximos permitidos para o tratamento de água para abastecimento;
- Avaliar a eficiência na remoção dos perturbadores endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol em outras técnicas menos onerosas, como: filtração lenta; filtração direta e flotação
- Monitorar ocorrência de perturbadores endócrinos em mananciais brasileiros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT (1991). “*EB-2133: Carvão Ativado Pulverizado*”. Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, Brasil, 2p.
- ABNT (1991). “*MB-3410: Carvão Ativado Pulverizado – Determinação do Número de Iodo*”. Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, Brasil, 4p.
- ASTM (2000). “*D4607-94 (Reapproved 99): Standard Test Method for Determination of Iodine Number of Activated Carbon.*” American Society for Testing and Materials, Second Edition. Filadélfia, E.U.A, 53-57.
- ASTM (2000). “*D3860-98: Standard Practice for Determination of Adsorptive Capacity of Activated Carbon by Aqueous Phase Isotherm Technique.*” American Society for Testing and Materials, Second Edition. Filadélfia, E.U.A, 47-49.
- Avancini, E. e Favaretto, J. A. (1997). *Biologia – Uma abordagem evolutiva e ecológica*. Ed. Moderna, vol. 2, São Paulo.
- AWWA (2005). “*AWWA Standard: Powdered Activated Carbon.*” USA, 24p.
- AWWA (2006). “*AWWA Standard: Granular Activated Carbon*”. USA, 36p.
- Azevedo, D. A., Lacorte, S., Viana, P. e Barcelo, D. (2001). “Occurrence of Nonylphenol and Bisphenol-A in Surface Waters from Portugal.” *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **12** (4), 532-537.
- Bansal, R. C. e Goyal, M. (2005). “Activated Carbon and its Surface Structure.” *Activated Carbon Adsorption*. Taylor & Francis Group, USA, 01-65.
- Baronti, C., Curini, R., D'Ascenzo, G., Corcia, A.D., Gentili, A. e Samperi, R. (2000). “Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water.” *Water Science and Technology*, **34**, 5059-5066.
- Barros, M. A. S. D. de e Arroyo, P. A. Capítulo V – Métodos de Remoção de Cromo de Águas Residuais. Disponível em: <[www.icp.csic.es/cyted/Monografias/MonografiasTeneria/capitulov.pdf](http://www.icp.csic.es/cyted/Monografias/MonografiasTeneria/capitulov.pdf)> Acesso em: 01/01/2006, 16:00hs.
- Basheer, C., Lee, H. K. e Tan, K. S. (2004). “Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol-A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore.” *Marine Pollution Bulletin*, **48**, 1145–1167.
- B. CEPPA (2005). Aplicações da tecnologia de membranas no processamento de óleos vegetais. Curitiba, **23** (1).

- Belfroid, A. C., Van der Hors, A., Vethaak, A. D., Schafer, A. J., Rijs, G. B. J., Wegener, J., Cofino, W. P. (1999). "Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in the Netherlands." *Science of the Total Environment*, **225** (1,2), 101–108.
- Bila, M. D. e Dezotti, M. (2003). "Fármacos no meio ambiente." *Química Nova*, **26** (4), 1-9.
- Brady, R. D. (1998). "Activated Carbon Processes." In: Crawford, H. B., Margolies, R., (eds), *Water Treatment Plant Design*. AWWA e ASCE, 3º ed., E.U.A., 377-415.
- Brasil, C. P. (2004). *Avaliação da Remoção de Microcistina em Água de Abastecimento Público por Diferentes Carvões Ativados em Pó Produzidos no Brasil*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH, DM-70/2004, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 114p.
- Carmo, T. F. M. (2004). *Análise do Efeito do 17 $\beta$ -estradiol e do Tamoxifeno em Duas Linhagens Celulares: MCF-7 e RAW 264.7 sobre a Indução de Alterações Cromossômicas*. Dissertação de Mestrado em Patologia Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, DF, 82p.
- Castro, C. M. B. (2002). "Perturbadores Endócrinos Ambientais: Uma Questão a ser Discutida" *Engenharia Sanitária e Ambiental*, **7** (1,2), 4-5.
- César Jr., S. e Sezar, S. (2002). *Biologia 2*. Ed. Saraiva, vol. 3, São Paulo.
- Chang, S., Walte, T. D., Schäfer, A. I. e Fane, A. G. (2002). "Binding of estrone to hollow fibre membranes in microfiltration of solutions containing trace estrone." *Water Science and Technology*, **2** (5,6), 233-239.
- Choi, K. J., Kim, S. G., Kim, C. W. e Kim, S. H. (2005). "Effects of activated carbon types and service life on removal of endocrine disrupting chemicals: amitrol, nonilfenol, e bisfenol A." *Chemosphere*, **58**, 1535-1545.
- Colborn, T., Dumanoski, D. e Myers, J. P. (2002). *O Futuro Roubado*. Tradução: Buchweitz, C., Ed. L&PM, Porto Alegre, 354 p.
- Danish EPA (2003). "Evaluation of Analytical Chemical Methods Detection of Estrogens in the Environment". Nº 44.
- Desbrow, C., Routledge, E.J., Brighty, G.C., Sumpter, J.P., Waldock, M. (1998). "Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening." *Environmental Science Technology*, **32**, 1549–1558.

- Edzwald, J. K. e Tobiason, J. E. (1999). "Enhanced coagulation: US requirements and a broader view." In: *Water Science and Technology*, **40** (9), 63-70.
- EPA (1999). "Enhanced coagulation and enhanced precipitative: softening guidance manual." EPA/815/R-99/012. May 1999.
- EPA (2001). "Removal of Endocrine Disruptor Chemicals Using Drinking Water Treatment Processes." EPA/625/R-00/015. March 2001.
- Fries, E. e Püttmann W. (2004). "Occurrence of 4-Nonylphenol in rain and snow." *Atmospheric Environment*, **38**, 2013-2016.
- Fukuhara, T., Iwasaki, S., Kawashima, M., Shinohara, O., Abe, I. (2006). "Adsorbability of estrona and 17 $\beta$ -estradiol in water onto activated carbon." *Water Research*, **40**, 241-248.
- Furuichi, T., Kannan, K., Giesy, J. P. e Masunaga, S. (2004). "Contribution of known endocrine disrupting substances to the estrogenic activity in Tama River water samples from Japan using instrumental analysis and in vitro reporter gene assay." *Water Research*, **38** (20), 4491-4501.
- Gallenkemper, M., Wintgens, T. e Melin, T. (2003) "Nanofiltration of endocrine disrupting compounds." *Water Science and Technology*, **3** (5,6), 321-327.
- Guido, M. C. (2005). Característica dos hormônios. Disponível em: <[http://www.mcguido.vet.br/caracteristicas\\_dos\\_hormonios.htm](http://www.mcguido.vet.br/caracteristicas_dos_hormonios.htm)> Acesso em: 30/11/2005, 11:30hs.
- Guimarães, J. R. P. F. (2005). "Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional." *ACPO - Associação de Combate aos Poluentes e Consciência à Prevenção Ocupacional*. Disponível em: <[http://www.acpo.org.br/biblioteca/03\\_interferentes\\_hormonais/joao\\_roberto.pdf](http://www.acpo.org.br/biblioteca/03_interferentes_hormonais/joao_roberto.pdf)> Acesso em: 30/11/2005, 11:44hs.
- Japan EnviroChemicals ECOLOGIENA Series for Environment Pollutants. Disponível em: <<http://www.jechem.co.jp/eco/index-e.html>> Acesso em: 5/12/2005, 12:00hs.
- Johnson A. C., Williams R.J. e Ulahannan T. (1999) Comment on " Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening." *Environmental Science Technology*, **33** (2), 369-370.
- Kawamura, S. (2000). *Integrated Design and Operation of Water Treatment Facilities*, John Wiley e Sons, E.U.A., 2<sup>o</sup> ed., 691p.

- Kolpin, D.W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B. e Buxton, H. T. (2002). "Pharmaceuticals, hormones, other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance." *Environmental Science Technology*, **36** (6), 1202-1221.
- Komori, K., Okayasu, Y., Yasojima, M., Suzuki, Y. e Tanaka, H. (2006) "Occurrence of Nonylphenol, Nonylphenol Ethoxylate Surfactants e Nonylphenol Carboxylic Acids in Wastewater in Japan." *Water Science & Technology*, **53** (11), 27-33.
- Kuch, H.M. e Ballschmiter, K. (2001). "Endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NC l)-MS in the picogram per liter range. " *Environmental Science Technology*, **35** (15), 3201–3206.
- Kümmerer, K. (2001) "Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review" *Chemosphere*, **45**, 957–969.
- Larsson, D. G. J., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Petterson, M., Berg, A. H., Olsson, P.E., Forlin, L. (1999). "Ethinylestradiol - an undesired fish contraceptive?" *Aquatic Toxicology*, **45** (2), 91–97.
- Lee, B., Kamata, M., Akatsuka, Y., Takeda, M., Ohno, K., Kamel, T. e Magara, Y. (2004). "Effects of chlorine on the decrease of estrogenic chemicals." *Water Research*, **38**, 733-739.
- Masschelein, W. J. (1992). "Adsorption." In: Marcel Dekker (ed.) *Unit Processes in Drinking Water Treatment*. Nova Iorque, E.U.A., 321-363.
- Meyer, A., Sarcinelli, P. N. e Moreira, J. C. (1999). "Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação de disruptores endócrinos?" *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, **15** (4), 845-850.
- Nghiem, L. D., Manis, A., Soldenhoff, K. e Schäfer, A. I., (2004). "Estrogenic hormone removal from wastewater using NF/RO membranes." *Journal of Membrane Science*, **242**, 37-45.
- Nogueira, J. M. F. (2003). "Desreguladores Endócrinos: Efeitos Adversos e Estratégias para Monitorização dos Sistemas Aquáticos." *Química*, **88**, 65-71.
- Paune, F., Caixach, J., Espadaler, I., Om, J. e Rivera, J. (1998). "Assessment on the Removal of Organic Chemicals from Raw and Drinking Water at a Llobregat River Water Works Plant Using GAC." *Water Research*, **12** (11), 3313-3324.

- Programa Scifinder Scholar - Base de Dados da Biblioteca Central da Universidade de Brasília (BCE). Acesso em: 21/04/06, 11:00hs. Disponível em: <[http://www.bce.unb.br/principal/conteudo.php?tipo\\_informacao=8&codigo=226](http://www.bce.unb.br/principal/conteudo.php?tipo_informacao=8&codigo=226)>.
- Queiroz, S. C. N., Collins, C. H., Jardim, I. C. S. F. (2000). “Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica.” *Química Nova*, **24** (1), 68-76.
- Química Amparo Ltda – Ypê produtos de qualidade. Disponível em: <<http://www.ype.ind.br>> Acesso em:27/04/06,10:00hs
- Routledge, E. J, Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G. C., Waldock, M. e Sumpter, J. P. (1998). “Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. In Vivo Responses in Trout and Roach.” *Environmental Science Technology*, **32** (11), 1559-1565.
- Rudder, J. de, Wiele, T. Van de, Dhooge, W., Comhaire, F. e Verstraete, W. (2004). “Advanced water treatment with manganese oxide for the removal of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2).” *Water Research*, **38**, 184-192.
- Schneider, R. P. e Tsutiya, M. T. (2001). *Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reúso*. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, São Paulo, Brasil, 234p.
- Silva, A. S. (2005a). *Avaliação da Capacidade de Remoção de Saxitoxinas por Diferentes Tipos de Carvão Ativado em Pó (CAP) Produzidos no Brasil*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM – 083/05, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 115p.
- Silva, A. S. (2005b). “Interferentes hormonais”. *ACPO - Associação de Combate aos Poluentes e Consciência à Prevenção Ocupacional*. Acesso em: 30/11/2005, 12:07hs. Disponível em: <[http://www.acpo.org.br/biblioteca/03\\_interferentes\\_hormonais/agnes\\_soares.pdf](http://www.acpo.org.br/biblioteca/03_interferentes_hormonais/agnes_soares.pdf)>
- Smith, P e Samuelsen, O. B. (1996). “Estimates of rates of resolution of oxytetracycline from sediments under Atlantic salmon cages.” *Aquaculture*, **144**, 17-26.
- Snape, J.B., Nakajima, M. (1996). “Processing of agricultural fats and oils using membrane technology.” *Journal of Food Engineering*, **30** (1, 2), 1-41.
- Snoeyink, V. L., (1990). “Adsorption of organic compounds.” In: O’Connell, C., Hager, L. (eds), *Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies*, Mc Graw Hill Companies, Nova Iorque, E.U.A., 4° ed., 781-867.

- Sonnenschein, C. e Soto, A. M. (1998). “An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists.” *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **65**, 143–150.
- Soto, A. M. e Sonnenschein, C. (2002). “Disruptores endócrinos: una historia muy personal y con múltiples personalidades.” *Gaceta Sanitaria*, Barcelona, **16** (3), 209-211.
- Teixeira, V. G., Coutinho, F. M. B. e Gomes, A. (2001), “Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas a base de divinilbenzeno”. *Química Nova*, **24** (6), 808-818.
- Ternes, T. A., Stüber J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M. e Teiser, B. (2003) “Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater?” *Water Research*, **37**, 1976-1982.
- Ternes, T. A., Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R. D. e Servos, M. (1999) “Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil.” *The Science of the Total Environment*, **225**, 81-90.
- University of Kentucky. Center for Applied Energy Research – History of Carbon. Disponível em: <<http://www.caer.uky.edu/carbon/history/carbonhistory.shtml>> Acesso em: 27/12/2005, 19:30hs..
- Vieno, N., Tuhkanen, T. e Kronberg, L. (2006). “Removal of Pharmaceuticals in Drinking Water Treatment: Effect of Chemical Coagulation.” *Environmental Technology*, **27** (2), 183-192.
- Weber, S., Gallenkemper, M., Melin, T., Dott, W. e Hollender, J. (2004). “Efficiency of nanofiltration for the elimination of steroids from water.” *Water Science and Technology*, **50** (5), 9-14.
- Wintgens, T., Gallenkemper, M. e Melin, T. (2004) “Removal of endocrine disrupting compounds with membrane processes in wastewater treatment and reuse.” *Water Science and Technology*, **50** (5), 1-8.
- Xelegati, R. e Robazzi, M. L. C. C. (2003) “Riscos químicos a que estão submetidos os trabalhadores de enfermagem: uma revisão de literatura.” *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, Ribeirão Preto, **11**(3), 350-356.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A. e Esparza, M. (2003) “HPLC-fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17 $\beta$ -estradiol, and 17 $\alpha$ -ethynyl estradiol on powdered activated carbon.” *Water Research*, **37**, 3530-3537.

Zhang, Y. e Zhou, J. L. (2005) "Removal of estrone and 17 $\beta$ -estradiol from water by adsorption." *Water Research*, **39**, 3991-4003.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A – CARACTERÍSTICAS DOS CAPs E DOS KITs ELISA

### A.1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS DIFERENTES CAPs

Tabela A.1 – Características gerais dos diferentes CAPs estudados (Silva, 2005 - modificado).

CAP	Nº de iodo (mg/g)	Índice de azul de metileno (mg/g)	Tipo de isoterma (*)	Histerese	Área BET (m <sup>2</sup> /g)
COCO	748	124	I	H3	739,7
OSSO	93	50	II		127,5
MAD-1	759	120	I		721,6
MAD-2	592	103	I		631,0

(\*) Classificação segundo as isotermas propostas por Brunauer *et al.* (1940) *apud* Teixeira *et al.* (2001).

### A.2 – VOLUME E DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DOS POROS DOS CAPs

Tabela A.2 – Volume e distribuição do tamanho dos poros para os diferentes CAPs estudados (Silva, 2005 - modificado).

CAP	Volume de poros (cm <sup>3</sup> /g)	Distribuição do tamanho dos poros cm <sup>3</sup> /g(%)				
		microporos			mesoporos	macroporos
		Prim.	Sec.	Total		
COCO	0,95	0,47	0,21	0,68 (71,4%)	0,19 (20,0%)	0,08 (8,6%)
OSSO	0,40	0,05	0,02	0,06 (16,0%)	0,20 (50,0%)	0,14 (34,0%)
MAD-1	0,69	0,36	0,15	0,51 (73,3%)	0,15 (22,3%)	0,03 (4,4%)
MAD-2	0,68	0,39	0,18	0,57 (83,5%)	0,10 (14,0%)	0,02 (2,5%)

### A.3 – GRANULOMETRIA DOS CAPs

Tabela A.3 – Granulometria dos carvões fornecida pelos fabricantes (Silva, 2005).

Granulometria – percentagem que passa (%)			
Peneira (abertura)	# 100 150µm	# 200 75µm	# 325 45µm
COCO	NI	NI	NI
OSSO	NI	NI	88,00
MAD 1	99,42	99,04	95,80
MAD 2	99,90	99,48	96,71

NI: Não informado pelo fabricante

#### A.4 – INFORMAÇÕES FORNECIDAS PELOS KITS ELISA

Tabela A.4 – Principais componentes que causam reações cruzadas.

Kit ELISA	Composto	Reatividade (%)	Composto	Reatividade (%)
17 $\beta$ -estradiol	Estrona (E1)	1,3	Cis -Androsterona	<0,03
	2-metoxi-E1	<0,4	Trans-Androsterona	<0,03
	E1-3-sulfato	1,0	Colesterol	<0,03
		100,0	Dehidroisoandrosterona	0,46
		16,0	5 $\alpha$ -dihidrotestosterona	<0,03
	17 $\beta$ -estradiol (E2)	2,0	Hidrocortisona	
	16-ceto-E2	<0,4	Pregnenolona	0,38
	2-metoxi-E2	16,0	Testosterona	0,38
		<0,4		0,35
	17-E2-glucuronide			<0,03
	3-E2-glucuronide	0,6		
	E2-3-sulfato-17	0,5		
		<0,4		
	Estriol (E3)			
16-epi-E3				
16-E3-glucuronide				
nonilfenol	Nonilfenol (NP)	100	Nonilfenol	0,5 a 3,8
	Octilfenol (OP)	96	Ácido Acético (NPnEC)	
		1,2 a 4,9	Surfactantes aniônicos	<0,1
	Nonilfenol			
	Etoxilato (NPnEO)	2,9		
	Octilfenol Etoxilato (OPnEO)			

## APÊNDICE B – RESULTADOS OBTIDOS PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs COM RELAÇÃO AO 17 $\beta$ -ESTRADIOL.

### B.1 – VALORES RESIDUAIS DO 17 $\beta$ -ESTRADIOL NO EXPERIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ADSORTIVA DOS CAPs

Tabela B.1 – Valores residuais do 17 $\beta$ -estradiol em  $\mu\text{g/L}$  obtidos nos experimentos.

<b>COCO</b>				
Dosagem de CAP (mg/L)	Exp. 1	Exp. 2 (IV)	Média (III)	Desvio
0	0,98	0,50(I)	-	-
3	0,89(I)	0,07(I)		
5	0,55	0,50		
10	0,25	0,37		
15	0,28	0,29		
20	0,20	0,25		
<b>OSSO</b>				
Dosagem de CAP (mg/L)	Exp. 1	Exp. 2 (IV)	Média	Desvio
0	0,72	0,00 (I)	-	-
3	0,64	0,02 (I)		
5	0,29 (I)	> 1,00 (II)		
10	0,39	0,50		
15	0,01	0,18		
20	0,00	0,08		
<b>MAD 1</b>				
Dosagem de CAP (mg/L)	Exp. 1 (IV)	Exp. 2	Média	Desvio
0	> 1,0 (II)	1,00	-	-
3	0,62	0,77		
5	0,70	0,63		
10	0,62	0,48		
15	> 1,00 (II)	0,40		
20	> 1,00 (II)	0,24		
<b>MAD 2</b>				
Dosagem de CAP (mg/L)	Exp. 1	Exp. 2	Média	Desvio
0	0,98	0,87	0,93	0,08
3	0,30	0,33	0,32	0,02
5	0,01 (I)	0,27	0,27	-
10	0,22	0,95 (I)	0,22	-
15	0,18	0,16	0,17	0,01
20	0,13	0,18	0,16	0,04

(I) Valores descartados por não apresentarem a tendência relativa dos demais resultados.

(II) Valores descartados por não apresentarem resultados dentro do intervalo de detecção do ELISA.

(III) Média aritmética dos valores obtidos nos dois experimentos ou o valor mais coerente de ambos.

(IV) Experimentos descartados por não apresentarem concentração inicial.

**B.2 – CONCENTRAÇÃO RESIDUAL DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL ( $C_e$ ) E MASSA DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL ADSORVIDA POR UNIDADE DE CARVÃO ( $q_e$ )**

Tabela B.2 – Valores de  $C_e$  e  $q_e$  utilizados para traçar os ajustes aos modelos de isotermas Freundlich e Langmuir.

<b>COCO</b>						
<b>Dosagem de CAP (mg/L)</b>	<b>Experimento 1</b>					
	$C_e$ ( $\mu\text{g/L}$ )			$q_e$ ( $\mu\text{g/mg}$ )		
0	0,98			-		
3	-			-		
5	0,55			0,09		
10	0,25			0,07		
15	0,28			0,05		
20	0,20			0,04		
<b>OSSO</b>						
<b>Dosagem de CAP (mg/L)</b>	<b>Experimento 1</b>					
	$C_e$ ( $\mu\text{g/L}$ )			$q_e$ ( $\mu\text{g/mg}$ )		
0	0,72			-		
3	0,64			0,03		
5	-			-		
10	0,39			0,03		
15	0,01			0,05		
20	0,00			0,04		
<b>MAD 1</b>						
<b>Dosagem de CAP (mg/L)</b>	<b>Experimento 2</b>					
	$C_e$ ( $\mu\text{g/L}$ )			$q_e$ ( $\mu\text{g/mg}$ )		
0	1,00			-		
3	0,77			0,08		
5	0,63			0,07		
10	0,48			0,05		
15	0,40			0,04		
20	0,24			0,04		
<b>MAD 2</b>						
<b>Dosagem de CAP (mg/L)</b>	<b>Experimento 1</b>		<b>Experimento 2</b>		<b>Valores Médios</b>	
	$C_e$ ( $\mu\text{g/L}$ )	$q_e$ ( $\mu\text{g/mg}$ )	$C_e$ ( $\mu\text{g/L}$ )	$q_e$ ( $\mu\text{g/mg}$ )	$C_e$ ( $\mu\text{g/L}$ )	$q_e$ ( $\mu\text{g/mg}$ )
0	0,98	-	0,87	-	0,93	-
3	0,30	0,23	0,33	0,18	0,32	0,20
5	-	-	0,27	0,12	0,27	0,13
10	0,22	0,08	-	-	0,22	0,07
15	0,18	0,05	0,16	0,05	0,17	0,05
20	0,13	0,04	0,18	0,03	0,16	0,04

### B.3 – PERCENTAGEM DE REMOÇÃO DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL

Tabela B.3 – Percentagem de remoção de 17 $\beta$ -estradiol.

Dosagem de CAP (mg/L)	COCO	OSSO	MAD 1	MAD 2	MAD 2	MAD 2
	Exp. 1	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2	Média
3	-	11	23	69	62	66
5	44	-	37	-	69	71
10	74	46	52	78	-	77
15	71	99	60	82	82	82
20	80	100	76	87	79	83

### B.4 – MASSA DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL MÁXIMA ADSORVIDA POR UNIDADE DE CARVÃO ( $q_e$ máx)

Tabela B.4 – Massa de 17 $\beta$ -estradiol máxima adsorvida por unidade de carvão ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ).

CAP	Modelo de Freundlich			Modelo de Langmuir		
	Exp. 1	Exp. 2	Média	Exp. 1	Exp. 2	Média
COCO	0,13	-	-	0,23	-	-
OSSO	0,03	-	-	0,03	-	-
MAD 1	-	0,09	-	-	0,12	-
MAD 2	1,97	1,30	2,16	-0,13	-0,08	-0,07

### B.5 – VALORES DOS COEFICIENTES $n$ E $K$ DO MODELO DE FREUNDLICH

Tabela B.5 – Valores dos coeficientes  $n$  e  $K$  do modelo de Freundlich.

CAP	$n$			$K$		
	Exp. 1	Exp. 2	Média	Exp. 1	Exp. 2	Média
COCO	1,53	-	-	0,13	-	-
OSSO	-8,12	-	-	0,03	-	-
MAD 1	-	1,47	-	-	0,09	-
MAD 2	0,50	0,48	0,45	2,06	1,73	2,52

## B.6 – VALOR DO COEFICIENTE *b* DO MODELO DE LANGMUIR

Tabela B.6 – Valor do coeficiente *b* do modelo de Langmuir

CAP	b		
	Experimento 1	Experimento 2	Média
COCO	1,14	-	-
OSSO	-260,99	-	-
MAD 1	-	1,68	-
MAD 2	-1,84	-1,99	-2,40

## B.7 – VALORES DE pH E TEMPERATURA REGISTRADOS DURANTE OS EXPERIMENTOS

Tabela B.7.1 – Valores de temperatura registrados durante os experimentos (°C).

Instante	COCO		OSSO		MAD 1		MAD 2	
	Sala (*)	Líquido (**)	Sala	Líquido	Sala	Líquido	Sala	Líquido
<b>Experimento 1</b>								
Inicial	23,4	23,4	23,6	24,3	23,5	23,0	23,8	23,4
Com 2 horas	23,9	21,6	23,3	21,8	23,8	22,0	22,8	21,0
Final	23,6	21,0	23,3	21,0	23,6	21,0	22,6	20,0
Média	23,6	22,0	23,4	22,4	23,6	22,0	23,1	21,5
Desvio Padrão	0,3	1,2	0,2	1,7	0,2	1,0	0,6	1,7
<b>Experimento 2</b>								
Inicial	23,6	21,0	23,1	20,8	23,1	21,0	23,0	19,8
Com 2 horas	23,3	20,8	23,5	20,5	22,9	20,3	22,5	19,0
Final	23,9	21,0	23,9	20,8	22,9	20,0	22,9	18,6
Média	23,6	20,9	23,5	20,7	23,0	20,4	22,8	19,1
Desvio Padrão	0,3	0,1	0,4	0,2	0,1	0,5	0,3	0,6

(\*) Medida realizada com termômetro digital permanente no interior da sala climatizada.

(\*\*) Medida da temperatura do líquido, água deionizada, realizada com termômetro de bulbo de mercúrio colocado dentro de um recipiente ao lado do equipamento de jar test, ao longo de todo o experimento.

Tabela B.7.2 – Valores de pH registrados durante os experimentos.

<b>COCO</b>				
<b>Dosagem de CAP (mg/L)</b>	<b>Experimento 1</b>		<b>Experimento 2</b>	
	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final
0	5,6	5,4	5,6	5,5
3		5,1		5,2
5		4,9		5,0
10		4,8		4,8
15		4,9		4,5
20		5,4		4,3
<b>OSSO</b>				
0	5,5	5,3	5,8	5,6
3		5,4		5,4
5		5,5		5,5
10		5,4		5,5
15		5,6		5,6
20		6,1		5,6
<b>MAD 1</b>				
0	5,6	5,5	5,4	5,4
3		5,1		5,1
5		4,7		4,9
10		4,4		5,4
15		4,3		6,0
20		4,2		6,4
<b>MAD 2</b>				
0	6,0	5,3	4,5 (*)	5,5
3		5,2		5,1
5		5,1		4,9
10		4,9		4,8
15		5,0		4,7
20		5,3		4,8

(\*) Medida com provável erro experimental de leitura.

## B.8 – DIMENSÕES DOS PRINCIPAIS COMPONENTES MICROSCÓPICOS E MOLECULARES PRESENTES EM ÁGUAS NATURAIS E TIPOS DE MEMBRANAS UTILIZÁVEIS PARA A SUA SEPARAÇÃO.

	Microscopia de força atômica	Microscópio eletrônico		Microscópio ótico		Visível a olho nu		
	Matéria dissolvida		Colóides		Matéria suspensa			
	Íons	Moléculas	Macromoléculas	Micropartículas	Macropartículas			
Peso molecular [D] <sup>a</sup>	100	1000	10000	100000				
Tamanho [µm] <sup>b</sup>	0,001	0,01	0,1	1	10	100	1000	
Dimensão do soluto ou da partícula								
Processo de separação de membranas <sup>c</sup>								
Processo de separação físico-químico								
Processo de separação com troca de fase								
Processo de separação química								

<sup>a</sup> D: Dalton: medida de peso molecular e um D corresponde ao peso de um átomo de hidrogênio.

<sup>b</sup> µm;  $1 \times 10^{-6}$  m

<sup>c</sup> RO: osmose reversa; NF: nanofiltração; UF: ultrafiltração e MF: microfiltração.

Figura B.1 – Dimensões dos principais componentes microscópicos e moleculares presentes em águas naturais e tipos de membranas utilizáveis para a sua separação (Schneider e Tsutiya, 2001).

**B.9 – CORRELAÇÕES OBTIDAS ENTRE AS CARACTERÍSTICAS DOS CAPs E A CONCENTRAÇÃO ADSORVIDA DE 17 $\beta$ -ESTRADIOL E O VALOR DE K**

Tabela B.8 - Correlações obtidas entre as características dos CAPs e a concentração adsorvida de 17 $\beta$ -estradiol na dosagem de 20mg de CAP/L e o valor de K.

Carvões	Microporos			Mesoporos	Macroporos	Volume de poros (cm <sup>3</sup> /g)	Área BET (m <sup>2</sup> /g)	Número de iodo (mg/g)
	Primário	Secundário	Total					
<b>COCO</b>	0,47	0,21	0,68	0,19	0,08	0,95	739,7	748
<b>OSSO</b>	0,05	0,02	0,07	0,20	0,14	0,40	127,5	93
<b>MAD1</b>	0,36	0,15	0,51	0,15	0,03	0,69	721,6	759
<b>MAD2</b>	0,39	0,18	0,57	0,10	0,02	0,68	631,0	592
<b>Concentração 17<math>\beta</math>-estradiol Adsorvido (*)</b>	<b>Correlação entre características dos CAP e a concentração adsorvida de 17<math>\beta</math>-estradiol</b>							
0,78	0,68	0,70	0,69	-0,86	-0,77	0,45	0,59	0,51
0,72								
0,76								
0,85								
<b>K</b>	<b>Correlação entre características dos CAP e o valor de K</b>							
0,13	0,30	0,33	0,31	-0,88	-0,59	0,03	0,21	0,12
0,03								
0,09								
2,52								

(\*) Valor obtido por meio da diferença entre a concentração de 17 $\beta$ -estradiol inicial na amostra e o residual encontrado na dosagem de 20mg de CAP/L.