

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
QUÍMICA DE MINAS GERAIS**

**Avaliação da eficiência de remoção do hormônio 17α -
etinilestradiol (EE2) em águas utilizando como
biossorvente um resíduo agroindustrial**

Alley Michael da Silva Procópio

Itajubá, fevereiro de 2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
QUÍMICA DE MINAS GERAIS**

Alley Michael da Silva Procópio

**Avaliação da eficiência de remoção do hormônio 17 α -
etinilestradiol (EE2) em águas utilizando como
biossorvente um resíduo agroindustrial**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-
Graduação Multicêntrico em Química como parte
dos requisitos para obtenção do Título de Mestre
em Química.

Área de concentração: Química

Orientador: Prof. Dr. Sandro José de Andrade

Coorientador: Prof. Dr. Flávio Soares Silva

Fevereiro de 2017
Itajubá

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
QUÍMICA DE MINAS GERAIS**

Alley Michael da Silva Procópio

**Avaliação da eficiência de remoção do hormônio 17 α -
etinilestradiol (EE2) em águas utilizando como
biossorvente um resíduo agroindustrial**

Dissertação aprovada por banca examinadora em 20 de fevereiro de 2017, conferindo ao autor o título de **Mestre em Química em nome do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química.**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sandro José de Andrade (Orientador)

Prof. Dr. Flávio Soares Silva (Coorientador)

Prof.^a Dr.^a Maria Elena Leyva González

Prof.^a Dr.^a Adelir Aparecida Saczk

**Itajubá
2017**

*Com muito amor, carinho e orgulho;
dedico esse trabalho ao meu querido e saudoso pai!*

Agradecimentos

À Deus pela vida, sabedoria e saúde.

Aos professores Drs. Sandro José de Andrade e Flávio Soares Silva pela dedicação, apoio, compreensão, orientação e co-orientação segura e eficiente neste trabalho.

Aos amigos e amigas da analítica pelo apoio e amizade.

Aos técnicos dos laboratórios didáticos de química da UNIFEI, os quais foram muito prestativos e educados.

À CAPES, pelo suporte financeiro para a pesquisa e realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Itajubá por ceder todo o suporte físico para realização deste trabalho.

À todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização e conclusão deste.

Epígrafe

*“Dinheiro vai mas fica a dignidade, igual meu pai
preservo minha honestidade*

*Com meu trabalho minha história eu construí, tem
recalcado querendo me destruir
Me julgue, prova, aponta ai um rastro meu. Falar de
mim é fácil, o difícil é ser eu.*

*Mas eu não quero voar alto e também nem tão rasante
Eu quero voar no meio pra poder voar bastante
Não quero sua derrota nem quero te ver caído
Eu quero você de pé pra te ver me aplaudindo*

A luta continua, mas conquistei meu espaço”

(Andrezinho Shock)

Resumo

O uso insustentável do principal recurso natural do planeta, a água, intensifica-se gradativamente, inclusive com o avanço e evolução dos recursos tecnológicos para a produção de diversos compostos químicos sintéticos. Muitas dessas substâncias, conhecidas como contaminantes emergentes (CE), são descartadas na natureza sem o devido tratamento e podem causar malefícios à fauna e/ou à flora. Dentre os CE, encontra-se uma classe de substâncias que vem recebendo especial atenção por serem capazes de desregular e afetar as funções do sistema endócrino (SE), sendo chamadas de interferentes endócrinos (IE). O 17α -etinilestradiol (EE2), analito alvo deste presente trabalho, é exemplo importante dessa classe. Esse composto, isoladamente ou combinado, é utilizado para reposição hormonal na menopausa e na fabricação das principais pílulas anticoncepcionais disponíveis no mercado. Estudos apontam a correlação entre a presença de IE no sistema de abastecimento de água e o desenvolvimento de algumas doenças como câncer de mama, de testículos, de próstata e disfunções neurológicas. As técnicas de tratamento de esgotos geralmente utilizadas não são suficientes para remover de maneira satisfatória essa substância. Diante disso, o desenvolvimento de métodos alternativos e sustentáveis torna-se imprescindível. As técnicas de adsorção mostram-se viáveis no tratamento de águas contaminadas, e os biossorventes, resíduos agroindustriais biodegradáveis, possuem diversas vantagens, dentre elas o baixo custo, a robustez, a facilidade de utilização e aplicação, alta eficiência e são geralmente encontrados em abundância na natureza. Dentro desse contexto, desenvolveu-se uma metodologia analítica para a remoção desse IE em águas utilizando resíduo agroindustrial (casca de amendoim) como biossorvente. A técnica cromatográfica utilizada foi a High Performance Liquid Chromatography (HPLC) com detector de fluorescência (FLD), otimizada e validada de acordo com as figuras de mérito (seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação, robustez). Um planejamento de experimento foi montado para a verificação da capacidade adsorptiva das cascas de amendoim, do qual foram avaliados 3 parâmetros (agitação, pH e massa de adsorvente) em 3 níveis. A melhor condição experimental encontrada foi de 2 g de adsorvente, pH = 6 e agitação de 500 rpm. Nessa condição à 24 horas, obteve-se uma remoção de 90% aproximadamente. Através do estudo da cinética de adsorção, o modelo cinético de pseudo-segunda ordem foi o que melhor representou os dados experimentais. No estudo físico-químico de adsorção, a isoterma de Freundlich melhor ajustou-se aos dados de equilíbrio. A partir dos parâmetros termodinâmicos de adsorção (ΔG° , ΔH° e ΔS°) e da energia de ativação (E_a) do processo de adsorção, observou-se que o processo adsorptivo foi de natureza exotérmica e de caráter físico, desfavorável e não-espontâneo termodinamicamente nas temperaturas estudadas. Contudo, a remoção do EE2 por cascas de amendoim, apresentou resultados satisfatórios, podendo este ser empregado como alternativa para tratamento de águas.

Palavras-chave: interferentes endócrinos, hormônio sintético, biossorvente, adsorção, remoção, cromatografia.

Abstract

The unsustainable use of the planet's main natural resource, water, gradually intensifies, even with the advancement and evolution of technological resources for the production of several synthetic chemical compounds. Many of these substances, known as emerging contaminants (EC), are discarded in nature without proper treatment and can cause detriments to the fauna and/or flora. Among the EC, there is a class of substances that have received special attention because they are able to deregulate and affect functions of the endocrine system (ES), being called endocrine interferers (EI). The 17α -ethinylestradiol (EE2), the target analyte of this present work, is an important example of this class. This compound, singly or combined, is used for hormone replacement during menopause and in the manufacture of the major contraceptive pills available on the market. Studies point to the correlation between the presence of IE in the water supply system and the development of some diseases such as breast cancer, testis, prostate cancer and neurological dysfunctions. The generally used sewage treatment techniques are not sufficient to satisfactorily remove this substance. Given this, the development of alternative and sustainable methods becomes essential. Adsorption techniques are feasible in the treatment of contaminated waters, and biosorbents, biodegradable agroindustrial wastes, have several advantages, among them low cost, robustness, ease of use and application, high efficiency and are generally found in abundance in nature. Within this context, an analytical methodology was developed for the removal of this EI in waters using agroindustrial waste (peanut shell) as biosorbent. The chromatographic technique used was High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with fluorescence detector (FLD), optimized and validated according to the figures of merit (selectivity, linearity, precision, accuracy, detection and quantification limits, robustness). An experimental design was set up to verify the adsorptive capacity of the peanut shells, from which 3 parameters (agitation, pH and adsorbent mass) were evaluated in 3 levels. The best experimental condition was 2 g of adsorbent, pH = 6 and agitation of 500 rpm. In this condition at 24 hours, approximately 90% removal was obtained. By the adsorption kinetics study, the kinetic model of pseudo-second order was the one that best represented the experimental data. In the physical-chemical adsorption study, the Freundlich isotherm was best fit the equilibrium data. From the thermodynamic parameters of adsorption (ΔG° , ΔH° and ΔS°) and the activation energy (E_a) of the adsorption process, it was observed that the adsorptive process presented nature exothermic and physical character, unfavorable and non-spontaneous thermodynamically, at temperatures studied. However, the removal of EE2 by peanut shells, presented satisfactory results, which could be used as an alternative for water treatment.

Key words: Endocrine disruptors, synthetic hormone, biosorbent, adsorption, removal, chromatography.

Lista de Figuras

Figura 1 – O sistema endócrino humano. (a) feminino, (b) masculino	21
Figura 2 – Estrutura básica dos esteroides	24
Figura 3 – Estrutura molecular do hormônio sintético EE2	24
Figura 4 – Disfunções endócrinas: a) resposta natural, b) efeito agonista, c) efeito antagonista	26
Figura 5 – Rotas e vias de contaminação dos IE	30
Figura 6 – Esquema do processo de adsorção (adsorvato, adsorvente e adsortivo)	32
Figura 7 – Etapas do processo de adsorção	35
Figura 8 – Isotermas de adsorção classificadas por Brunauer <i>et al.</i> (1940)	40
Figura 9 – Isotermas de adsorção	41
Figura 10 – Isotermas típicas que descrevem a sorção de compostos orgânicos em água e por adsorventes naturais	44
Figura 11 – Tipos de biomassas empregadas como biossorventes	47
Figura 12 – Experimentos em um projeto com duas e três variáveis	58
Figura 13 – Representação gráfica do modelo Box-Behnken	59
Figura 14 – Cromatograma do EE2 (A), cromatograma relacionado a fase móvel (B) e cromatograma relacionado as cascas de amendoim em solução aquosa por 24h (C)	68
Figura 15 – Curva analítica para a determinação do EE2	69
Figura 16 – Limite de detecção pela relação sinal/ruído (3:1)	72
Figura 17 – Limite de quantificação pela relação sinal/ruído (10:1)	73
Figura 18 – Matriz X de contraste com 15 (experimentos) linhas e 10 (coeficientes - a, b, c, d, e, f, g, h, i, j) colunas (15:10)	75
Figura 19 – Matriz X^T com 10 linhas e 15 colunas (10:15)	75
Figura 20 – Resultado da multiplicação $(X^T X)^{-1}$ (10:10)	76
Figura 21 – Diagrama de Pareto em função dos valores da estatística de teste t-Student resultante do modelo Box-Behnken	77
Figura 22 – Diagrama de Pareto em função dos valores dos efeitos estimados pelo modelo proposto	78
Figura 23 – Valores experimentais em função dos valores previstos pelo modelo proposto ...	82
Figura 24 – Valores previstos em função dos resíduos do modelo proposto	82

Figura 25 – Gráfico das Médias Marginais dos experimentos	83
Figura 26 – Taxa de remoção do EE2	85
Figura 27 – Superfícies de resposta e curvas de nível da taxa de remoção do hormônio EE2 em função das variáveis (massa, pH, agitação) utilizadas no planejamento de experimento ..	86
Figura 28 – Modelos cinéticos: pseudo-primeira ordem (A) e pseudo-segunda ordem (B) para adsorção do EE2 pela casca de amendoim	88
Figura 29 – Estudo cinético de adsorção à temperaturas de 36, 56 e 66°C	89
Figura 30 – Modelo cinético pseudo-segunda ordem linearizada para adsorção do EE2 pela casca de amendoim nas temperaturas 36, 56 e 66°C	90
Figura 31 – Energia de ativação do processo de adsorção nas temperaturas 36, 56 e 66°C	91
Figura 32 – Quantidade de adsorvato retido no adsorvente no equilíbrio (q_e) em função da concentração de equilíbrio do soluto em solução nas temperaturas de 33, 53 e 60°C	93
Figura 33 – Linearização das isotermas estudadas à temperaturas de 33, 53 e 60°C	94
Figura 34 – Regressão linear de $\ln q_e$ versus $\ln C_e$ à temperaturas de 33, 53 e 60°C para a determinação dos K_d	96
Figura 35 – Regressão linear de $\ln K_d$ versus T^{-1} à temperaturas de 33, 53 e 60°C para a determinação dos parâmetros ΔH° e ΔS° de adsorção	97
Figura 36 – Espectros de absorção na região do infravermelho do EE2 (A), do adsorvente após o processo de adsorção (B) e do adsorvente <i>in natura</i> (C)	98
Figura 37 – Micrografias eletrônica de varredura aumentada 2.000 vezes da região analisada para as cascas de amendoim. a) <i>in natura</i> ; b) após o processo de adsorção	99
Figura 38 – Espectros de EDS das cascas de amendoim. a) <i>in natura</i> ; b) após o processo de adsorção	100

Lista de Quadros

Quadro 1 – Classes de contaminantes emergentes	19
Quadro 2 – Lista de substâncias classificadas como interferentes endócrinos por várias organizações	23
Quadro 3 – Diferentes mecanismos de ação dos IE	27
Quadro 4 – Diferenças adsorção física e adsorção química	34

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do EE2	25
Tabela 2 – Condições cromatográficas de análise	64
Tabela 3 – Fatores e níveis selecionados no modelo Box-Behnken.....	65
Tabela 4 – Matriz do modelo Box-Behnken para três fatores codificados.....	65
Tabela 5 – Equação da reta e seus parâmetros relacionado ao analito	69
Tabela 6 – Recuperação e os parâmetros encontrados pelos analistas	70
Tabela 7 – Valores tabelados e calculados do teste t-Student e teste F	70
Tabela 8 – Dados da recuperação para o EE2	71
Tabela 9 – Limite de detecção do método para o analito pelos parâmetros da curva analítica	72
Tabela 10 – Limite de quantificação do método pelos parâmetros da curva analítica	73
Tabela 11 – Dados da robustez do método para a determinação do EE2	74
Tabela 12 – Respostas experimentais e previstas pelo modelo Box-Behnken para 15 experimentos aleatórios	76
Tabela 13 – Respostas experimentais e previstas pelo modelo Box-Behnken otimizado	79
Tabela 14 – Descrição sucinta das SQ da tabela ANOVA	80
Tabela 15 – ANOVA para o ajuste do modelo proposto	80
Tabela 16 – Taxa de remoção do EE2 em 24 horas e seus parâmetros	84
Tabela 17 – Parâmetros dos modelos cinéticos para adsorção do EE2 pela casca de amendoim	89
Tabela 18 – Parâmetros da modelagem de pseudo-segunda ordem e experimentais da cinética de adsorção do EE2 pela casca de amendoim à temperaturas de 36, 56 e 66°C.....	91
Tabela 19 – Parâmetros da equação de Arrhenius	92
Tabela 20 – Parâmetros das isotermas de Langmuir e Freundlich	94
Tabela 21 – Parâmetros das Regressões lineares de $\ln q_e$ versus $\ln C_e$	96
Tabela 22 – Parâmetros termodinâmicos de adsorção.....	97
Tabela 23 – Resultado quantitativo da análise elementar (composição química), em porcentagem, das cascas <i>in natura</i> e após o processo de adsorção	101
Tabela 24 – Capacidade calorífica das cascas de amendoim <i>in natura</i> e após processo de remoção.....	101

Lista de Abreviaturas e Siglas

- ACN – Acetonitrila
- ANOVA – *Analysis of variance*
- ANVISA – *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*
- ATR – Attenuated Total Reflectance
- C – Capacidade calorífica
- CE – Contaminantes emergentes
- CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência
- CV – Coeficiente de variação
- EDS – *Energy Dispersive System*
- EE2 – 17 α -etinilestradiol
- ER – Erro relativo
- ETA – Estação de tratamento de água
- ETE – Estação de tratamento de esgoto
- FLD – Detector de fluorescência
- FM – Fase móvel
- FT-IR – *Fourier Transform Infrared*
- GL – Graus de liberdade
- HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*
- IE – Interferentes endócrinos
- INMETRO – *Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial*
- IPCS – *International Programme on Chemical Safety*
- IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*
- LD – Limite de detecção
- LQ – Limite de quantificação
- MEV – Microscopia eletrônica de varredura
- MQ – Média quadrática
- MQep – Média quadrática do erro puro
- MQfaj – Média quadrática da falta de ajuste
- MQR – Média quadrática da regressão
- MQres – Média quadrática dos resíduos
- POA – Processos oxidativos avançados
- R – Coeficiente de correlação

R^2 – Coeficiente de determinação
 R_e – Recuperação do analito
RSD – Desvio padrão absoluto relativo
SD – Desvio padrão absoluto
SE – Sistema endócrino
SN – Sistema nervoso
SQ – Soma quadrática
SQep – Soma quadrática do erro puro
SQfaj – Soma quadrática da falta de ajuste
SQR – Soma quadrática da regressão
SQres – Soma quadrática dos resíduos
 T_R – Tempo de retenção
UHV – *Ultra High Violet*
USEPA – *U.S. Environmental Protection Agency*

Sumário

1 – Introdução.....	15
2 – Objetivos	17
2.1 – Objetivo geral	17
2.2 – Objetivos específicos	17
3 – Revisão bibliográfica	18
3.1 – Contaminantes emergentes.....	18
3.2 – Sistema endócrino	20
3.3 – Interferentes endócrinos	21
3.4 – Mecanismo de ação dos Interferentes Endócrinos	26
3.5 – Efeitos colaterais dos Interferentes Endócrinos	28
3.6 – Principais fontes dos Interferentes Endócrinos.....	28
3.7 – Remoção dos Interferentes Endócrinos em matrizes aquosas.....	31
3.7.1 – Adsorção	32
3.7.2 – Cinéticas de adsorção	34
3.7.3 – Isotermas de adsorção.....	39
3.7.3.1 – Isoterma de Langmuir.....	
3.7.3.2 – Isoterma de Freundlich.....	
3.7.4 – Termodinâmica de adsorção	45
3.8 – Adsorventes.....	46
3.9 – Validação de método.....	49
3.9.1 – Seletividade	49
3.9.2 – Linearidade e faixa de trabalho	50
3.9.3 – Precisão.....	52
3.9.4 – Exatidão	54
3.9.5 – Limite de detecção	55
3.9.6 – Limite de quantificação	56
3.9.7 – Robustez	56
3.10 – Planejamento fatorial de experimentos: Modelos multivariados	57
4 – Materiais e métodos	60
4.1 – Materiais.....	60
4.2 – Reagentes, solventes, padrões e soluções	60
4.3 – Equipamentos	60
4.4 – Preparo de soluções.....	61
4.5 – Validação de método.....	61

4.5.1 – Seletividade	61
4.5.2 – Linearidade	62
4.5.3 – Precisão.....	62
4.5.4 – Exatidão	62
4.5.5 – Limite de detecção.....	63
4.5.6 – Limite de quantificação	63
4.5.7 – Robustez	63
4.6 – Otimização das condições cromatográficas.....	63
4.7 – Ensaios de adsorção.....	64
4.8 – Otimização dos ensaios de adsorção	65
4.9 – Estudo cinético de adsorção	66
4.10 – Estudo isotérmico de adsorção.....	66
4.11 – Caracterização do biossorvente	67
4.11.1 – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	67
4.11.2 – Microscopia eletrônica de varredura	67
4.12 – Capacidade calorífica do biossorvente.....	67
5 – Resultados e discussão	68
5.1 – Validação de método	68
5.1.1 – Seletividade	68
5.1.2 – Linearidade	69
5.1.3 – Precisão.....	70
5.1.4 – Exatidão	71
5.1.5 – Limite de detecção.....	71
5.1.6 – Limite de quantificação	72
5.1.7 – Robustez	73
5.2 – Adsorção.....	74
5.2.1 – Otimização dos ensaios de adsorção.....	74
5.2.2 – Cinéticas de adsorção	87
5.2.3 – Isotermas de adsorção.....	92
5.2.4 – Termodinâmica de adsorção	95
5.3 – Caracterização do biossorvente.....	98
5.3.1 – Análise por FTIR.....	98
5.3.2 – Análise por MEV-EDS.....	99
5.4 – Capacidade calorífica do biossorvente	101
6 – Considerações finais	103

7 – Referências bibliográficas	105
--------------------------------------	-----

1 – Introdução

O principal recurso natural básico para a existência da vida, a água, é uma substância química indispensável em todo mundo e essencial para o corpo humano. O planeta Terra possui uma reserva hídrica de 1.400 milhões km³ aproximadamente, porém, apenas 2.000 km³ são provenientes das águas dos rios para abastecer toda a população mundial. A América do Sul é a região onde está concentrada quase a metade desses recursos (JARDIM, 1992).

Nos últimos tempos, o progresso da industrialização e a urbanização descontrolada, estão levando ao uso insustentável da água, que juntamente com as ações antrópicas vem afetando sua capacidade de renovação e restauração (SILVA et al., 2014; CAUBET, 2006; FERNANDES et al., 2011; BARBOSA et al., 2015). Além desses fatores, a crescente produção e consumo de produtos químicos sintéticos vem provocando sérios riscos ao meio ambiente e à saúde humana (JARDIM; GHISELLI, 2007). Esses produtos são, frequentemente, utilizados na agricultura, pecuária, indústria, centros urbanos, gerando inúmeros impactos no solo, na água e no ar, muitos deles irreversíveis e de grande importância dos quais podemos citar: mudanças climáticas, chuvas ácidas, erosões, efeito estufa, contaminação por metais pesados, riscos de extinção dos animais e plantas e vários outros problemas ambientais (BECHARA, 1992).

Grande parte dessas substâncias, emitidas ao meio ambiente sem a preocupação de um tratamento adequado, são denominadas contaminantes emergentes (CE). Os CE são substâncias que, mesmo em pequenas concentrações, podem causar malefícios à fauna e/ou à flora. Esses poluentes ainda não apresentam legislação específica vigente determinando seus níveis máximos permitidos, entretanto, podem estar presentes no ambiente em escalas de pg L⁻¹ a mg L⁻¹ (DEZOTTI; BILA, 2007; COLLIS; SILVA, 2011). Nesse grupo de poluentes existe uma variedade de substâncias capazes de provocar sérios danos ao nosso planeta. Entre essas substâncias, encontra-se uma classe que vem recebendo especial atenção da comunidade científica, órgãos governamentais e setores privados devido a sua alta capacidade de desregular e afetar as funções do sistema endócrino de animais e seres humanos, sendo chamadas de interferentes endócrinos (IE) (JARDIM; GHISELLI, 2007; FERNANDES et al., 2011).

Estudos apontam relação entre a presença de IE no sistema de abastecimento de água e o desenvolvimento de algumas doenças como câncer de mama, de testículos, de próstata e disfunções neurológicas. Alguns exemplos de IE são: esteroides (hormônios sintéticos e naturais), alquilfenóis, compostos poliaromáticos, pesticidas, entre outros (JARDIM; GHISELLI, 2007). A substância alvo deste estudo, o hormônio sintético 17 α -etinilestradiol

(EE2), é muito utilizado em formulações de pílulas anticoncepcionais, sendo um composto importante dessa classe.

Hoje, a maioria das técnicas utilizadas em estações de tratamento de água e esgoto são ineficientes e inadequadas para uma remoção satisfatória dessas substâncias. Diante disso, há necessidade de desenvolver métodos, processos e técnicas alternativas e sustentáveis. Nas últimas décadas, as técnicas de adsorção tem surgido com um grande potencial e viabilidade no tratamento de efluentes e águas contaminadas, principalmente com utilização de adsorventes naturais, conhecidos por biossorventes (FERNANDES et al., 2011).

Os biossorventes, são biomassas em geral e os mais conhecidos são os resíduos agroindustriais, materiais biodegradáveis provenientes de subprodutos principalmente da indústria e da agricultura. Eles possuem inúmeras e diversas vantagens, dentre elas o baixo custo, a robustez, a facilidade de utilização e aplicação, alta eficiência e são geralmente encontrados em abundância na natureza (GOULART et al., 2012; GONÇALVES, 2013)

2 – Objetivos

2.1 – Objetivo geral

Avaliar a capacidade de adsorção de um hormônio sintético 17α -etinilestradiol em águas, utilizando cascas de amendoim, resíduo agroindustrial, como adsorvente.

2.2 – Objetivos específicos

- Otimizar e validar um método analítico para quantificar a concentração do hormônio EE2 em água;
- Avaliar o potencial de adsorção e remoção do EE2 pelas cascas de amendoim;
- Determinar e avaliar os parâmetros cinéticos, físico-químicos e termodinâmicos de adsorção do EE2 pelas cascas de amendoim.

3 – Revisão bibliográfica

3.1 – Contaminantes emergentes

Em nosso planeta, cerca de 11 milhões de substâncias químicas são conhecidas, e muitos desses compostos são produzidos e utilizados deliberadamente, fato que têm levado ao aparecimento das chamadas substâncias emergentes. Esses poluentes representam uma grande ameaça à saúde pública e dos ecossistemas do planeta, devido sua diversidade e uma imensa carência no conhecimento detalhado de suas fontes, comportamento, distribuição, níveis tóxicos de concentração, assim como efeitos ambientais; conjuntamente à ineficiência, ou mesmo, a inexistência de políticas públicas baseadas no controle, prevenção e combate dessas substâncias (SODRÉ et al., 2007).

No mundo científico, tais micropoluentes são chamadas de CE. Os CE consistem em uma grande variedade de compostos orgânicos bioativos de origens diversas que são encontrados em várias matrizes ambientais e biológicas, sendo derivados de várias substâncias com vastas aplicações como em fármacos, produtos de beleza, produtos químicos industriais, pesticidas, hormônios, entre outros (Quadro 1) (SOARES, 2015).

Quadro 1 – Classes de contaminantes emergentes

Composto	Exemplos
Drogas de abuso	Anfetamina, cocaína, tetra-hidrocanabinol.
Retardadores de chamas	C ₁₀ -C ₁₃ cloroalcanos, hexabromociclododecano, éteres difenílicos polibromados, tetrabromo-bisfenol A, tris (2-cloroetil) fosfato.
Aditivos de gasolina	Éteres dialquil, éter metil- <i>t</i> -butílico.
Agentes e aditivos industriais	Agentes quelantes (EDTA), sulfonatos aromáticos.
Produtos de cuidados pessoais: Perfumes, repelentes, sabões, agentes antimicrobianos, agentes de proteção solar	Benzofenona, <i>N,N</i> -dietiltolamida, metilbenzilideno, nitro, policíclicos e almíscares macrocíclicos, triclosan.
Farmacêuticos: Analgésicos e anti-inflamatórios, antibióticos humanos e veterinários, antiepilépticos, reguladores de sangue lipídico e drogas psiquiátricas, drogas antitumorais, drogas cardiovasculares, agentes de contraste de raios-X	Paracetamol, ácido acetilsalicílico, diclofenaco, diazepam, carbamazepina, benzafibrato, iopromida, iopamidol.
Esteroides e hormônios	Dietilestilbestrol, estradiol, estriol, estrona.
Surfactantes e metabolitos surfactante	Etoxilatos de alquilfenol, alquilfenóis (nonilfenol e octilfenol), carboxilatos de alquilfenol.
Novas classes	Nanomateriais, 1,4-dioxano, produtos desinfecção de piscinas.

Fonte – La Farré et al. (2008)

Todavia, para Collins e Silva (2011) “*CE é qualquer composto químico presente numa variedade de produtos comerciais, ou ainda qualquer microrganismo, que pode ser encontrado em matrizes ambientais e biológicas, que não são usualmente monitorados ou que ainda não possuem legislação regulatória correspondente, mas que apresentam risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente*”.

Até recentemente, os CE eram negligenciados pelo homem. Atualmente, eles apresentam grande importância e interesse para a comunidade científica mundial, organizações

governamentais e setores públicos e privados. Há uma preocupação em relação à criação de procedimentos, normas e condutas para a minimização e controle dessas substâncias potencialmente poluentes (JARDIM; GHISELLI, 2007; FERNANDES et al., 2011; SODRÉ et al., 2007).

Uma característica destes contaminantes é que são considerados poluentes persistentes devido a sua introdução contínua no meio ambiente mesmo em baixas concentrações (PETROVIC et al., 2003). Dentro dessa classe de CE, um grupo de substâncias atua como interferentes no sistema endócrino dos seres humanos e de inúmeros animais. Devido a esse fato, essas substâncias são chamadas de Interferentes Endócrinos (FERNANDES et al., 2011; JARDIM; MALDANER, 2012).

3.2 – Sistema endócrino

Em organismos multicelulares é importante regular e integrar as funcionalidade de diferentes células, e os dois sistemas utilizados para essa função são: o sistema nervoso (SN) e o sistema endócrino (SE) (BIRKETT; LESTER, 2003).

O SE é um mecanismo complexo e fundamental para as plantas e animais, uma vez que é responsável pelo crescimento, reprodução, desenvolvimento embrionário, manutenção da homeostase e metabolismo (BIRKETT; LESTER, 2003; REIS FILHO et al., 2006). O mesmo consiste de várias glândulas endócrinas em diferentes áreas do corpo que produzem e secretam hormônios com diferentes funções, agindo tanto localmente quanto lançados na circulação sistêmica ou corrente sanguínea, indo atuar em outras partes do organismo e modulando suas atividades, seja de natureza excitadora ou inibidora (BIRKETT; LESTER, 2003; RAIMUNDO, 2007).

O SE é constituída pelas seguintes glândulas endócrinas: o hipotálamo, a hipófise, a tireoide, a paratireoide, as glândulas suprarrenais, o corpo pineal, e as gônadas (Figura 1) (BIRKETT; LESTER, 2003).

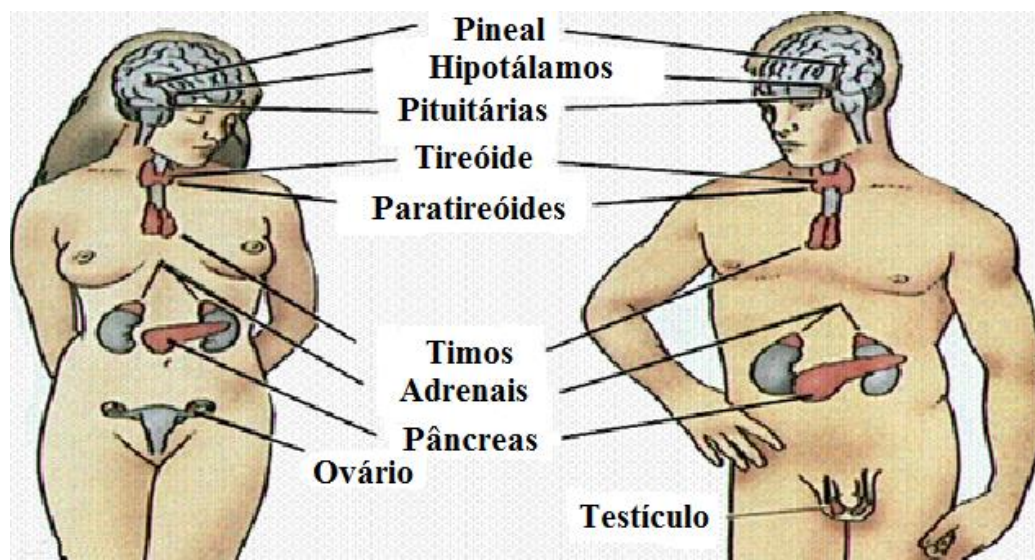


Figura 1 – O sistema endócrino humano. (a) feminino, (b) masculino

Fonte – Farabee (2001) modificada

A glândula pineal é responsável por impedir a precocidade sexual; o hipotálamo é importante no controle da produção de hormônios de outras glândulas endócrinas; a pituitária fica responsável pelo controle da ação de outras glândulas; a tireoide ajuda no monitoramento da produção de energia; a paratireoide responsável pela distribuição do cálcio no sangue e nos ossos; o timo é responsável pela produção de hormônios relacionados na defesa contra infecções, formação de anticorpos e do sistema linfático, que auxiliam no controle do crescimento e maturação sexual; as glândulas adrenais estão relacionadas com regulação do nível de sal e da água e na excreção de estimulantes; células do pâncreas responsáveis pelo controle do açúcar no sangue e as glândulas sexuais administram a reprodução e as características sexuais secundárias (VON BRANDIS, 1977; RAIMUNDO, 2007).

Os hormônios são considerados sinalizadores químicos devido sua aproximação e interação com receptores específicos resultando em uma série de reações bioquímicas e respostas biológicas específicas (BRUNTON, et al., 2011; REIS FILHO et al., 2006; SIMMONDS, 1992; KOEPPEN; STANTON, 2009).

3.3 – Interferentes endócrinos

Os compostos e as substâncias denominadas IE são uma nova classe de poluentes ou micropoluentes ambientais que interferem e produzem efeitos adversos no sistema endócrino dos seres vivos, principalmente à saúde humana, modificando e desregulando suas funções.

Esses poluentes são encontrados no ambiente na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} (DEZOTTI; BILA, 2007).

Dezotti e Billa (2007), relatam que os IE são substâncias que interagem com sítios receptores de hormônios, enquanto, para outros autores os IE podem ser qualquer substância que cause desequilíbrio, interferência ou alteração no SE, independentemente se atua diretamente no sítio receptor ou não.

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (em inglês, *U.S. Environmental Protection Agency* – USEPA, 1997), IE é definido como um “*agente exógeno que interfere com a síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais no corpo que são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e ou comportamento dos organismos*” (US.EPA, 1997).

Porém, o Programa Internacional de Segurança Química (em inglês, – *International Programme on Chemical Safety*, IPCS), define que IE é uma “*substância ou um composto exógeno que altera uma ou várias funções do sistema endócrino e tem, conseqüentemente, efeitos adversos sobre a saúde num organismo intacto, sua descendência, ou (sub) populações*” (CEC, 1999).

Esses poluentes são conhecidos mundialmente como “Endocrine Disrupting Chemicals”, porém, para a língua portuguesa tem gerado alguns conflitos de denominações, como “Perturbadores Endócrinos”, “Interferentes Endócrinos”, “Desreguladores Endócrinos”, “Disruptores Endócrinos” e “Interferentes Hormonais”, abrangendo uma grande lista de compostos com estruturas diferentes, como hormônios sintéticos e naturais (DEZOTTI; BILA, 2007). E para manter uma homogeneidade, neste trabalho será utilizado a denominação IE.

Os IE podem ser de origem antropogênica, conhecidos por xenoestrogênios (sintéticos) ou biogênica, denominados de hormônios naturais, por exemplo, os estrogênios presentes no metabolismo animal (progesterona, testosterona) e no metabolismo das plantas, os fitoestrogênios (COLLINS; SILVA, 2011; JARDIM; GHISELLI, 2007; GUTENDORF; WESTENDORF, 2001; OLSEN et al., 2005).

A cada ano, o número de substâncias e compostos químicos identificados como IE por inúmeras organizações mundiais cresceu consideravelmente (Quadro 2) e a União Europeia elaborou uma grande lista com 118 desses interferentes que são capazes de afetar o SE de humanos e animais, sendo 12 dessas, designadas para estudos mais específicos: dissulfeto de carbono, orto-fenilfenol, difenil éter tetrabromado, 4-cloro-3-metilfenol, 2,4-diclorofenol, resorcinol, 4-nitrotolueno, 4-octilfenol, estrona, estradiol, etinilestradiol e 2,2'-bis(4-(2,3-epoxipropoxi)fenil)propano (JARDIM; GHISELLI, 2007).

Quadro 2 – Lista de substâncias classificadas como interferentes endócrinos por várias organizações

SUBSTÂNCIAS	UKEA	USEPA	OSPAR		JEA	WWF
			<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>		
Esteroides						
Etinilestradiol	X		X			
17 β -Estradiol	X		X			
Estrona	X		X			
Mestranol	X		X			
Dietilestilbestrol	X		X			
Alquilfenóis						
Nonilfenol	X	X	X		X	X
Nonilfenol Etoxilado				x		
Octilfenol	X	X	X		X	
Octilfenol Etoxilado	X					
Compostos Poliaromáticos						
Bifenilas Policloradas	x	X	X		X	X
Retardantes de Chama				x	X	X
Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAH)		X		x		
Compostos com Oxigênio						
Ftalatos	X	X		x	X	X
Bisfenol A	X	X			X	X
Pesticidas						
Atrazina	X	X	X		X	X
Simazina	X	X	X		X	X
Diclorvos	X					
Endossulfan	X	X	X		X	X
Trifluralina	X	X				X
Demeton-S-metil	X					
Dimetoato	X					X
Linuron						X
Permetrina	X	X			X	
Lindano	X	X	X			X
Clordano	X			x	X	X
Dieldrin	X	X		x	X	X
Hexaclorobenzeno	X			x	X	X
Pentaclorofenol	X	X			X	X
Outros						
Dioxinas e Furanos	X		X		X	X
Tributilestanho	X	X	X		X	X

UKEA: Agência Ambiental do Reino Unido; USEPA: Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos; OSPAR: Comissão de Paris e Oslo; JEA: Agência Ambiental do Japão; WWF: Organização não Governamental
 Fonte – Jardim e Ghiselli (2007)

Quimicamente, os hormônios são derivados de esteroides, e segundo a IUPAC, os esteroides são uma classe de hormônios de estruturas formadas pelo ciclo[a]fenantreno basicamente (Figura 2), ou seja, compostos de 3 anéis hexagonais e um anel pentagonal,

podendo ter variações e adições de ligações duplas, metilas, carbonilas e hidroxilas, dando origem a uma série de hormônios esteroidais (RAIMUNDO, 2007).

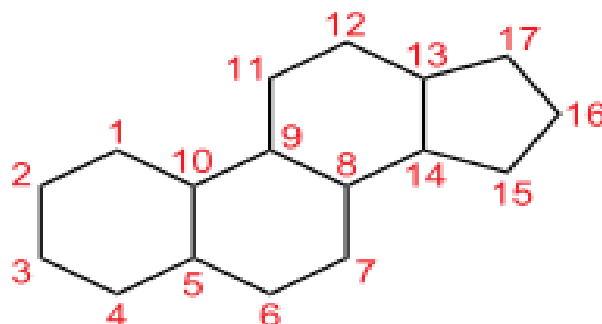


Figura 2 – Estrutura básica dos esteroides

Fonte – Raimundo (2007) modificada

Os estrogênios são definidos como uma família de hormônios esteroides responsáveis pelo desenvolvimento das características secundárias femininas e funções de reprodução (RAIMUNDO, 2007). E dentre essa classe, os estrogênios sintéticos serão os objetos de estudo deste trabalho (Figura 3), especificamente o EE2, hormônio sintético que teve sua estrutura molecular modificada, sendo encontrado em produtos farmacêuticos, principalmente em pílulas anticoncepcionais e em terapias de reposição hormonal na menopausa. (FERNANDES et al., 2011; SODRÉ et al., 2007, ARAÚJO, 2006).

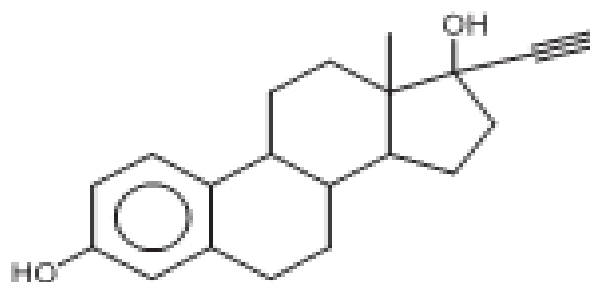


Figura 3 – Estrutura molecular do hormônio sintético EE2

Fonte – Andrade e Monteiro (2015)

No EE2, o anel aromático fenólico é o responsável pela atividade biológica, proporcionando a atividade estrogênica da substância, contudo, a presença do grupo etinil aumenta a potência estrogênica por via oral, pois inibe o metabolismo da primeira passagem hepática (RAIMUNDO, 2007; LUCENA, 2013). O hormônio sintético é grande causador de impactos ambientais devido seu alto poder estrogênico, inclusive mais potente que os hormônios naturais. Inseridos continuamente em corpos d'água, tornam-se mais ativos, devido sua maior estabilidade em meio aquoso (SNYDER et al., 1999).

Para entender inicialmente o comportamento desses poluentes no ambiente, é necessário averiguar suas propriedades físico-químicas, as quais são de grande importância. A partir dos dados da Tabela 1, é possível verificar que o EE2 apresenta baixa solubilidade em água (ϕ), alto coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}) e de sorção (K_{oc}), características de uma substância de caráter lipofílica e hidrofóbica, bioacumulando-se no ambiente por interações eletrostáticas, adsorvendo-se em sedimentos/partículas sólidas. São compostos de baixas pressões de vapores, indicando baixa volatilidade e alta estabilidade no ambiente. Todavia, algumas condições específicas podem afetar a solubilidade e sua degradação no ambiente, como pH, temperatura, salinidade, presença de materiais particulados, etc (RAIMUNDO, 2007).

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do EE2

Propriedades	EE2
Fórmula	$C_{20}H_{24}O_2$
MM (g mol⁻¹)	296,41
ϕ_{sat}. 20°C (mg L⁻¹)	4,8
Pressão de vapor (Pa)	$6,0 \times 10^{-9}$
Log K_{ow}	4,15
Log K_{oc}	4770
pKa	10,21
Constante de Henry (Pa m³ mol⁻¹)	$3,8 \times 10^{-7}$

ϕ_{sat} – solubilidade em água; K_{ow} – coeficiente de partição octanol-água; K_{oc} – coeficiente de sorção
 pKa – constante de desprotonação; MM – massa molecular; NE – valor não encontrado na literatura
 Fonte – Bila (2005), Silva et al. (2012), Lai et al. (2000), Yu et al. (2004), Ying et al. (2002)

Estudos apontam relação de problemas adversos com a presença de IE no sistema de abastecimento público de água e esgoto, devido ao aumento expressivo nos últimos anos dos mesmos em ambientes aquáticos próximos às concentrações humanas (SODRÉ et al., 2007). Em 2008, no Brasil, apenas 44% dos domicílios do país tinham acesso à rede geral de esgoto. Contudo, somente 28,5% do que é coletado recebe tratamento, tornando esse cenário ainda mais preocupante (IBGE, 2010). Dessa forma, invariavelmente, muitos IE são detectados em águas superficiais devido à ineficiência dos sistemas de tratamento ou à falta de tratamento de esgotos ou efluentes (SODRÉ et al., 2007). Portanto, como os processos convencionais de tratamento e remoção desses micropoluentes são incapazes de sua total remoção, novas alternativas sustentáveis de descontaminação de efluentes e esgotos que proporcionem a remoção adequada dessas substâncias precisam ser desenvolvidas.

3.4 – Mecanismo de ação dos Interferentes Endócrinos

Os IE operam através de diferentes mecanismos de ação. O mecanismo de ação desses poluentes inicia-se através de uma ligação existente entre o hormônio e um receptor específico, dentro da célula de interesse. Devido à alta sensibilidade e afinidade do receptor hormonal por um hormônio específico, os IE são capazes de interagir com os receptores hormonais, alterando as respostas padrão do SE (BIRKETT; LESTER, 2003; JARDIM; GHISELLI, 2007).

Os IE ao modificarem e desregularem as respostas naturais no SE acabam gerando certos efeitos mesmo em concentrações ultra-traços, chamados efeitos agonistas e antagonistas (Figura 4) (JARDIM; GHISELLI, 2007).

Quando o IE se liga ao receptor e produz uma certa resposta, ele atua como mimetizador, ou seja, imita a ação de um determinado hormônio natural enviando um sinal diferente para as células, ativando uma resposta mais fraca ou mais forte e esse processo é chamado de efeito agonista; entretanto, quando o mesmo liga-se ao receptor, sem produzir nenhuma resposta, ele é dito como um bloqueador, ou seja, impede o hormônio natural de exercer suas funções com seu respectivo receptor inibindo-o; esse processo é chamado de efeito antagonista (BIRKETT; LESTER, 2003; JARDIM; GHISELLI, 2007; BILA, 2005).

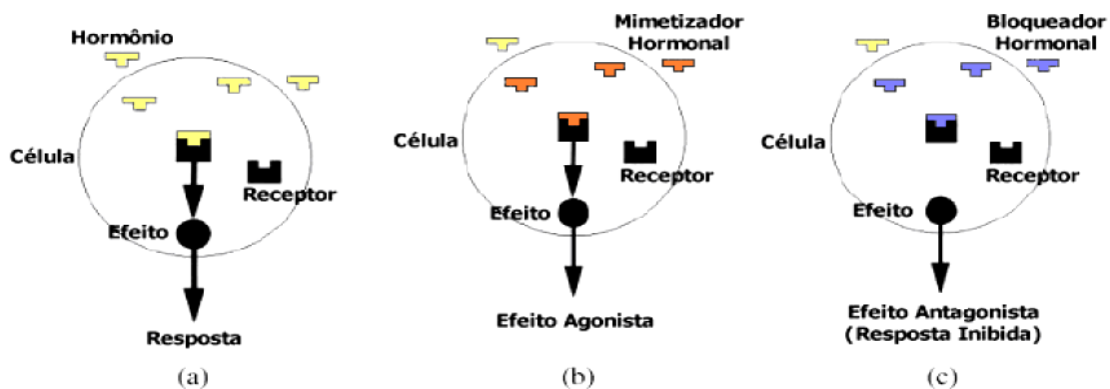


Figura 4 – Disfunções endócrinas: a) resposta natural, b) efeito agonista, c) efeito antagonista
Fonte: Ghiselli (2007)

Os mecanismos de mimetização e de bloqueio são os mais importantes e elucidados na literatura juntamente com seus efeitos, entretanto, existem outros que podem interferir no SE, sendo: simulação na formação de mais receptores hormonais; desativação de hormônios e de enzimas; desestruturação hormonal afetando as sínteses hormonais; remoção dos hormônios dos seus respectivos receptores; outros mecanismos que não são via receptores hormonais (JARDIM; GHISELLI, 2007; SODRÉ et al., 2007; BILA, 2005). No quadro 3 é possível ter uma visão geral dos possíveis mecanismos de ação que os IE podem apresentar no SE.

Quadro 3 – Diferentes mecanismos de ação dos IE

Mecanismo de ação	Definição	Efeito
<i>Mimetização (Agonista)</i>	Mimetizando um hormônio natural, um IE pode acoplar-se ao receptor de hormônio.	Pela ocupação do sítio receptor, podem ser enviadas mensagens aos genes receptores, que enviadas no momento errado, ou superprodução de mensagens tem efeitos adversos nas funções biológicas. Agem com esse mecanismo as substâncias estrogênicas pela interação com o receptor hormonal.
<i>Bloqueio (Antagonista)</i>	Pela ocupação do receptor hormonal, alguns IE são capazes de bloquear a ligação do hormônio natural.	Impedem que o hormônio exerça sua função. Pode ainda, ter um aumento ou decréscimo no efeito, dependendo se o bloqueador é mais ou menos potente do que o hormônio bloqueado. Agem assim, substâncias que interferem na ação do hormônio masculino, impedindo a ação androgênica do mesmo. Ex. DDT. São conhecidos como “substância anti-androgênica”.
<i>Depleção de hormônios</i>	Acelerando a clivagem de um hormônio e sua eliminação, que conduz a depleção da concentração desse hormônio no corpo.	Ex. a dioxina e alguns PCB atuam desta forma, resultando em baixas concentrações dos hormônios da tireoide, insulina e andrógenos.
<i>Estimular</i>	Estimulam a formação de mais receptores de hormônios dentro da célula, gerando múltiplos sinais.	Esse efeito conduz a uma amplificação, tanto do hormônio natural, como do IE.
<i>Inibição de enzimas</i>	Interferência com as enzimas que são responsáveis pela ruptura de hormônios no corpo.	Pela desativação de enzimas necessárias para eliminação de hormônios, mais hormônios do que os necessários permanecem ativos. Sua contínua presença no corpo envia mais sinais do que o normal ou sinais em momentos impróprios. Hiperestimulação dos receptores pelos hormônios naturais que não são metabolizados e permanecem no corpo.
<i>Destruição</i>	Destruição do hormônio ou da capacidade do hormônio de executar a sua função, alterando sua estrutura direta ou indiretamente, faz com que o hormônio não se encaixe no sítio receptor. Adicionalmente, podem ocorrer alterações nos padrões de síntese dos hormônios.	Com a destruição de determinados hormônios há um desbalanceamento hormonal resultando em maiores concentrações de um determinado hormônio e diminuição da atividade dos hormônios naturais afetados. Por exemplo, pode haver a redução do nível de testosterona e conseqüentemente o nível de estrogênio ficará acima. Exemplo disso é a feminização de peixes machos.

Fonte – Bila (2005)

3.5 – Efeitos colaterais dos Interferentes Endócrinos

Os IE afetam o sistema endócrino não de forma benéfica, mas sim de forma desastrosa, tendo provocado sérios efeitos colaterais aos indivíduos expostos a essas substâncias poluentes. Alguns estudos sobre ecotoxicidade têm revelado sérios efeitos desses contaminantes sobre a saúde humana e de animais silvestres. Portanto, é necessário uma melhor compreensão de suas fontes e destinos no meio ambiente.

De acordo com Reis Filho e seus colaboradores (2006), os hormônios sexuais provocam inúmeros efeitos sobre a biota como alterações nas taxas de fecundidade, fertilização, eclosão; modificações comportamentais, histopatologias, imunodepressão, e, inibição do desenvolvimento dos órgãos sexuais e reversão sexual.

Alguns estudos relatam anomalias em animais como por exemplo: diminuição da fertilidade dos peixes devido à feminização; problemas e falhas no sistema reprodutivo de aves, peixes, répteis e mamíferos. Em seres humanos a incidência da disfunção do sistema endócrino acarreta a infertilidade masculina e feminina; câncer de mama, de próstata, de testículo e vaginal; diminuição na qualidade e produção de espermatozoides; ineficiências no sistema imunológico e neurológico (JARDIM; GHISELLI, 2007; FERNANDES et al., 2011; SODRÉ et al., 2007).

Guillette e colaboradores (1996) em seu estudo, relataram anormalidades em jacarés machos nascidos de ovos recolhidos a partir de um lago (Lake Apopka) contaminado com DDT na Flórida. Esse trabalho relacionou o p,p'-DDE, um metabolito persistente de DDT na redução da atividade estrogênica dos andrógenos, os quais são essenciais na maturação e crescimento do sistema reprodutor masculino de reptéis.

Entretanto, o impacto dos IE sobre algumas espécies somente é observado quando os organismos são expostos frequentemente a esses contaminantes, ou seja, para que os efeitos sejam significativos mesmo quando algum organismo esteja exposto a pequenas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}) (RAIMUNDO, 2007).

3.6 – Principais fontes dos Interferentes Endócrinos

Frequentemente, vários produtos ou substâncias químicas quando absorvidos pelo organismo são excretados em sua forma inativa ou metabolizadas por reações de biotransformação, ou seja, reações de oxidação, redução, hidrólise, alquilação, sulfatação e glicuronidação nas quais são formados conjugados polares e hidrofílicos (KUMMERER,

2009). A entrada desses compostos no ambiente é um problema sério, mesmo em quantidades traços, podem chegar ao sistema de abastecimento de água potável, sem o seu devido processo de tratamento. Por exemplo, os hormônios naturais e sintéticos, são excretados diariamente pela urina e em menor proporção pelas fezes, são continuamente lançados no ambiente, o que lhes concede persistentes no ambiente, mesmo apresentando meia vida relativamente curta de 2 a 6 dias (RAIMUNDO, 2007).

Portanto, as principais vias de acesso dos IE nos ambientes aquáticos podem ser classificadas em dois grupos: pontuais ou difusas (não-pontuais) (Figura 5). As fontes pontuais são definidas como entrada direta dos poluentes no ambiente, como exemplos: descargas de efluentes industriais, fossas sépticas, esgotos industriais e domésticos, podendo ser facilmente identificadas e diagnosticadas, sendo, portanto, passíveis de medidas de controle. As fontes difusas são aquelas cuja a origem é de difícil identificação, pois estão relacionados às deposições atmosféricas úmida e seca, escoamentos superficiais, lixiviação de compostos do solo, drenagem de águas pluviais em áreas urbanas e rurais. As fontes pontuais são as principais causadoras e responsáveis pela contaminação do meio ambiente, enquanto, as fontes difusas têm uma pequena contribuição pela presença desses contaminantes no ambiente (JARDIM; GHISELLI, 2007; SODRÉ et al., 2007; JARDIM, 2012; SANTOS et al., 2013; RAIMUNDO, 2007).

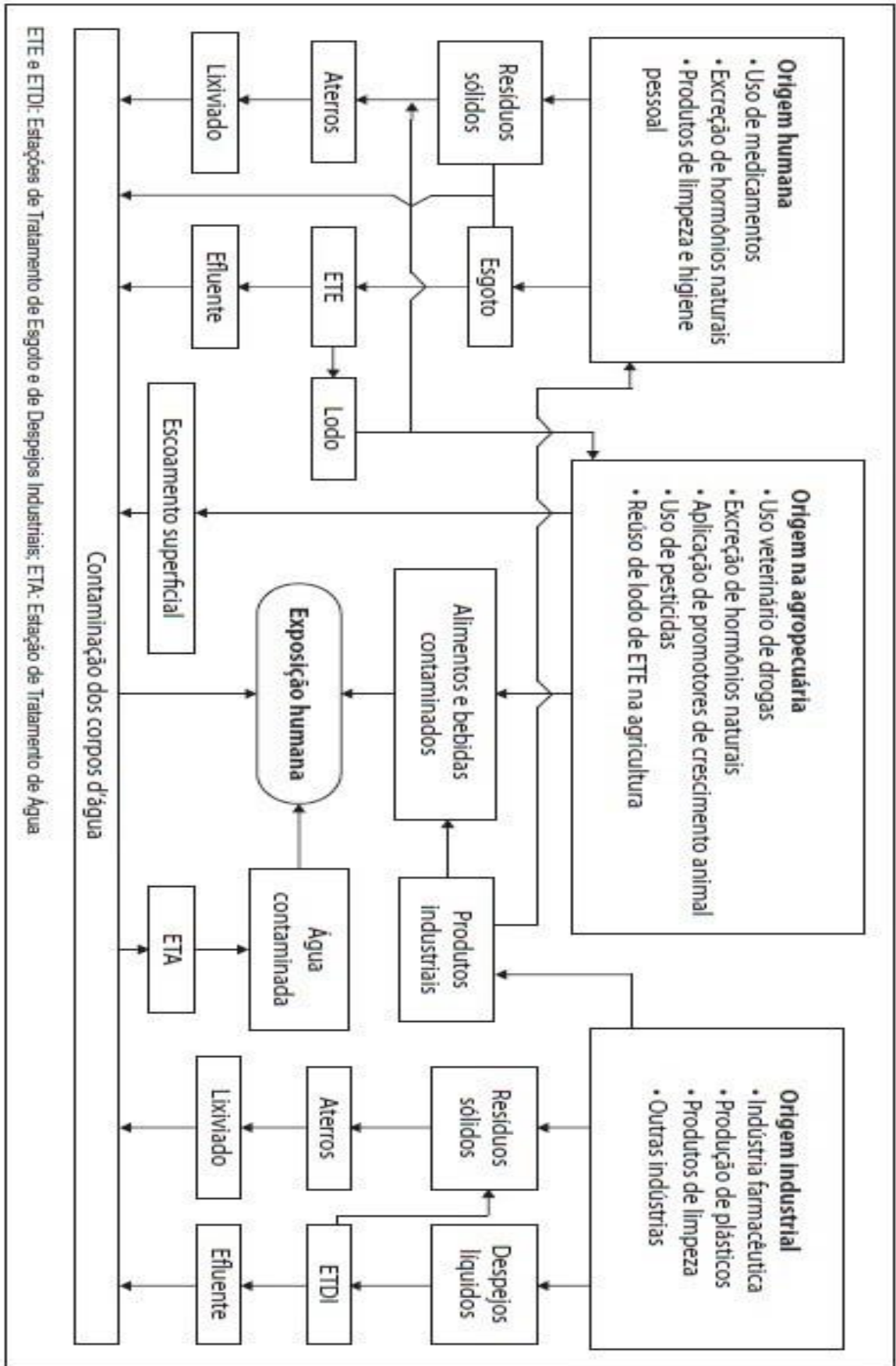


Figura 5 – Rotas e vias de contaminação dos IE

Fonte – Aquino et al. (2013)

As ETE e ETA são os principais vilões, pois em países subdesenvolvidos e emergentes, geralmente, o tratamento de efluentes ocorre de forma superficial, limitando-se à diminuição da carga de matéria orgânica dos resíduos. Estudos mostram que em países onde há maior eficiência nos processos de tratamento de água e esgoto, o índice de contaminação dessas substâncias em seres vivos são menores, porém, mesmo assim apresentam concentrações significativas de IE, pois a maioria das estações de tratamento não são construídas para a total remoção desses micropoluentes, sendo assim parcialmente removidos (JARDIM; GHISELLI, 2007; SODRÉ et al., 2007).

3.7 – Remoção dos Interferentes Endócrinos em matrizes aquosas

Os métodos mais utilizados para remoção dos IE são aqueles que incluem técnicas de adsorção e processos oxidativos avançados (POA), além de algumas tecnologias como ozonização e reatores com lâmpadas ultravioletas. Todavia, apesar dos POA serem eficazes na remoção desses contaminantes, possuem uma grande desvantagem, pois levam à formação de produtos intermediários, onde até o presente momento não há estudos suficientes para sua elucidação (FERNANDES et al., 2011; WESTERHOFF et al., 2005; DODD et al., 2006; ROSENFELDT et al., 2007; IKEHATA et al., 2008; AQUINO et al., 2013). Em contrapartida, as técnicas de adsorção possuem uma grande vantagem em relação aos POA: não geram produtos intermediários de oxidação, são eficazes, possuem altas taxas de remoção de compostos orgânicos e são de fácil aplicação (GOULART et al. 2012). No entanto, quando são provenientes de substâncias zeólitas e carvão ativado, o método aplicado torna-se inviável devido ao alto custo de produção e a geração de grandes quantidades de resíduos (FERNANDES et al., 2011; GOULART et al., 2012; GONÇALVES, 2013).

Considerando que a maior parte dos processos de tratamento de efluentes não utilizam essas tecnologias de custo elevado, acabam tratando esses contaminantes de forma inadequada pelos processos convencionais (filtração, floculação, decantação, cloração), sendo o mais sofisticado a utilização de reatores biológicos (lodos ativados), mas mesmo assim não é suficiente para a total remoção dos IE (AQUINO et al., 2013).

Na busca de novas alternativas visando metodologias mais simples para a possível recuperação de efluentes contaminados, surge uma classe de materiais denominada biossorventes, materiais biodegradáveis de origem biológica, com baixo custo, alta versatilidade e surpreendente capacidade de adsorção, sendo encontrados em grandes

quantidades no mercado e, muitas vezes, sem a necessidade de tratamento prévio (FERNANDES et al., 2011; GOULART et al. 2012; GONÇALVES, 2013). O seu mecanismo baseia-se no processo de acumulação de um soluto (impurezas dos efluentes) em uma superfície ou interface de um sólido, ou seja, um processo de adsorção.

Araújo e colaboradores (2002), afirmam que os mesmos regulam a mobilidade e a biodisponibilidade dos poluentes em soluções. De acordo com Souza (1999) a adsorção é um processo onde as moléculas de interesse podem acumular-se espontaneamente sobre uma superfície sólida, independentemente se o meio for um fluido, um líquido ou um gás.

3.7.1 – Adsorção

Adsorção é um processo de acumulação e concentração seletiva de moléculas ou substâncias de uma fase fluida (líquido ou gás) sobre superfícies ou interfaces sólidas, considerando-se um sistema sólido-líquido ou sólido-gás (MCCABE et al., 1993; SOUZA, 1999; BUTT et al., 2003).

O material no qual ocorre a adsorção chama-se adsorvente. A substância adsorvida no material adsorvente é chamado adsorvato e as moléculas ou substâncias a serem adsorvidas (as que não estão em contato com a superfície) são chamados adsortivos (Figura 6) (BUTT et al., 2003; CURBELO, 2002).

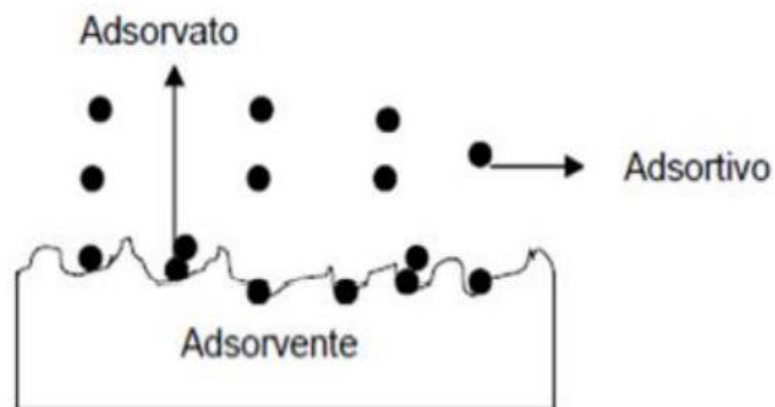


Figura 6 – Esquema do processo de adsorção (adsorvato, adsorvente e adsorvato)

Fonte – Butt et al. (2003) modificada

A interação e a posição dos grupos funcionais do adsorvato sobre a superfície do adsorvente é que determina o tipo de processo de adsorção existente entre adsorvato/adsorvente (McKAY, 1996). Em geral, o processo de adsorção pode ocorrer de duas formas distintas,

denominadas por interação física ou ligação química, dependendo da natureza das forças superficiais (HO; McKAY, 1999).

A adsorção por interação física está relacionada com as interações intermoleculares relativamente fracas, envolvendo principalmente forças de Van der Waals, dipolos permanentes e forças eletrostáticas existente entre adsorvato/adsorvente, ou seja, ocorrem quando as forças intermoleculares de atração das moléculas na fase fluida e da superfície sólida são maiores que as forças atrativas entre as moléculas do próprio fluido e os calores de adsorção compreendidos são moderadamente baixos, além de formar camadas moleculares sobrepostas; essa adsorção é frequentemente conhecida por fisiossorção (ADAMSON; GAST, 1997; BUTT et al., 2003; CIOLA, 1981; FOUST, 1982; VASQUES, 2008; RUTHVEN, 1984).

De acordo Butt e seus colaboradores (2003) a fisiossorção é caracterizada por vários fatores:

- Energia de sublimação, sendo na ordem de 20-40 kJ mol⁻¹.
- Adsorvato é ainda relativamente livre para difundir na superfície, e para girar.
- Estrutura molecular do adsorvente não se altera com a fisiossorção, exceto para alguns sólidos moleculares (gelo, parafina, polímeros).
- Equilíbrio de adsorção é rapidamente estabelecido, para gases, exceto para sólidos porosos.

A adsorção por ligação química é atribuído à troca de elétrons entre adsorvato/adsorvente, havendo formação de ligações químicas (iônicas ou covalentes polares) entre a superfície do adsorvente e o composto adsorvido de forma quase que irreversível, ou seja, ela envolve a interação química entre o fluido adsorvido e o sólido adsorvente; e os calores de adsorção são moderadamente altos. A adsorção química é conhecida por quimiossorção e nela se forma uma única camada molecular adsorvida (MELO, 2009; BUTT, et al., 2003; CIOLA, 1981; FOUST, 1982; VASQUES, 2008; RUTHVEN, 1984).

Segundo Butt e colaboradores (2003) a quimiossorção é caracterizado por:

- Energia sublimação típica de 100-400 kJ mol⁻¹.
- Adsorvato é relativamente imóvel e, geralmente, não se difunde na superfície, pois muitas vezes, há locais de ligação específicos.
- Sólidos covalentes ou metálicos muitas vezes há uma reconstrução da superfície.
- Ligação forte, e experimentos em Ultra High Violet (UHV) são possíveis porque as moléculas praticamente não sofrem dessorção.

Contudo, as vezes não é fácil diferenciar adsorção física e adsorção química, pois em alguns casos, os dois processos podem ocorrer simultaneamente e a possibilidade da existência

de situações intermediárias (VOLESKY, 1990), e por isso, para melhor compreensão e entendimento, o Quadro 4 apresenta uma breve comparação dos dois tipos de adsorção.

Quadro 4 – Diferenças adsorção física e adsorção química

Adsorção física	Adsorção química
Baixo calor de adsorção (2 ou 3 vezes menor que o calor latente de vaporização)	Alto calor de adsorção (2 ou 3 vezes maior que o calor latente de vaporização)
Não específica	Altamente específica
Monocamada ou multicamada	Somente monocamada
Nenhuma dissociação das espécies adsorvidas	Pode envolver dissociação
Significante somente a temperaturas relativamente baixas	Possível em uma ampla faixa de temperatura
Rápida, não ativada, reversível	Ativada, pode ser lenta e irreversível
Sem transferência de elétrons	Transferência de elétrons com formação de ligações entre adsorvato e adsorvente
Polarização do adsorvato pode ocorrer	

Fonte – Ruthven (1984); Unruh (2011)

Todavia, alguns fatores influenciam o processo e a capacidade de adsorção sendo eles: velocidade de agitação, relação adsorvente/adsorvato, tamanhos das partículas, concentração inicial, pH do meio, natureza e características do adsorvente e do adsorvato, solubilidade do soluto, área de superfície, temperatura (MORENO-CATILHA, 2004; MELLAH; CHEGROUCHE, 1997).

3.7.2 – Cinéticas de adsorção

A cinética de adsorção descreve a velocidade de remoção do analito ou substância em estudo decorrente do tempo de contato com o adsorvente, da qual é dependente das características físicas e químicas do adsorvato, adsorvente e do sistema experimental (COELHO et al., 2014).

Segundo Soares (1998) e Dabrowski (2001), a cinética de adsorção é determinada pelas seguintes etapas:

- O transporte ou difusão do adsorvato para a superfície externa ou região interfacial do adsorvente;
- A difusão das moléculas para dentro dos poros do adsorvente;
- A adsorção do adsorvato na superfície interna do adsorvente.

Conforme a Figura 7, a cinética do processo de adsorção é dependente da velocidade de cada etapa sucessiva. Na etapa 1 ocorre o fenômeno de difusão e convecção, na etapa 2 ocorre

o fenômeno de transferência de massa externa, na etapa 3 ocorre difusão nos poros internos e na etapa 4 ocorre o fenômeno de adsorção (FLORIDO, 2011).

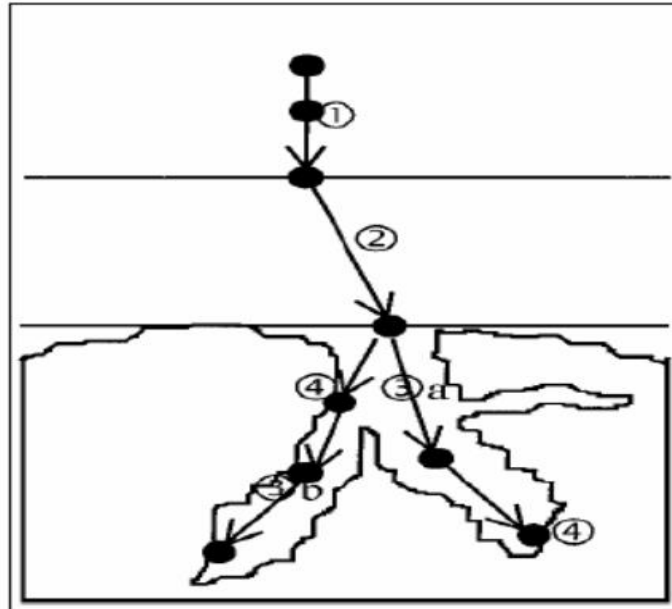


Figura 7 – Etapas do processo de adsorção
Fonte – Florido (2011) modificada

Inicialmente, a cinética de adsorção é mais rápida, por ocorrer na superfície externa do adsorvente. Com o passar do tempo, a cinética do sistema fica mais lenta, por sua adsorção ocorrer na superfície e nos poros internos do adsorvente. Contudo, caso o adsorvente possua grande quantidade de microporos, a adsorção do adsorvato torna-se facilitada e acessível, ocorrendo assim uma adsorção mais lenta, comparada com adsorventes com pouca microporosidade (BARROS, 2001). Após o estudo de todas as etapas da cinética de adsorção, constata-se que a etapa de adsorção não é determinante na cinética do processo e sim na etapa de difusão nos poros internos, conseqüentemente, a cinética é dependente das características intrínsecas do adsorvato e adsorvente que afetam a taxa total de adsorção (FLORIDO, 2011).

Um mecanismo importante do processo de adsorção é o fenômeno de transferência de massas, e experimentalmente, a partir da cinética de adsorção, é possível encontrar o tempo de equilíbrio, no qual, é o tempo requerido em relação a adsorção máxima do adsorvato pelo adsorvente (UNRUH, 2011). Para essa avaliação máxima, utilizam-se vários modelos cinéticos.

A equação cinética de Lagergren foi a primeira a ser desenvolvida para um processo de sorção de um sistema sólido-líquido, sendo este mais utilizado para determinar a taxa de sorção de um soluto em uma solução líquida (HO; MCKAY, 2004). O modelo cinético de pseudo-primeira ordem é representada pela Equação 1:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t) \text{ (Eq. 1)}$$

Separando as variáveis da Equação 1:

$$\frac{dq_t}{(q_e - q_t)} = k_1 dt \text{ (Eq. 2)}$$

Integrando a Equação 2 para as seguintes condições de contorno de $t=0$ até $t=t$ e $q_t=0$ até $q_t=q_t$:

$$\int_0^{q_t} \frac{dq_t}{(q_e - q_t)} = \int_0^t k_1 dt \text{ (Eq. 3)}$$

obtemos,

$$\ln \frac{(q_e - q_t)}{q_e} = -k_1 t \text{ (Eq. 4)}$$

e

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \text{ (Eq. 5)}$$

no qual,

q_e é a quantidade de adsorvato retido no adsorvente no equilíbrio (mg g^{-1});

q_t é a quantidade de adsorvato retido no adsorvente no tempo “ t ” (mg g^{-1});

k_1 é a constante cinética de pseudo-primeira ordem (min^{-1}).

A forma linear do modelo de pseudo-primeira ordem pode ser observada pela Equação 6 ou 7:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln(q_e) - k_1 t \text{ (Eq. 6)}$$

ou,

$$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - \frac{k_1}{2,303} t \text{ (Eq. 7)}$$

Os parâmetros do modelo de pseudo-primeira ordem (q_e e k_1) podem ser facilmente obtidos a partir dos coeficientes angular (inclinação – $-k_1/2,303$) e linear (intercepto – $\log q_e$) da reta após representação gráfica de $\log (q_e - q_t)$ versus t .

Este modelo considera a velocidade de ocupação dos sítios ativos pelo adsorvato proporcional ao número de sítios ativos disponíveis no material adsorvente (AKSU, 2001).

O modelo de pseudo-segunda ordem baseia-se também na capacidade de sorção do sorvente, porém, prediz o comportamento cinético sobre toda a faixa de tempo de adsorção (AKSU, 2001). A Equação 8 apresenta o modelo de pseudo-segunda ordem de Lagergren:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (Eq. 8)$$

Separando as variáveis da Equação 8:

$$\frac{dq_t}{(q_e - q_t)^2} = k_2 dt \quad (Eq. 9)$$

Integrando a Equação 9 para as seguintes condições de contorno de $t=0$ até $t=t$ e $q_t=0$ até $q_t=q_t$:

$$\int_0^{q_t} \frac{dq_t}{(q_e - q_t)^2} = \int_0^t k_2 dt \quad (Eq. 10)$$

temos,

$$\frac{1}{(q_e - q_t)} = \frac{1}{q_e} + k_2 t \quad (Eq. 11)$$

e

$$q_t = \frac{t}{\frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}} \quad (Eq. 12)$$

ou

$$q_t = \frac{t k_2 q_e^2}{1 + k_2 t q_e} \quad (Eq. 13)$$

em que,

q_e é a quantidade de adsorvato retido no adsorvente no equilíbrio (mg g^{-1});

q_t é a quantidade de adsorvato retido no adsorvente no tempo “ t ” (mg g^{-1});

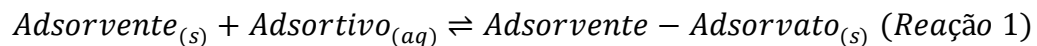
k_2 é a constante cinética de pseudo-segunda ordem ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$).

O modelo de pseudo-segunda ordem pode ser escrita na sua forma linear conforme a seguinte Equação 14:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (\text{Eq. 14})$$

Os parâmetros do modelo de pseudo-segunda ordem (q_e e k_2) podem ser obtidos a partir dos coeficientes angular (inclinação – $1/q_e$) e linear (intercepto – $1/k_2 q_e^2$) da reta após representação gráfica de t/q_t versus t .

Considerando que as constantes cinéticas de reação (k_1 e k_2) são dependentes da temperatura, é necessário determinar a energia de ativação (E_a) do processo de adsorção, ou seja, a energia mínima que os reagentes necessitam para que o processo de adsorção ocorra e forme os produtos (Reação 1) (SILVA, 2005).



O reagente do processo de adsorção são os sítios ativos do adsorvente e o adsorvivo em solução aquosa; e o produto é a quantidade de adsorvato adsorvido na superfície do adsorvente (SILVA, 2005). Para a determinação da E_a utiliza-se a equação de Arrhenius:

$$k = A e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (\text{Eq. 15})$$

no qual,

k é a constante de velocidade de adsorção obtida a partir do ajuste cinético ($\text{g mol}^{-1} \text{s}^{-1}$);

E_a é a energia de ativação de adsorção (J mol^{-1})

A é o fator de frequência de Arrhenius ou fator pré-exponencial ($\text{g mol}^{-1} \text{s}^{-1}$);

R é a constante universal dos gases ideais ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$);

T é a temperatura (K)

A forma linear da equação de Arrhenius pode ser adquirida pela Equação 16:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (\text{Eq. 16})$$

Os parâmetros de Arrhenius (A e E_a) podem ser obtidos a partir dos coeficientes angular (inclinação – $-E_a/R$) e linear (intercepto – $\ln A$) da reta após representação gráfica de $\ln k$ versus $1/T$ (SILVA, 2005; FIGUEIREDO, 2014).

3.7.3 – Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção são curvas que indicam (COELHO, et al., 2014; VASQUES, 2008):

- A forma como o adsorvente efetivamente adsorverá a molécula ou a substância;
- Se a purificação requerida pode ser alcançada;
- A estimativa da quantidade máxima de adsorvato que o adsorvente adsorverá;
- Informações que determinam se o adsorvente pode ser economicamente viável para a purificação do líquido.

Essa capacidade de captação acaba sendo uma das características mais importante de um adsorvente. Portanto, as isotermas de adsorção descrevem o fenômeno de equilíbrio entre a concentração em solução ou fase fluida (C_e) e a quantidade de substância adsorvida por unidade de massa do adsorvente (q_e) em uma determinada temperatura (MCCABE et al., 1993; COELHO, et al., 2014; BARROS, 2001). O parâmetro q_e pode ser obtido conforme Equação 17:

$$q_e = \frac{V(C_0 - C_e)}{m} \quad (Eq. 17)$$

no qual,

q_e é a quantidade de adsorvato retido no adsorvente no equilíbrio (mg g^{-1});

C_0 é a concentração inicial do adsorvato em solução (mg L^{-1});

C_e é a concentração do adsorvato no equilíbrio (mg L^{-1});

V é a volume da solução (L);

m é a massa do adsorvente (g).

Segundo Brunauer e colaboradores (1940), as isotermas de adsorção são classificadas de acordo com suas formas e processos, baseados no equilíbrio sólido-gás podendo ser agrupados em cinco tipos conforme Figura 8, sendo que essa classificação é habitualmente chamada de BET (Brunauer-Eminett-Teller) e a maioria dessas isotermas resultam da adsorção física.

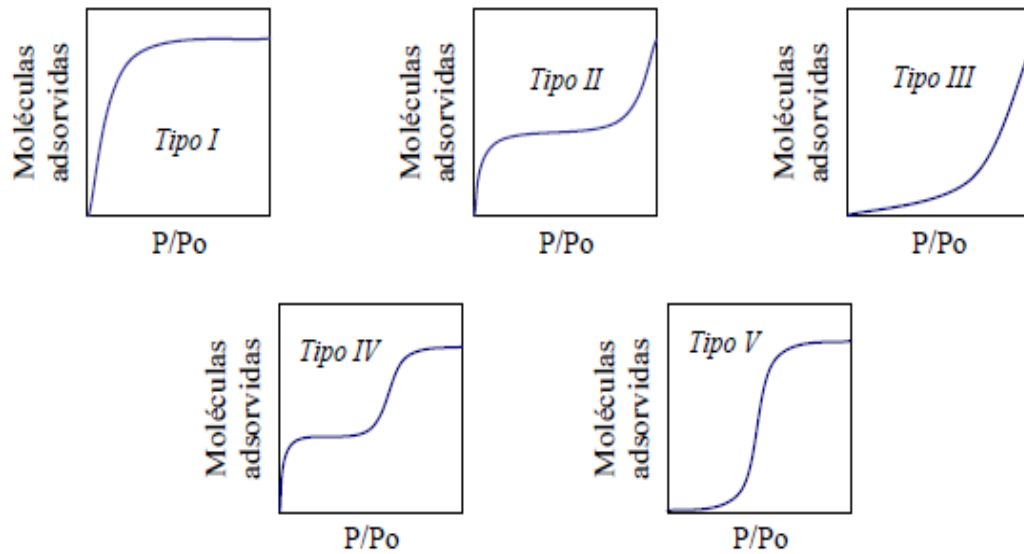


Figura 8 – Isothermas de adsorção classificadas por Brunauer *et al.* (1940)

Fonte – Florido (2011)

A isoterma do tipo I é típica de sólidos ou adsorventes microporosos, nos quais o tamanho do poro não é muito maior do que o diâmetro da molécula do adsorvato, existindo um limite de saturação correspondente ao enchimento completo dos microporos. A isoterma do tipo II e III são típicas de sólidos ou adsorventes que apresentam um grande volume microporoso, ou seja, que possuem uma grande faixa de tamanho de poros, onde ocorre a formação progressiva de multicamadas desde baixas concentrações. Já a isoterma do tipo IV é típica de adsorventes mesoporosos, onde o diâmetro do poro é muito maior que o diâmetro das moléculas do adsorvato, neste caso, ocorre a formação de duas camadas na superfície do adsorvente. Por fim, a isoterma do tipo V é típica de sólidos microporosos sendo observado quando os efeitos de atração intermoleculares são suficientemente grandes (FLORIDO, 2011; VASQUES, 2008; RUTHVEN, 1984)

As isothermas podem ser classificadas de acordo com o equilíbrio entre a concentração do adsorvato na solução e a quantidade de adsorvato adsorvido na superfície do adsorvente a uma certa temperatura, ou seja, a quantidade máxima de adsorvato que o adsorvente adsorverá (COELHO, et al., 2014). Tais isothermas são expressas através de curvas e gráficos como pode ser visto na Figura 9:

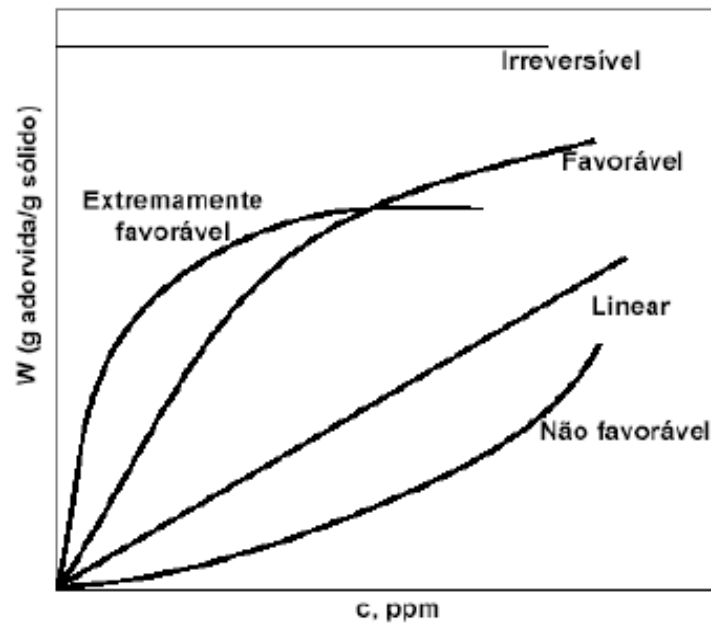


Figura 9 – Isothermas de adsorção
 Fonte – McCabe et al. (1993) modificada

As isothermas do tipo retilínea, indicam que a quantidade adsorvida é praticamente proporcional a concentração do fluido, não indicando uma capacidade máxima para adsorção. Isothermas do tipo côncava ou curvatura ascendente são aparentemente desfavoráveis devido à baixa capacidade de remoção em baixas concentrações de adsorvato no fluido. As isothermas do tipo irreversível ou horizontal são as que apresentam maiores valores de concentração do soluto. E as isothermas do tipo convexa ou curvatura descendente são as que aparentam serem mais favoráveis, por extraírem grandes quantidades, mesmo em baixos níveis de concentração de adsorvato no fluido (MCCABE et al., 1993; COELHO et al., 2014; FÁVERE, 1994).

Sabendo-se que as isothermas de adsorção estão relacionadas com as relações de equilíbrio do meio, alguns modelos matemáticos correlacionam essa quantidade adsorvida no equilíbrio com o meio circundante (COELHO et al., 2014). E dentre esses modelos, os mais conhecidos e utilizados para bioadsorção em fase líquida, são as equações ou modelos de monocamada de Langmuir e multicamada de Freundlich (FEBRIANTO et al., 2009; TARLEY, 2004; DI BERNARDO; DANTAS, 2005; BRANDÃO; SILVA, 2006; FREUNDLICH, 1906).

3.7.3.1 – Isotherma de Langmuir

O modelo teórico mais simples para adsorção em monocamada originalmente desenvolvido para uma sorção química de um sistema sólido-gás, deve-se a Langmuir, em 1916.

Baseia-se na hipótese de movimento das moléculas adsorvidas pela superfície do adsorvente, de modo que, haja uma distribuição uniforme formando uma monocamada que recobre toda superfície (LANGMUIR, 1918; RUTHVEN, 1984). Entretanto, o modelo é tradicionalmente e amplamente requisitado para descrever o comportamento do adsorvato no equilíbrio para diversos sistemas (FOO e HAMEED, 2010). Pressupõe-se que as forças que atuam na interação adsorvato/adsorvente são similares em natureza à aquelas que envolvem combinação química (VOLESKY, 2003).

De acordo com Ruthven (1984) e Kanitz (2007) o modelo de Langmuir é baseado em algumas hipóteses:

- A adsorção ocorre em monocamada;
- As moléculas são adsorvidas em um número fixo de sítios acessíveis bem definidas (superfície uniforme);
- Cada sítio pode adsorver uma única molécula de adsorvato;
- Todos os sítios de adsorção são equivalentes energeticamente uns aos outros;
- Não existe interação entre as moléculas adsorvidas;
- A capacidade de adsorção de um certo sítio é independente dos sítios vizinhos estarem ou não preenchidos.

O modelo de Langmuir é descrito segundo a expressão:

$$q_e = \frac{q_{max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (Eq. 18)$$

no qual,

q_e é a quantidade adsorvida no equilíbrio por unidade de massa de adsorvente ($mg\ g^{-1}$);

q_{max} é a constante que representa o número total de sítios disponíveis do adsorvente, ou capacidade máxima de adsorção ($mg\ g^{-1}$);

K_L é a constante de Langmuir relacionado com o calor de adsorção ($L\ mg^{-1}$);

C_e é a concentração de equilíbrio do soluto em solução ($mg\ L^{-1}$).

O modelo pode ser expresso em termos do parâmetro de equilíbrio ou fator de separação R_L , que é uma constante adimensional definida conforme Equação 19 (MAGDYA; DAIFULLAH, 1998).

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (Eq. 19)$$

no qual,

C_0 é a maior concentração inicial do analito em solução (mg L^{-1}).

Este parâmetro de equilíbrio permite prever e indicar a forma da isoterma de adsorção e a natureza do processo de sorção se ela é favorável ou desfavorável. As possíveis correlações entre os valores de R_L e as possibilidades ou tipos de isotermas de adsorção são (MAGDYA; DAIFULLAH, 1998):

- $R_L > 1$ a adsorção é desfavorável;
- $R_L = 1$ a adsorção é linear;
- $0 < R_L < 1$ a adsorção é favorável;
- $R_L = 0$ a adsorção é irreversível.

A forma linear da isoterma de Langmuir pode ser observada pela Equação 20 ou 21:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{K_L q_{max} C_e} \quad (Eq. 20)$$

ou

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{max} K_L} + \frac{1}{q_{max}} C_e \quad (Eq. 21)$$

Os parâmetros do modelo de Langmuir (K_L e q_{max}) podem ser facilmente obtidos a partir dos coeficientes angular (inclinação – $1/q_{max}$) e linear (intercepto – $1/q_{max} K_L$) da reta após representação gráfica de C_e/q_e versus C_e (RUTHVEN, 1984).

3.7.3.2 – Isotherma de Freundlich

O modelo puramente empírico desenvolvido por Freundlich em 1907 para adsorção de gases em superfícies sólidas, é muito utilizado em vários sistemas pois descreve o equilíbrio em superfícies heterogêneas, além de considerar uma distribuição exponencial para caracterizar os vários sítios de adsorção com energias adsorptivas diferentes e não delimita a adsorção em monocamadas e sim em multicamadas (VOLESKY, 1990; FLORIDO, 2011). Como este modelo não prevê o estado de saturação do processo de adsorção, ele é bem aplicado a dados experimentais de faixa de concentração limitada (TAVARES, 2003).

O modelo de Freundlich é representado pela expressão:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (Eq. 22)$$

em que,

q_e é a quantidade adsorvida no equilíbrio por unidade de massa de adsorvente (mg g^{-1});

C_e é a concentração de equilíbrio do soluto em solução (mg L^{-1});

K_F é a constante de equilíbrio de Freundlich relacionado com o calor de adsorção (mg g^{-1}) (L mg^{-1})^{1/n};

n é a constante adimensional ou empírica que indica se a adsorção é favorável.

Os parâmetros empíricos K_F e n do modelo de Freundlich, são constantes que dependem de diversos fatores experimentais como temperatura, área superficial do adsorvente e do sistema em questão; essas constantes se relacionam com a distribuição dos sítios ativos e a capacidade de adsorção do adsorvente. K_F pode ser interpretada como uma extensão ou capacidade de adsorção e n como indicativo da energia ou intensidade de reação e se a adsorção é favorável no intervalo $1 < n < 10$ (CIOLA, 1981; BARROS, 2001). Para $1/n$ igual a 1, nota-se uma adsorção linear e geralmente ocorre para concentrações de soluto e quantidade de adsorvente muito baixas; para $1/n > 1$, nota-se uma isoterma de curvatura para cima ou côncava onde a energia de sorção marginal é proporcional com a concentração superficial; e para $1/n < 1$, nota-se uma isoterma de curvatura para baixo ou convexa onde a energia de sorção marginal é inversamente proporcional com a concentração superficial (Figura 10) (DELLE SITE, 2001).

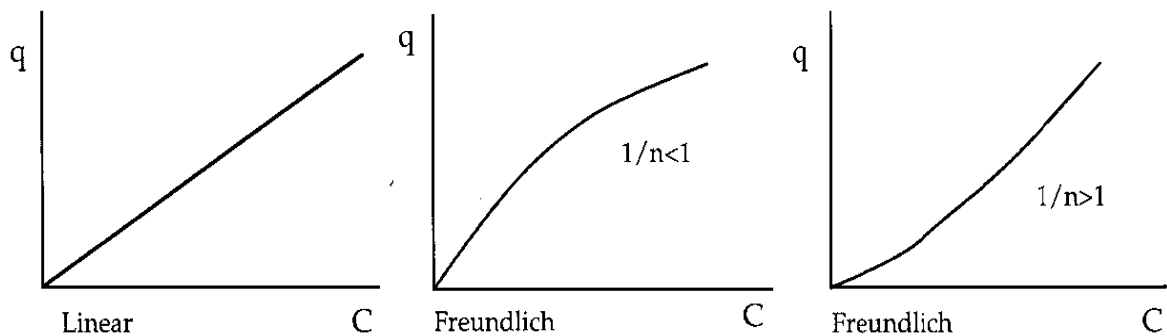


Figura 10 – Isothermas típicas que descrevem a sorção de compostos orgânicos em água e por adsorventes naturais

Fonte – Delle Site (2001) modificada

A isoterma de Freundlich pode ser escrita na sua forma linear conforme a seguinte Equação 23:

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (\text{Eq. 23})$$

Os parâmetros do modelo de Freundlich (n e K_F) também podem ser obtidos a partir dos coeficientes angular (inclinação $-1/n$) e linear (intercepto $-\log K_F$) da reta após representação gráfica de $\log q_e$ versus $\log C_e$.

3.7.4 – Termodinâmica de adsorção

O estudo da termodinâmica de adsorção está relacionado com a determinação dos seguintes parâmetros: ΔG° , ΔH° e ΔS° . Grandezas importantíssimas para auxiliar, indicar e concluir se o processo é espontâneo ou não, exotérmico ou endotérmico, além de dar informações relativas sobre a heterogeneidade do adsorvente, afinidade relativa com o adsorvato e se o processo é de adsorção física ou química (UNRUH, 2011; SCHNEIDER, 2008)

Para que um processo de adsorção seja espontâneo, é necessário que $\Delta G < 0$. Quando $\Delta G > 0$, o processo não é espontâneo e quando o valor de $\Delta G = 0$, o processo de adsorção está em equilíbrio termodinâmico (LESMANA et al., 2009; SCHNEIDER, 2008).

Para que um processo seja exotérmico e reversível (fisiossorção) é necessário que $\Delta H < 0$, indicativo da liberação de calor do processo; enquanto que, $\Delta H > 0$, indica que o processo é endotérmico e irreversível (quimiossorção), ou seja, quando o processo absorve calor (MONTEIRO, 2009; LESMANA et al., 2009; DELLE SITE, 2001).

A variação da energia livre de Gibbs (ΔG°) é estimada pelas seguintes relações termodinâmicas (LESMANA et al., 2009; SCHNEIDER, 2008):

$$\Delta G_{ads}^\circ = -RT \ln K_d \quad (Eq. 24)$$

$$\Delta G_{ads}^\circ = \Delta H_{ads}^\circ - T\Delta S_{ads}^\circ \quad (Eq. 25)$$

no qual,

R é a constante universal dos gases ideais ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$);

T é a temperatura (K).

e

$$K_d = \frac{q_e}{C_e} \quad (Eq. 26)$$

em que,

q_e é a concentração de equilíbrio no adsorvente (mg g^{-1});

C_e é a concentração de equilíbrio na solução (mg L^{-1});

K_d é a constante (distribuição ou partição) de equilíbrio termodinâmico aparente.

A forma linear de K_d pode ser expressa conforme a Equação 27:

$$\ln q_e = \ln K_d + \ln C_e \quad (Eq. 27)$$

O parâmetro K_d pode ser obtido a partir do coeficiente linear (intercepto – $\ln K_d$) da reta após representação gráfica de $\ln q_e$ versus $\ln C_e$.

A variação da entalpia de adsorção (ΔH_{ads}°) e a variação da entropia de adsorção (ΔS_{ads}°) são estimadas pela seguinte equação de Van't Hoff (LESMANA et al., 2009; SCHNEIDER, 2008; ARAÚJO et al., 2009; FREITAS et al. 2005):

$$\ln K_d = -\frac{\Delta H_{ads}^\circ}{R} \frac{1}{T} + \frac{\Delta S_{ads}^\circ}{R} \quad (Eq. 28)$$

Os parâmetros ΔH_{ads}° e ΔS_{ads}° podem ser facilmente obtidos a partir dos coeficientes angular (inclinação – $-\Delta H_{ads}^\circ/T$) e linear (intercepto – $\Delta S_{ads}^\circ/T$) da reta após representação gráfica de $\ln K_d$ versus $1/T$ (UNRUH, 2011).

3.8 – Adsorventes

Atualmente, a preocupação com a poluição dos corpos d'água por diferentes contaminantes e principalmente por produtos químicos de origem antrópicas, tornou-se um dos principais assuntos de interesse de pesquisadores, órgãos públicos e privados. Sabendo-se das graves consequências que os mesmos podem causar, novas medidas e processos de descontaminação de efluentes precisam ser desenvolvidas. Inúmeros adsorventes têm sido avaliados como uma nova alternativa na remoção de contaminantes emergentes em águas superficiais. Todavia, a seleção do mesmo depende de vários fatores como: relação custo/benefício, versatilidade, capacidade de adsorção, disponibilidade no mercado, destino final após o uso, reações adversas.

O carvão ativado é um dos adsorventes mais utilizado na remoção de poluentes em água, devido sua elevada capacidade adsortiva; possui uma ampla faixa de remoção, desde compostos orgânicos à metais pesados, porém, seu elevado custo, inviabiliza o processo de remoção, além da grande quantidade de resíduos gerados.

Uma grande alternativa tecnológica para a remoção de contaminantes em água são alguns grupos de biomassas que estão sendo considerados potenciais adsorventes no cenário mundial, chamados de biossorventes (Figura 11).

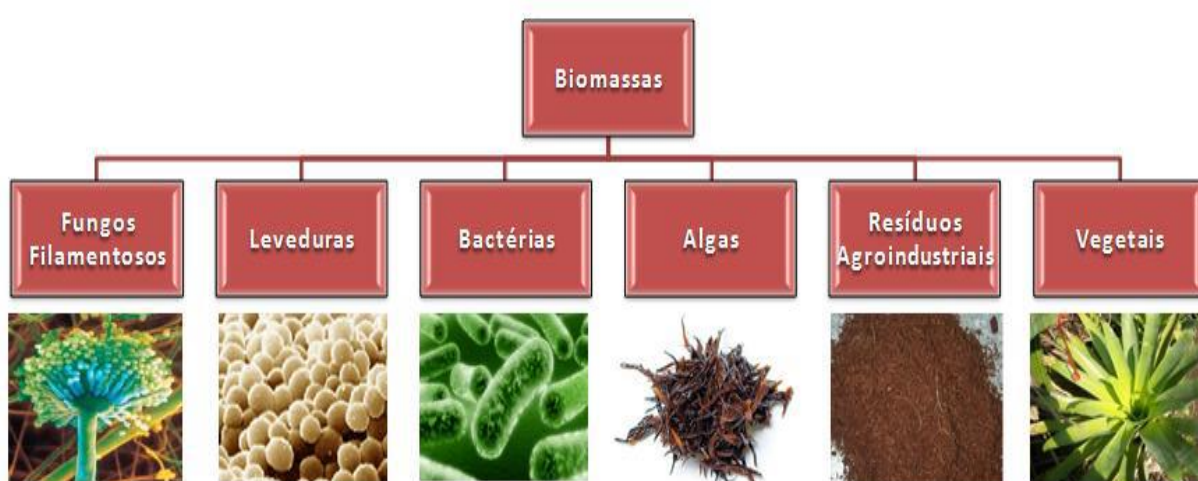


Figura 11 – Tipos de biomassas empregadas como biossorventes

Na literatura podemos encontrar muitos trabalhos desenvolvidos a partir da utilização desses biossorventes na remoção de contaminantes em soluções aquosas. Fernandes e colaboradores (2011), utilizaram a turfa decomposta como biossorvente na remoção dos hormônios 17β -estradiol e EE2 de soluções aquosas, sendo a turfa um material relativamente barato e com uma boa capacidade de adsorção. Cunha (2012), estudou a interação e remoção de certos interferentes endócrinos com turfas, sedimentos e algumas espécies de plantas em amostras aquosas.

Bharathi e Ramesh (2013), realizaram um estudo de revisão citando inúmeros trabalhos envolvendo a remoção de corantes a partir de resíduos agrícolas como adsorventes. Por exemplo, cascas de laranja, banana, arroz e feijão na remoção dos corantes violeta, azul básico 9, amarelo ácido 36 e azul de metileno, respectivamente. Em outro estudo, Grassi e colaboradores (2012) apontam alguns trabalhos que utilizaram resíduos sólidos agrícolas na remoção de poluentes em soluções aquosas como cascas de amêndoa, avelã, álamo, laranja, arroz, serragem de noqueira, bagaço de cana-de-açúcar, resíduos de coco, semente de mamão, entre outros.

Tanyildizi (2011) trabalhou com a adsorção do corante preto reativo 5 em solução aquosa por cascas de amendoim. Enquanto, Deniz e Karaman (2011) trabalharam com folhas de pinheiro na sua forma natural como biossorvente para a remoção do corante amarelo ácido 220 a partir de soluções aquosas.

Barros (2001) avaliou a eficiência de alguns adsorventes de baixo custo como argila ativada, carvão mineral (ROM) e “schungite” na remoção de íons metálicos em águas, enquanto, Vagheti (2009) utilizou cascas de pinhão e nozes para o tratamento de águas contaminadas com íons metálicos potencialmente tóxicos. Sharma e colaboradores (2008) avaliaram a capacidade adsorptiva de seis adsorventes de baixo custo derivados de resíduos agrícolas e industriais na remoção de atrazina em águas.

Nogueira e colaboradores (2007), trabalharam com bagaço de casca de coco na remoção de fenol e nitrofenóis em soluções aquosas, uma classe comum de contaminantes de efluentes industriais, que conferem odores e sabores desagradáveis à água mesmo em baixas concentrações. Censi e colaboradores (2013) aplicaram o bagaço de maçã do tipo gala na remoção do hormônio EE2.

Em seu estudo, Pantano e colaboradores (2014) utilizaram serragem na remoção de fósforo provenientes de fertilizantes em corpos aquáticos. Goulart e colaboradores (2012) aplicaram sabugo de milho, um rejeito agrícola de baixíssimo custo na remoção de metais pesados em efluentes industriais. Gonçalves (2013) em seu trabalho, relatou que o Grupo de Estudos em Solos e Meio Ambiente (Geoma) tem avaliado vários resíduos agroindustriais na remoção de metais e pesticidas, tais como sementes de moringa oleífera, crambe, pinhão manso, cascas de mandioca, castanha do Brasil, castanha de caju e de pinus, materiais alternativos e sustentáveis.

Bianchin (2011) utilizou como biossorventes o produto da digestão do cupim e rolha de cortiça na remoção de metais (cádmio e cromo) em matrizes biológicas e ambientais e Alfaya e colaboradores (2009) em seu trabalho, utilizaram cascas de banana na remoção dos metais Cu, Zn, Cd e Pb. Lesmana e colaboradores (2009), apresentaram um breve resumo sobre alguns estudos da aplicação de biomassas (resíduos agroindustriais, algas, bactérias e fungos) na separação de metais em águas residuais. Seixas e colaboradores (2016), prepararam em seu trabalho, adsorventes a base de bagaço de cana-de-açúcar para o tratamento da vinhaça *in natura* na remoção de compostos polifenólicos e orgânicos.

Sendo assim, é possível encontrar vários estudos sobre a utilização de biossorventes como uma alternativa barata e sustentável na remoção de vários poluentes que afetam diretamente as fontes hídricas do planeta.

3.9 – Validação de método

Validação de método é uma sucessão ou conjunto de etapas que avalia se um método analítico é atendível para os propósitos a que ele se destina, garantindo uma maior confiabilidade dos resultados gerados.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004) estabelece: *“A validação de método é conhecida coletivamente por verificações realizadas para garantir que as características de desempenho de um método sejam entendidas e para demonstrar que o método seja cientificamente coerente, sob as condições nas quais ele deve ser aplicado”*

O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2003) define validação: *“Comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos”*.

A validação de método para a International Union of Pure and Applied Chemistry (THOMPSON et al., 2002), *“é o uso de um conjunto de testes que quaisquer pressupostos em que o método analítico se baseia e estabelece e documenta as características de um método de desempenho, demonstrando, assim, se o método é adequado para uma finalidade analítica particular”*.

O processo de validação de um método analítico é descrito em um procedimento, a partir, dos estudos dos parâmetros ou características de desempenho analítico, conhecidas por figuras analíticas de mérito são: seletividade; linearidade e faixa de trabalho; precisão; exatidão; limite de detecção; limite de quantificação e robustez.

3.9.1 – Seletividade

A seletividade de um método analítico de separação é a capacidade de produzir e distinguir respostas para um determinado analito em exame de todo o resto presente na amostra complexa que podem interferir na sua determinação, ou seja, o grau de quantificar a substância a analisar com precisão na presença de interferências (THOMPSON et al., 2002; ANVISA, 2004). Ela garante que o pico de resposta seja exclusivamente da substância de estudo e caso a seletividade seja comprometida, outros parâmetros de desempenho estarão fortemente prejudicadas (RIBANI et al., 2004).

Ribani e colaboradores (2004), relatam que uma das maneiras de avaliar a seletividade é comparando a matriz livre do analito de interesse, conhecido por branco do método e a matriz fortificada com o analito, onde nenhum interferente presente na matriz devem possuir um tempo

de retenção parecido ou semelhante ao da substância em estudo, assim, serem eluídas separadamente sem interferência alguma.

3.9.2 – Linearidade e faixa de trabalho

A linearidade de um método analítico é a habilidade e capacidade de um método em produzir dados diretamente proporcionais à concentração da substância de interesse, dentro de uma determinada faixa de trabalho (RIBANI et al., 2004; INMETRO, 2003). Sendo determinada pela medição de amostras (padrão), com concentrações de analito abrangendo a faixa reivindicada pelo método, por padronização interna ou externa e formulada por uma relação matemática entre o sinal e a massa ou concentração do composto a ser determinado (INMETRO, 2003; ANVISA, 2004). Essa relação matemática é expressa empiricamente ou na utilização de Softwares como Microsoft Excel[®] ou Microcal Origin[®] para obter uma reta por regressão linear de primeiro grau, chamada de curva analítica ou curva de calibração analítica, definida por no mínimo 6 pontos devido aos possíveis erros associados (aleatórios e/ou sistemáticos), usando o método dos mínimos quadrados para encontrar a “melhor” reta que passa através de um conjunto de pontos que apresentam alguma dispersão. A melhor reta será aquela em que alguns pontos ficam acima da reta e alguns abaixo da reta (HARRIS, 2008).

Equação da reta:

$$y = mx + b \text{ (Eq.29)}$$

no qual,

m é o coeficiente angular (inclinação ou sensibilidade analítica);

b é o coeficiente linear (valor de y na interseção da reta com o eixo y , quando $x = 0$);

y é o sinal ou resposta medida (absorbância, altura ou área do pico, etc.);

x é a concentração do analito.

A estimativa dos coeficientes da curva de calibração são obtidos pela Equação 30 e 32 e seus respectivos desvios ou erro padrão pela Equação 31 e 33 (HARRIS, 2008):

$$m = \frac{n \sum(x_i y_i) - \sum x_i \sum y_i}{n \sum(x_i^2) - (\sum x_i)^2} \text{ (Eq. 30)}$$

$$S_m = S_y \sqrt{\frac{n}{D}} \quad (\text{Eq. 31})$$

$$b = \frac{\sum(x_i^2) \sum y_i - (\sum x_i y_i) \sum x_i}{n \sum(x_i^2) - (\sum x_i)^2} \quad (\text{Eq. 32})$$

$$S_b = S_y \sqrt{\frac{\sum(x_i^2)}{D}} \quad (\text{Eq. 33})$$

$$D = n \sum(x_i^2) - \sum x_i \sum x_i \quad (\text{Eq. 34})$$

em que,

n é número de pontos;

S_m é a estimativa do desvio-padrão ou erro-padrão do coeficiente angular;

S_b é a estimativa do desvio-padrão ou erro-padrão do coeficiente linear;

D é o determinante.

Uma medida superficial, mas muito utilizada para avaliar a qualidade da reta de regressão linear, são os coeficientes de determinação e de correlação (HARRIS, 2008).

$$R^2 = \frac{[\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]^2}{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2} \quad (\text{Eq. 35})$$

no qual,

\bar{x} é a média de todos os valores de x ;

\bar{y} é a média de todos os valores de y ;

R^2 é o coeficiente de determinação.

Quanto mais próximo o coeficiente de determinação estiver de 1,0; menor será a porcentagem da variação da variável dependente explicada pela variável independente, ou seja, menor a dispersão ou desvio dos dados experimentais e menor a incerteza do coeficiente estimado (RIBANI et al., 2004).

$$R = \sqrt{R^2} \quad (\text{Eq. 36})$$

em que,

R é o coeficiente de correlação.

Quanto mais próximo o coeficiente de correlação estiver de -1,0 e 1,0; mais forte é a correlação entre as variáveis dependente e independente; e mais adequada a reta como modelo matemático (INMETRO, 2003).

A faixa de trabalho de um método é o intervalo entre os limites inferior e superior de concentração da substância no qual foi possível a determinação sob as condições específicas para o ensaio. Esse limite inferior deve ser igual ou maior que o limite de detecção do método (INMETRO, 2003)

3.9.3 – Precisão

A precisão de um método analítico é a avaliação ou grau da proximidade da concordância entre resultados de testes independentes, repetidos de uma mesma amostra, em condições pré-estabelecidas (ANVISA, 2004; INMETRO, 2003; THOMPSON et al., 2002).

Assim sendo, apreciador da dispersão dos dados, a precisão é normalmente estimada em termos do desvio padrão absoluto (SD) ou pela estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecido por coeficiente de variação (CV) (RIBANI et al., 2004; ANVISA, 2004; THOMPSON et al., 2002).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (Eq.37)$$

no qual,

\bar{x} é a média das determinações;

x_i é o valor de uma determinação;

$n - 1$ é o graus de liberdade do sistema.

$$RSD (\%) \text{ ou } CV (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (Eq.38)$$

Um outro critério de aceitação no estudo da precisão do método, é a utilização da equação de Horwitz, que indica um CV inversamente proporcional a concentração do analito (RATH et al., 2008).

$$CV(\%) = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (Eq. 39)$$

em que,

C é a fração de massa expressa como exponencial de 10 (por exemplo, $1 \text{ mg g}^{-1} = 10^{-3}$).

Para análise de traços, consideram-se aceitáveis CV de até 20% e a equação de Horwitz apenas pode ser utilizada para estabelecer parâmetros de CV de concentrações expresso como exponencial de 10 para valores maiores que 10^{-7} , pois para concentrações menores que 10^{-7} os valores de CV seriam extremamente elevados (RATH et al., 2008; BRITO et al., 2003).

Entretanto, a ANVISA prediz que a precisão pode proferir de diferentes formas dependendo das condições em que ela possa ser calculada. Níveis de repetitividade, referente a medições realizadas sob condições do mesmo método, mesmo material, mesmo operador, mesmo laboratório e repetições em curto período de tempo; e níveis de reprodutibilidade, referente a medições realizadas sob condições do mesmo método, diferentes operadores, laboratórios diferentes, equipamentos diferentes e repetições em um longo período de tempo.

Quando é preciso avaliar a precisão em termos estatísticos na comparação de resultados, utiliza-se testes estatístico de hipótese que nos permite rejeitar ou não rejeitar uma hipótese estatística com base nos resultados de uma amostra ou método. São eles, teste F, que é o teste de comparação de variâncias de duas amostras ou método (INMETRO, 2003).

$$F_{calculado} = \frac{S_A^2}{S_B^2} \quad (Eq. 40)$$

s_i^2 variância da amostra ou do método.

Contudo, é necessário colocar a maior variância no numerador, de modo a obter um $F_{calculado}$ maior que 1. Posteriormente, o valor obtido compare-o com o valor tabelado de F. Em casos, $F_{calculado} > F_{tabelado}$, os dois métodos ou amostras apresentam diferença significativa entre seus resultados estatisticamente, e quando $F_{calculado} < F_{tabelado}$, os resultados obtidos não apresentam diferença significativa estatisticamente (AMARANTE JUNIOR et al., 2001; RIBANI et al., 2004).

O teste t-Student, é o teste de comparação de uma ou mais médias de uma amostra ou método (RIBANI et al., 2004). O teste para uma média é dita:

$$\mu = \bar{x} \pm t \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (Eq. 41)$$

em que,

μ é o intervalo de confiança da média real;

\bar{x} é a média estimada da amostra;

t é o valor do teste t de Student tabelado para $n-1$ graus de liberdade;

n é o número de observações.

O teste t-Student usada para duas médias independentes é:

$$t_{calculado} = \frac{|\bar{x} - \bar{y}|}{s_{agrupado}} \sqrt{\frac{n_x n_y}{n_x + n_y}} \quad (Eq. 42)$$

$$s_{agrupado} = \sqrt{\frac{s_x^2(n_x - 1) + s_y^2(n_y - 1)}{n_x + n_y - 2}} \quad (Eq. 43)$$

no qual,

n_i é o número de observações;

s_i^2 é a variância das amostras.

Comparando o valor tabelado de t para $n_x + n_y - 2$ graus de liberdade com o valor calculado, para $t_{calculado} > t_{tabelado}$, em níveis de confiança de 95% os dois resultados são considerados diferentes estatisticamente, e quando $F_{calculado} < F_{tabelado}$, os resultados obtidos são considerados semelhantes estatisticamente, não apresentando diferença significativa (AMARANTE JUNIOR et al., 2001; RIBANI et al., 2004).

3.9.4 – Exatidão

A exatidão de um método analítico é a concordância entre os resultados adquiridos de um determinado ensaio analítico e um valor de referência aceito como verdadeiro, ou seja, a exatidão define a proximidade do valor verdadeiro (INMETRO, 2003; HARRIS, 2008). Conforme as normas da IUPAC (THOMPSON et al., 2002) e do INMETRO (INMETRO, 2003), dentre as maneiras de verificar a exatidão são:

- Uso de material de referência certificado (MRC)
- Comparações interlaboratoriais
- Comparações de métodos internos com um método de referência
- Adição de padrão
- Por ensaios de recuperação analítica (Valor observado/Valor esperado)

Logo, a forma de apreciar a exatidão do método é através da recuperação do analito (R_e):

$$R_e (\%) = \frac{x_{estimado} - x_{real}}{x_{real}} \times 100 \text{ (Eq.44)}$$

em que,

$x_{estimado}$ é o valor estimado ou a média aritmética dos valores obtidos;

x_{real} é o valor aceito como real ou verdadeiro.

Todavia, para ensaios de recuperação, consideram-se aceitáveis valores de R_e entre 60-115% para concentrações expressos como exponencial de 10 para valores iguais ou maiores de 10^{-6} e valores de R_e entre 40-120% para concentrações iguais ou maiores de 10^{-7} (BRITO et al. 2003).

3.9.5 – Limite de detecção

O limite de detecção de um método é a menor quantidade de substância que é “significativamente diferente” de um branco, ou seja, é o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado, mas não mensurável pelo método (HARRIS, 2008). Definido pelo INMETRO como sendo a concentração mínima de um composto medido e declarado acima de 95% de confiança de que a concentração da substância é maior que zero.

Para a obtenção do LD, possuem duas formas bem distintas, uma delas é feito pelo método da relação sinal-ruído, que é realizada pela comparação entre a medição dos sinais de amostras em baixas concentrações conhecidas do analito e um branco (matriz isenta do analito de interesse) dessas amostras. A estimativa do LD aceitável para o sinal-ruído é uma proporção de 3:1 (RIBANI et al., 2004).

A outra forma conhecida é pelo método baseado em parâmetros da curva analítica (HARRIS, 2008), expresso como:

$$LD = 3 \times \frac{S_y}{S} \text{ (Eq. 45)}$$

no qual,

S_y é a estimativa do desvio padrão da resposta, desvio padrão dos resíduos ou erro padrão da estimativa;

S é a sensibilidade (inclinação analítica) ou coeficiente angular da curva analítica.

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum(d_i^2)}{n-2}} \quad (Eq. 46)$$

$$d_i = y_i - \hat{y} = y_i - (mx_i + b) \quad (Eq. 47)$$

em que,

d_i é o desvio vertical;

y_i é o valor da variável dependente estimada;

y é o valor da variável dependente real;

x_i é o valor da variável independente estimada;

$n - 2$ é os graus de liberdade.

Contudo, é preciso que a curva analítica contenha os pontos de interesse na faixa de concentração próximo ao LD (RIBANI et al., 2004).

3.9.6 – Limite de quantificação

O LQ de um método é a menor quantidade que pode ser medida e determinada com exatidão razoável e um nível de precisão e veracidade aceitáveis (HARRIS, 2008; INMETRO, 2003). Para a sua elucidação, utiliza-se os mesmos critérios de LD, mas usa-se uma relação sinal-ruído na proporção de 10:1 e pelos parâmetros da curva analíticas, a estimativa do desvio padrão da resposta (s_y) é multiplicada por 10, ou seja, a diferença entre os limites está na ordem de grandeza das incertezas associadas (Equação 48) (INMETRO, 2003).

$$LQ = 10 \times \frac{s_y}{S} \quad (Eq. 48)$$

3.9.7 – Robustez

A robustez de um método analítico é a capacidade de um método não ser afetado por pequenas variações, realizadas nos parâmetros de operação. Em um método cromatográfico, ele é considerado robusto, caso ele gere resultados aceitáveis quando são feitas pequenas variações na composição da fase móvel, temperatura da coluna cromatográfica, vazão da fase

móvel, volume de injeção da amostra, entre outros (HARRIS, 2008; INMETRO, 2003). Essas variações são aceitáveis na escala de $\pm 5\%$ (RIBANI et al., 2004).

3.10 – Planejamento fatorial de experimentos: Modelos multivariados

Atualmente, os procedimentos analíticos envolvendo otimização por técnicas multivariadas vêm sendo muito utilizados para analisar sistematicamente os diferentes tipos de problemas que surgem dentro de pesquisas. Através do planejamento de experimento é possível ajustar as variáveis que interagem entre si por um certo número de experimentos, possibilitando o encontro dos valores ótimos de análise e obtenção de superfícies de resposta (LUNDSTEDT et al., 1998; BEZERRA, 2003).

Em um planejamento fatorial, a variação de uma variável independente é denominada de níveis, e a variável independente chamada de fatores do sistema. Para estudar o efeito de um ou mais fatores sobre a resposta, é necessário variá-lo a certos níveis e observar essa variação. O número de experimentos possíveis para cada planejamento fatorial de experimentos é relacionado por n^k , sendo n o número de níveis e k o número de fatores. Por exemplo, a combinação aleatória de 3 fatores investigados aleatoriamente em 3 níveis diferentes, codificados pelos sinais (-, 0, +), ou seja, níveis inferiores, central e superiores respectivamente, obterá um máximo de 27 experimentos aleatórios, entretanto, é possível reduzir o número de experimentos necessários, a fim de alcançar as informações importantes, apenas redefinindo as variáveis. Pontos centrais em planejamentos fatoriais trazem boas vantagens, pois é possível identificar intervalos não-lineares na faixa de estudo e estimar erros experimentais sem a necessidade de replicatas de boa parte do planejamento (LUNDSTEDT et al., 1998; BEZERRA, 2003).

A resposta do sistema é descrita como uma função com base nas variáveis independentes do experimento, dita:

$$y = f(x) \text{ (Eq. 49)}$$

sendo aproximado por uma função polinomial que representa a relação entre as variáveis escolhidas e as respostas dentro de um domínio limitado experimental. Os domínios para duas variáveis descrevem os vértices de um quadrado e os domínios para 3 variáveis descrevem os vértices de um cubo, conforme a Figura 12.

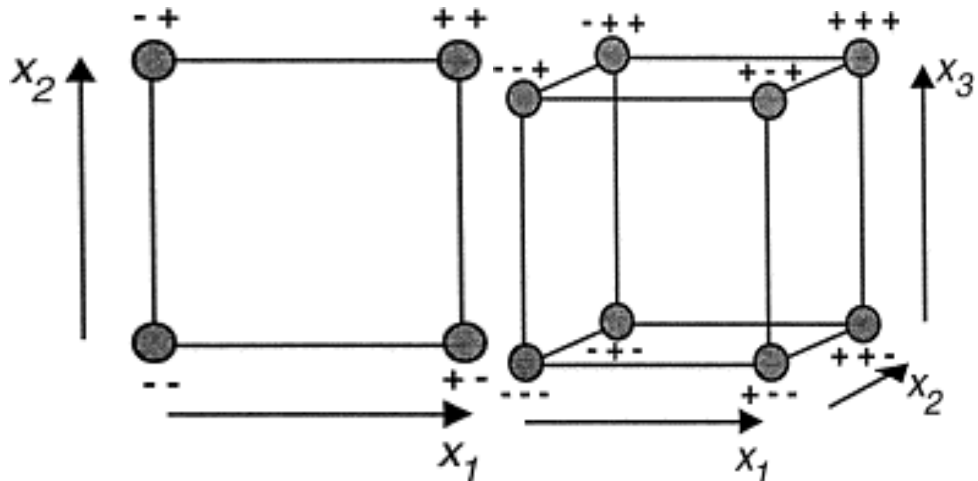


Figura 12 – Experimentos em um projeto com duas e três variáveis
 Fonte – Lundstedt et al. (1998)

Para testes e estudos de rastreio, ou seja, uma investigação experimental, são utilizados modelos polinomiais lineares com duas variáveis x_1 e x_2 , exemplo: o modelo linear de primeira ordem, o mais simples, descreve relações lineares entre as variáveis experimentais e as respostas, expressos como:

$$y = a + bx_1 + cx_2 + residual \text{ (Eq.50)}$$

O modelo de segunda ordem, contém termos adicionais que descrevem a interação entre diferentes variáveis experimentais, expressos como:

$$y = a + bx_1 + cx_2 + dx_1x_2 + residual \text{ (Eq.51)}$$

Para determinar um ponto ótimo (mínimo ou máximo), os termos quadráticos devem ser introduzidos no modelo, pois a partir deles é possível determinar as relações não-lineares entre as variáveis escolhidas e as respostas. A função polinomial como modelo quadrático é descrita por:

$$y = a + bx_1 + cx_2 + ex_1^2 + fx_2^2 + dx_1x_2 + residual \text{ (Eq.52)}$$

Em todas as equações, y é a resposta experimental, x_i são as variáveis de estudo, a um termo independente, b , c , e f e d são os coeficientes dos termos lineares, quadráticos e de

interação respectivamente, e o residual é a diferença entre o resultado calculado e o experimental, conhecido por ruído branco ou os erros aleatórios observados na resposta (LUNDSTEDT et al., 1998; BEZERRA, 2003)

A resposta experimental pode ser expressa em superfícies de respostas que abrangem técnicas matemático-estatístico para analisar e modelar problemas nos quais a variável resposta de estudo é influenciada por inúmeras variáveis independentes ou fatores, sendo que seu principal objetivo é otimizar a variável resposta. Ela ilustra graficamente a relação entre as variáveis e as respostas, gerando informações importantes sob o comportamento das variáveis no domínio escolhido (BEZERRA, 2003).

Os modelos matemáticos mais utilizados para a otimização multivariada das condições experimentais são: matriz de Doehlet, Composto Central e Box-Behnken. Nesse trabalho foi utilizado a otimização do modelo Box-Behnken.

O modelo Box-Behnken é uma classe de modelo de segunda ordem baseado em planejamento fatorial incompleto de três níveis, representada na Figura 13 (FERREIRA et al., 2007).

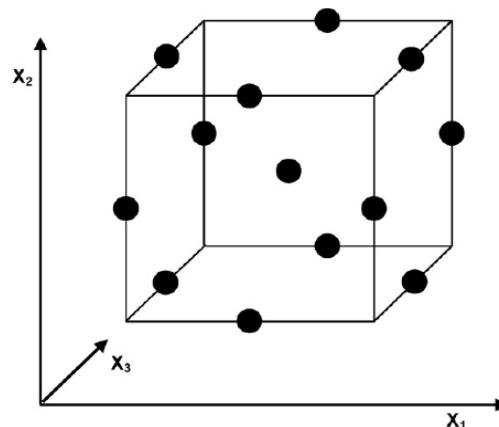


Figura 13 – Representação gráfica do modelo Box-Behnken

Fonte – Ferreira et al. (2007) modificada

Na Figura 13, o modelo tem a forma de um cubo que consiste de um ponto central e 12 pontos médios em suas 12 arestas. Para esse modelo, o número de experimentos (N) é definido como $N = 2k(k - 1) + C_0$, onde C_0 é o número de pontos centrais. Tal modelo é frequentemente usado para experimentos que não são realizados em condições extremas, ou seja, condições que corresponde os vértices do cubo; para as quais podem ocorrer resultados insatisfatórios (FERREIRA et al., 2007).

4 – Materiais e métodos

4.1 – Materiais

- Vidrarias: Béqueres (10,00; 50,00; 100,00; 150,00 mL), balões volumétricos (10,00; 50,00; 100,00; 250,00 mL), provetas (10,00; 50,00; 100,00 mL), vidro de relógio, funil, bastão de vidro, seringa de vidro (10,00 mL - Art Glass);
- Micro-pipetas (100,00; 250,00; 1000,00 µL - LabMate Soft);
- Papel de filtro qualitativo (ø 9,0 cm - Unifil), mini-filtro com membrana filtrante de PTFE (0,45 µm, 13 mm - Allcrom), membrana filtrante de éster celulose (0,45 µm - Millipore®) e de nylon (0,45 µm - Supelco Analytical).
- Coluna cromatográfica Eclipse Plus C8 (5,0 µm/4,6 x 150,0 mm – Agilent Technologies®)

4.2 – Reagentes, solventes, padrões e soluções

- Acetonitrila, isopropanol, metanol (grau HPLC – Sigma - Aldrich®);
- Água deionizada a partir de um sistema de purificação Direct-Q (Millipore®);
- Padrão de EE2 com 99,4% de pureza (grau HPLC – Fluka Analytical®);
- Anticoncepcional comercial (Ciclo 21 – Unida Química®);
- Soluções HCl e NaOH (1,0 mol L⁻¹);
- Adsorvente *in natura* (casca de amendoim – obtidas na cidade de Itajubá/MG).

4.3 – Equipamentos

- Sistema para filtração a vácuo;
- Balança analítica (Modelo AY220 – Marte®);
- pHmetro (Modelo mPA-210 – MS Tecnon®);
- Banho ultra-sônica digital (Modelo SoniClean 2 – Sanders Medical);
- Agitador magnético com aquecimento (Nova Instruments);
- Espectrômetro (Modelo FT-IR Spectrum 100 – PerkinElmer®);
- Microscópio eletrônico de varredura (Modelo EVO MA15 VP-SEM – Carl Zeiss) acoplado a um sistema de energia dispersiva (Modelo XFlash 6/10 – Bruker®)
- Metalizador (Modelo Q150 ES – Quorum Technologies)

- Bomba calorimétrica (Modelo C2000 Basic – IKA®) acoplada à um banho termostático (Modelo KV 600 Digital – IKA®);
- Prensa Hidráulica (Modelo Werke GmbH & Co. KG – IKA®)
- HPLC (Modelo Infinity 1260 - Agilent Technologies®);

4.4 – Preparo de soluções

Solução estoque de EE2 100,00 mg L⁻¹ (10,00 mg/100,00 mL): Para o preparo da solução de EE2 foi medida uma massa igual a 10,00 mg do padrão comercial EE2, que foi dissolvida em metanol e o volume completado em balão volumétrico de 100,00 mL e devidamente homogeneizado.

Solução estoque de EE2 10,00 mg L⁻¹: Para o preparo da solução de EE2 10,00 mg L⁻¹ tomou-se uma alíquota de 10,00 mL da solução padrão previamente preparada anteriormente e transferiu-se para um balão volumétrico de 100,00 mL, completando o volume com metanol e homogeneizou-se. E a partir dessa solução, foram obtidas soluções diluídas nas concentrações 400,00; 350,00; 300,00; 250,00; 200,00; 150,00; 100,00; 75,00; 50,00; 40,00; 30,00; 20,00; 10,00; 8,00; 5,00 µg L⁻¹, respectivamente.

4.5 – Validação de método

O processo de validação do método analítico desenvolvido teve como base à ANVISA (2004), INMETRO (2003), THOMPSON et al. (2002), RIBANI et al. (2004) e HARRIS (2008) para avaliar as características de desempenho analítico, os quais foram: seletividade, linearidade e faixa de trabalho; precisão; exatidão; limite de detecção; limite de quantificação e robustez.

4.5.1 – Seletividade

Para a elucidação da seletividade, foi necessário preparar solução estoque do analito EE2 na concentração de 100 mg L⁻¹ em metanol. A partir dessa solução, foi preparada uma solução diluída na concentração de 100 µg L⁻¹ de EE2 em acetonitrila (ACN) e água na proporção 3:2 (v/v). Alíquotas de 1,00 mL dessa solução foi levada para análise cromatográfica para obtenção do cromatograma. O tempo de retenção (T_R) da substância foi comparado com o cromatograma dos brancos do método, que foram obtidos apenas pela injeção da matriz livre

do analito de interesse (FM – 60%ACN:40%água) e da matriz contendo apenas as cascas de amendoim (solução aquosa – 24h) para verificar se algum interferente presente nas matrizes elue no mesmo T_R do hormônio estudado.

4.5.2 – Linearidade

Para a elucidação da linearidade, utilizou-se o método de padrão externo, onde foi preparado solução diluída a partir da solução estoque do analito. As soluções foram nas concentrações de 5,00; 8,00; 10,00; 20,00; 30,00; 40,00; 50,00; 75,00; 100,00; 150,00; 200,00; 250,00; 300,00; 350,00 e 400,00 $\mu\text{g L}^{-1}$; todas preparadas em ACN e água na proporção 3:2 (v/v). Em seguida, foram levados para análise cromatográfica em triplicatas. Com a utilização do programa Microsoft Excel[®] foi possível obter a equação de regressão linear da substância pelo método dos mínimos quadrados para a avaliação da curva analítica pelos parâmetros R^2 e R.

4.5.3 – Precisão

Para a elucidação da precisão, foram preparadas 10 soluções contendo o analito na concentração de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em ACN e água na proporção 3:2 (v/v). Essas soluções foram preparadas por 2 analistas em dias diferentes e levados a análise cromatográfica. A partir dos dados gerados pelos analistas, foram estimados os desvios padrão (SD) e os coeficientes de variação (CV) para avaliar a precisão em termos estatísticos pelos teste de hipótese F e t-Student para níveis de 95% de confiabilidade.

4.5.4 – Exatidão

A exatidão foi verificada por ensaios de recuperação analítica. Foram preparadas em triplicatas soluções contendo a substância nas concentrações de 120; 100 e 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ em ACN e água na proporção 3:2 (v/v), respectivamente. Em cada nível de concentração a recuperação foi avaliada a através do R_e , o valor estimado pela reta de regressão entre o valor tomado como real ou verdadeiro do analito.

4.5.5 – Limite de detecção

Para a obtenção do limite de detecção do método desenvolvido para o hormônio, foram calculados os parâmetros das curvas analíticas (coeficientes angulares e estimativas dos desvios padrão das respostas) e para fins de comparações, utilizou-se o método da relação sinal/ruído. Entretanto, para a determinação do LD pelo sinal/ruído, foi usada uma régua métrica para aferir a altura do pico do analito e o ruído de maior pico mais próximo do tempo de retenção da substância, obedecendo a razão de 3:1.

4.5.6 – Limite de quantificação

Para a sua determinação, o limite de quantificação foi adquirido da mesma forma do LD, pelos parâmetros da curva analítica e pela relação sinal/ruído, a proporção foi de 10:1.

4.5.7 – Robustez

Para avaliar a robustez, foi preparada uma solução contendo a substância na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ em ACN e água na proporção 3:2 (v/v). Esta solução foi levada para análise cromatográfica e analisada para cada condição cromatográfica (composição da FM, temperatura da coluna cromatográfica, vazão da FM e volume de injeção da amostra) variada em $\pm 5\%$ e comparada em relação as condições estipuladas pelo método desenvolvido.

4.6 – Otimização das condições cromatográficas

A otimização das condições cromatográficas foram baseadas em Andrade e Monteiro (2015). Inicialmente, foram utilizados alíquotas de 1,00 mL de soluções padrão de EE2 armazenadas sob refrigeração em um mesmo vial com concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Essas alíquotas foram injetadas em um sistema HPLC equipado por um detector de fluorescência (FLD), uma bomba quaternária e um injetor automático. O analito foi eluído em uma coluna cromatográfica Eclipse Plus C8 usando uma FM de mistura 40% água e 60% ACN no modo isocrático. A vazão utilizada foi de $0,500 \text{ mL min}^{-1}$ por 10 minutos de corrida e o hormônio EE2 foi detectado pelo FLD, sendo determinado pela área do pico identificado pelo T_R do composto. O T_R do EE2 encontrado foi de 5,20 minutos. Diante disso, na Tabela 2 estão

apresentadas as condições cromatográficas utilizadas na análise do hormônio de interesse desse estudo.

Tabela 2 – Condições cromatográficas de análise

Parâmetros	Condição
FM (Isocrático)	40% Água e 60% ACN
Vazão da FM	0,500 mL min ⁻¹
Volume de Injeção	10,00 µL
Temperatura da Coluna	45,00°C
Tempo de Corrida	10,00 min
Detector FLD	$\lambda_{Ex}= 230 \text{ nm}$ e $\lambda_{Em}= 310 \text{ nm}$

4.7 – Ensaios de adsorção

O processo de adsorção do EE2 em cascas de amendoim foi realizado em ensaios de bancada. Inicialmente, um comprimido do anticoncepcional comercial (Ciclo 21) foi macerado e transferido para um balão volumétrico de 100,00 mL. Completou-se o volume com água deionizada e homogeneizou-se.

Posteriormente, foram pesados 1,00 g de biossorvente (cascas de amendoim inteiras, sem tratamento químico ou físico, na sua forma *in natura*) em um béquer de 150,00 mL. Em seguida, a massa aferida das cascas de amendoim foi adicionada à solução de anticoncepcional preparada, levando-os a agitação constante (390-420 rpm) em um agitador magnético por 6 horas. Para garantir que não ocorresse alguma degradação do analito de interesse, o béquer foi envolvido em papel alumínio com o intuito de proteger da luz e contaminações em geral.

Antes de iniciar a agitação do ensaio de adsorção, foi coletada uma alíquota de 1,00 mL, denominada amostra do tempo zero. Em seguida, iniciou-se a agitação magnética e a cada 1 hora foram coletadas alíquotas de 1,00 mL, totalizando 6 horas de processo. As alíquotas foram filtradas por dois processos de filtração, primeiro por um papel de filtro qualitativo em um funil de vidro para a retirada de partículas e impurezas maiores; e o segundo por uma seringa acoplada por um mini-filtro de porosidade 0,45 µm para a eliminação de particulados menores. Após, as amostras foram conservadas em geladeira para posterior análise no HPLC.

Para a determinação da taxa de remoção do EE2 em solução pelo biossorvente foi calculado aplicando a Equação 53:

$$\%Remoção = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \times 100\% \text{ (Eq.53)}$$

no qual,

C_0 é a concentração inicial do EE2 colocada em contato com o adsorvente ($\mu\text{g L}^{-1}$);

C_f é a concentração remanescente em solução do EE2 após o processo de adsorção ($\mu\text{g L}^{-1}$).

4.8 – Otimização dos ensaios de adsorção

Para a verificação da eficiência de adsorção de cada biossorvente, foi realizado um planejamento de experimento para a otimização do processo de adsorção. O modelo escolhido foi o Box-Behnken, e para a modelagem dos dados experimentais utilizou-se o software Statistica 7[®], variando três fatores (agitação, pH e massa do adsorvente) em três níveis, gerando 15 experimentos aleatórios como mostra as Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 – Fatores e níveis selecionados no modelo Box-Behnken

Fatores	Níveis		
	-1	0	1
Agitação (rpm)	300	400	500
Massa (g)	0,5	1,0	2,0
pH	4,0	6,0	8,0

Tabela 4 – Matriz do modelo Box-Behnken para três fatores codificados

Experimento	Agitação	Massa Adsorvente	pH
6	1	0	-1
2	1	-1	0
3	-1	1	0
1	-1	-1	0
13	0	0	0
4	1	1	0
8	1	0	1
7	-1	0	1
11	0	-1	1
15	0	0	0
10	0	1	-1
14	0	0	0
9	0	-1	-1
5	-1	0	-1
12	0	1	1

O planejamento de experimento foi seguido para cada ensaio independente, seja na massa medida, na agitação da solução e na correção do pH com soluções de HCl e NaOH 1,0 mol L⁻¹ já previamente preparadas conforme **item 4.7**. Todavia, antes do contato da solução do anticoncepcional com o biossorvente, foi realizada a filtração da solução para retirada das partículas insolúveis remanescentes do comprimido e em seguida foi feita a correção do pH da solução aquosa, completando o volume para 100,00 mL. Após esta etapa, as cascas de amendoim foram adicionadas à solução do hormônio por um tempo de contato de 6 horas, porém, nesta etapa as alíquotas foram retiradas apenas no tempo zero e em 6 horas.

4.9 – Estudo cinético de adsorção

A partir da melhor condição de remoção encontrada no **item 4.8**, o estudo cinético foi realizado conforme os **itens 4.7 e 4.8**. Entretanto, o experimento foi realizado em triplicata e o tempo de agitação foi de 24 horas para que o equilíbrio de adsorção fosse alcançado. As alíquotas foram retiradas nos tempos zero, 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 24 horas. Enquanto, para a determinação da energia de ativação do processo de adsorção foram realizados três experimentos, cada um em uma temperatura diferente, dos quais foram 36, 56, 66°C e as alíquotas foram retiradas nos tempos zero; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 24 horas.

4.10 – Estudo isotérmico de adsorção

Os experimentos de isoterma foram realizados variando a concentração inicial do EE2. Primeiramente, uma solução estoque de EE2 foi preparada a partir de 15 pílulas comerciais (Ciclo 21) maceradas e transferidas quantitativamente para um balão volumétrico de 500,00 mL, completando o volume com água deionizada e filtrada para a retirada de particulados insolúveis remanescentes dos comprimidos. Alíquotas de 5,00; 10,00; 20,00; 30,00; 40,00 e 50,00 mL foram coletadas e transferidas para béqueres separadamente, e em seguida, as soluções foram aferidas em pH=6,0 e transferidas para balões de 100,00 mL, completando o volume com água deionizada. A massa de biossorvente utilizada foi de aproximadamente 2,0 gramas para cada experimento e o tempo de contato foi de 24 horas com agitação constante de 500 rpm. Alíquotas de 1,00 mL foram retiradas nos tempos zero e 24 horas; e as concentrações remanescentes de EE2 na solução foram determinadas pela equação 52.

4.11 – Caracterização do biossorvente

4.11.1 – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Para a caracterização do biossorvente foi utilizado um espectrômetro de radiação reflexão total atenuada, do inglês – Attenuated Total Reflectance (ATR) na região do infravermelho com transformada de Fourier, do inglês – Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. As amostras de cascas de amendoim (secas) na forma *in natura* e após o processo de remoção foram maceradas em uma cápsula de porcelana com pistilo até que ficassem na forma de um pó fino e uniforme. Posteriormente, as amostras foram levadas ao FT-IR para obtenção dos espectros de absorção com uma resolução de 4 cm^{-1} e 16 scans em uma região espectral de 650 a 4000 cm^{-1} .

4.11.2 – Microscopia eletrônica de varredura

Para avaliar e caracterizar a estrutura morfológica da superfície do biossorvente foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada a um sistema de energia dispersiva, do inglês – Energy Dispersive System (EDS). As amostras de cascas de amendoim na forma *in natura* e após o processo de remoção previamente secas e maceradas, foram fixadas em suportes metálicos de alumínio com adesivos ou fitas dupla face condutivas e submetidos à metalização por uma película micrométrica de ouro por alguns segundos, utilizando uma corrente na escala de 10^{-12} A e um acelerador de voltagem de 15 kV com uma faixa de amplificação de 500 a 10.000 vezes. Após esse procedimento, as amostras foram levadas ao MEV para obtenção das micrografias eletrônica de varredura e dos espectros de EDS que geram informações sobre a composição química do adsorvente.

4.12 – Capacidade calorífica do biossorvente

Com o intuito de encontrar um destino final e útil para os resíduos, foi realizado a determinação do poder calorífico das cascas de amendoim *in natura* e após o processo de remoção previamente secos. As amostras foram maceradas, pesadas e compactadas em uma prensa hidráulica para obtenção de pastilhas de 0,5 gramas aproximadamente. Após esse procedimento, realizado em triplicata, as amostras foram levadas à câmara de combustão da

bomba calorimétrica acoplada a um banho termostático para a obtenção da entalpia de combustão.

5 – Resultados e discussão

5.1 – Validação de método

A validação do método analítico foi realizada conforme as características de desempenho analítico ou figuras de mérito propostos na metodologia.

5.1.1 – Seletividade

A seletividade do método foi confirmada a partir da comparação dos cromatogramas obtidos do analito na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ detectado por FLD em $\lambda_{\text{Ex}} = 230 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{Em}} = 310 \text{ nm}$ (Figura 14A) e dos brancos do método: a fase móvel (Figura 14B) e as cascas de amendoim em solução aquosa por 24h (Figura 14C), ou seja, matrizes isentas do analito de interesse. Os “brancos” foram realizados nas mesmas condições cromatográficas do EE2.

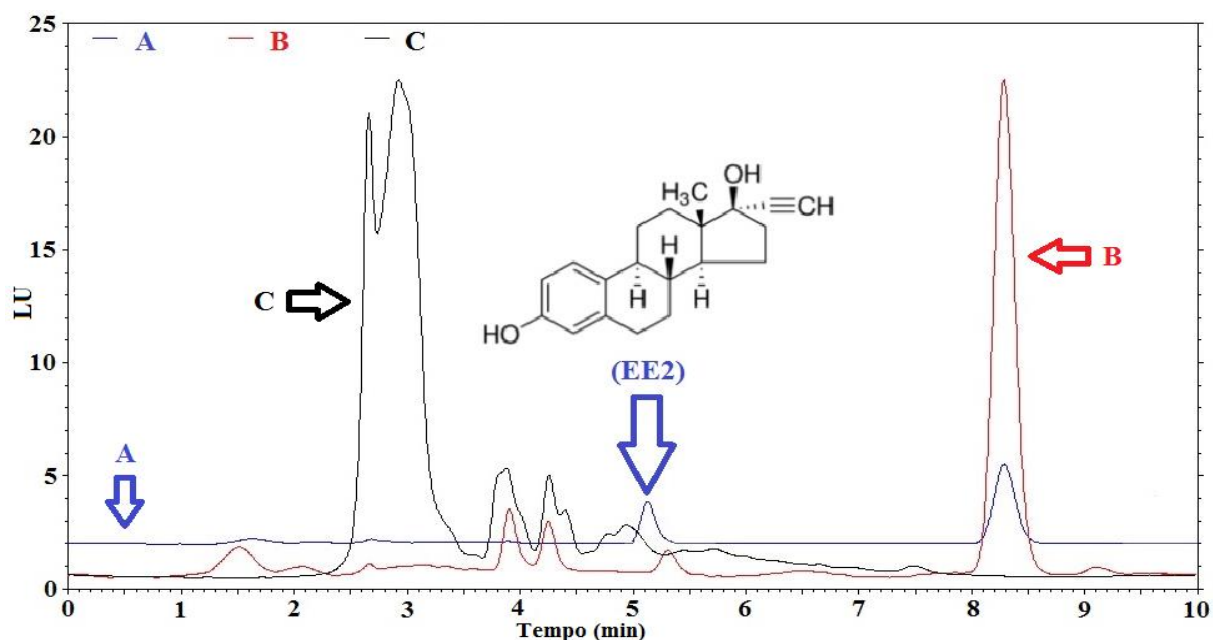


Figura 14 – Cromatograma do EE2 (A), cromatograma relacionado a fase móvel (B) e cromatograma relacionado as cascas de amendoim em solução aquosa por 24h (C)

Apesar os cromatogramas dos “brancos” apresentarem picos próximos à região do T_R do EE2 como pode ser visualizado na Figura 14, porém, nenhum interferente foi eluído no T_R

de 5,20 minutos do composto e os mesmos não interferem na sua determinação. Portanto, o método se mostrou seletivo para o EE2.

5.1.2 – Linearidade

O estudo da linearidade foi realizado a partir da construção da faixa linear de concentração para EE2 (Figura 15).

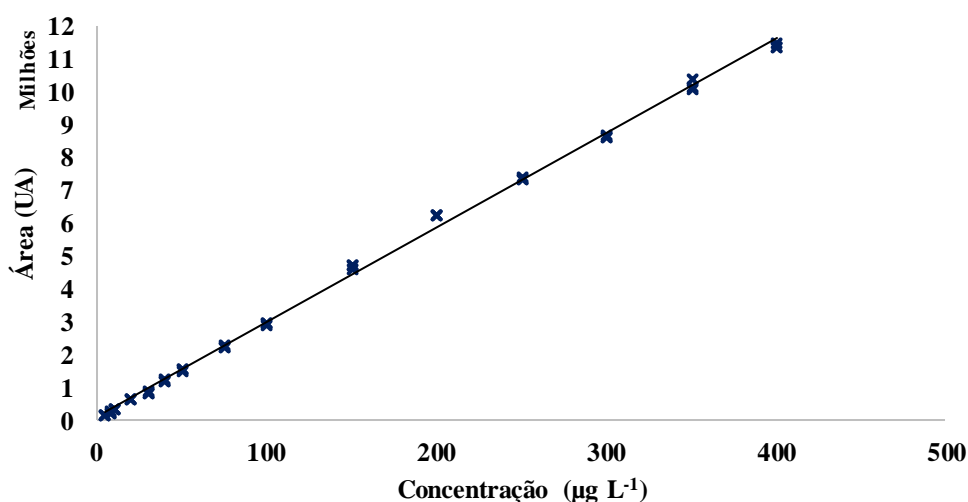


Figura 15 – Curva analítica para a determinação do EE2

A curva analítica apresentou aspecto linear, ou seja, uma ótima linearidade na faixa de trabalho escolhida para o hormônio em estudo. Essa linearidade pode ser analisada pelos R^2 e R da curva analítica. Na Tabela 5 é exibido a equação da reta e seus parâmetros.

Tabela 5 – Equação da reta e seus parâmetros relacionado ao analito

Analito	Equação da reta	R^2	S_y	R
EE2	$(28851,85126 \pm 175,6672) x + (81843,04614 \pm 32666,98975)$	0,99841	153717,6824	0,99920

De acordo com os dados obtidos, a dispersão ou desvio dos dados experimentais foram mínimos, devido a obtenção do valor do R^2 próximo de 1 e obteve-se uma menor incerteza nos coeficientes angular e linear da equação estimada, acompanhada pelos baixos valores dos desvios padrão dos resíduos da resposta. A partir do R , foi possível escolher esta reta estimada como modelo matemático para a determinação do hormônio, pois a correlação entre a área e a

concentração do analito foi muito forte. Sendo assim, com coeficientes de determinação e correlação altos, o modelo consegue explicar mais de 99,8% da variabilidade dos dados.

5.1.3 – Precisão

A precisão foi determinada pela comparação dos valores das concentrações do analito real e estimada pela curva analítica, obtendo-se o SD e o CV do valor real. As análises foram realizadas por dois analistas distintos e em dias diferentes para garantir a repetitividade do método proposto, tendo $n=10$. Os valores de recuperação e os parâmetros analisados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Recuperação e os parâmetros encontrados pelos analistas

Parâmetros	Analista 1	Analista 2
[EE2]_{Média} = 100 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	104,86	106,12
Recuperação_{Média} (%)	104,86	106,12
Erro Relativo_{Média} (%)	4,86	6,12
SD_{Média}	3,05	3,06
Eq. Horwitz (%)	22,47	22,43
C.V_{Média} (%)	2,91	2,88

A metodologia apresentou boa repetitividade, com um CV de 2,90% para o primeiro analista e 2,95% para o segundo analista. Em termos estatísticos, foi utilizado os testes de hipótese F e t-Student. Na Tabela 7 são apresentados os resultados para os testes.

Tabela 7 – Valores tabelados e calculados do teste t-Student e teste F

Analito	Teste t-Student		Teste F	
	t_{tab}	t_{calc}	F_{tab}	F_{calc}
EE2	2,10	0,92	3,18	1,00

O valor determinado para o teste t-Student foi para limite bilateral ou bi-caudal ao nível de 5% de probabilidade ou para um nível de confiança de 95%; o valor para o teste F foi determinado para limite unilateral ou uni-caudal e ao mesmo nível de probabilidade ou nível de confiança do teste t. De acordo com os resultados obtidos, o teste F calculado para o hormônio foi menor que o teste F tabelado, predizendo que, para um nível de confiança de 95%, os desvios padrão estimados pelos analistas são estatisticamente semelhantes, ou seja, não existem

diferenças significativas entre os seus resultados. Para o teste t-Student, o t calculado para o EE2 também foi menor que o t tabelado, o que denota que, para um nível de 95% de confiança, as médias estimadas pelos analistas são estatisticamente semelhantes, não existindo diferença significativa entre os resultados.

5.1.4 – Exatidão

O estudo da exatidão foi realizado a partir do ponto médio aproximado da curva de calibração, variando a concentração da substância em $\pm 20\%$. Os valores de recuperação e os parâmetros analisados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Dados da recuperação para o EE2

$[\text{EE2}]_{\text{Real}} (\mu\text{g L}^{-1})$	$[\text{EE2}]_{\text{Estimada}} (\mu\text{g L}^{-1})$	Recuperação (%)	ER (%)
80	88,19	110,24	10,24
80	87,51	109,39	9,39
80	88,34	110,43	10,43
100	101,79	101,79	1,79
100	102,53	102,53	2,53
100	102,49	102,49	2,49
120	122,66	102,22	2,22
120	120,90	100,75	0,75
120	120,32	100,27	0,27

Com os resultados obtidos, a exatidão do método para a determinação do EE2 encontra-se na faixa de 100,27 – 110,43% com um ER inferior a 11%, entretanto, com um SD na faixa de 0,41 – 1,22 $\mu\text{g L}^{-1}$ e um CV de 0,41 – 1,00% nas concentrações estimadas.

O método apresentou boa exatidão para o hormônio, pois os resultados obtidos estão abaixo dos valores descritos no **item 3.9.4**.

5.1.5 – Limite de detecção

O estudo do limite de detecção foi determinado pelos parâmetros da curva analítica e juntamente comparado pelo método da relação sinal/ruído (3:1). A Tabela 9 relata o valor obtido.

Tabela 9 – Limite de detecção do método para o analito pelos parâmetros da curva analítica

Hormônio	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
EE2	3,40

O cromatograma da Figura 16 indica a relação sinal/ruído (3:1) da solução de padrão para o analito, e o LD encontrado foi de $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Esse limite encontra-se próximo ao valor inferior da curva analítica.

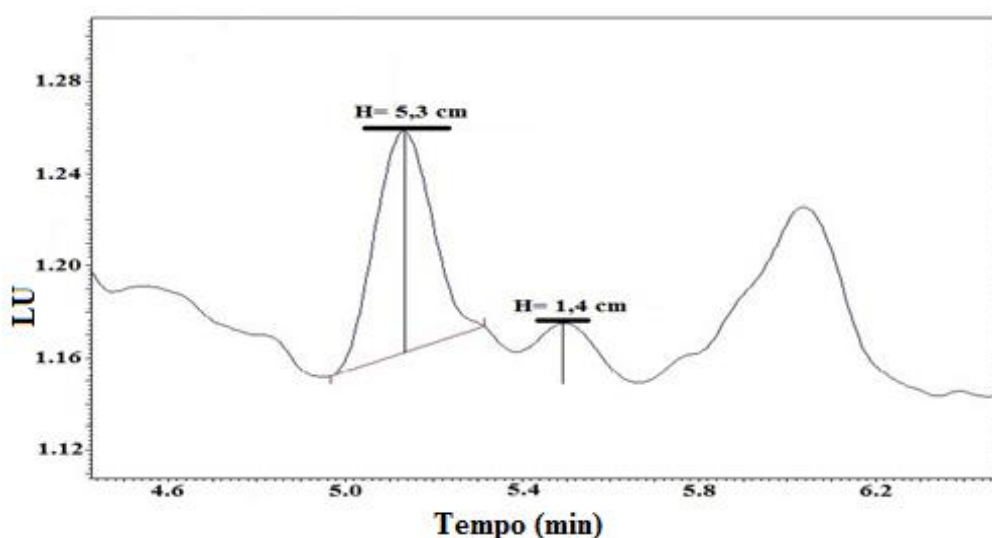


Figura 16 – Limite de detecção pela relação sinal/ruído (3:1)

Todavia, o limite de detecção baseado nos parâmetros da curva analítica é estatisticamente mais confiável para métodos analíticos utilizando técnicas de separação como a cromatográfica, pois a medição do ruído é subjetiva, afetando diretamente na relação sinal/ruído e consequentemente no resultado do LD. Portanto, a escolha ficou definida de acordo com os valores encontrados para o LD, baseados pelos parâmetros da curva de calibração, conforme o **item 3.9.5**. Esse mesmo critério foi escolhido para o LQ.

5.1.6 – Limite de quantificação

O estudo do limite de quantificação também foi determinado pelos parâmetros da curva analítica e comparado pelo método da relação sinal/ruído (10:1). O dado é disposto na Tabela 10.

Tabela 10 – Limite de quantificação do método pelos parâmetros da curva analítica

Hormônio	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
EE2	11,32

Em relação ao sinal/ruído da solução de padrão para o analito, o cromatograma da Figuras 17, indica que o LQ encontrado foi de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ para EE2.

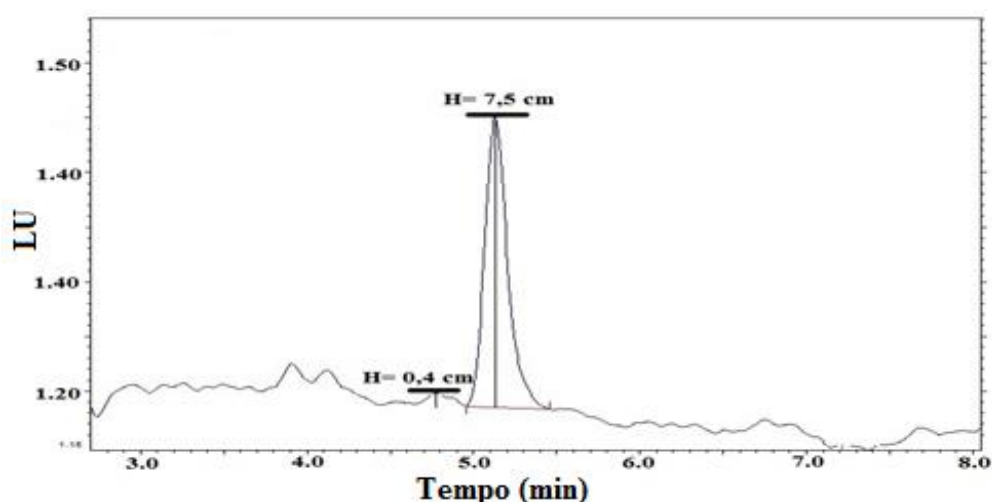


Figura 17 – Limite de quantificação pela relação sinal/ruído (10:1)

Percebe-se que o resultado da relação sinal/ruído para o EE2 ficou um pouco acima de 10:1, aproximadamente 19:1, porém, o ponto abaixo na curva, o $8 \mu\text{g L}^{-1}$ a relação sinal/ruído não era satisfatória.

5.1.7 – Robustez

O estudo da robustez foi estabelecido pela variação de $\pm 5\%$ das seguintes condições cromatográficas: composição da fase móvel, temperatura da coluna cromatográfica, vazão da fase móvel e volume de injeção da amostra. Os resultados obtidos com as condições alteradas foram comparados com os resultados obtidos das condições estipuladas pela metodologia desenvolvida, como apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Dados da robustez do método para a determinação do EE2

Parâmetros	[EE2] _{Estimada} (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)	ER (%)
Vol. de Injeção (10,50 µL)	108,64	108,64	8,64
Vol. de Injeção (9,50 µL)	98,94	98,94	-1,05
Temp. Coluna (47,25°C)	103,65	103,65	3,65
Temp. Coluna (42,75°C)	105,36	105,36	5,36
FM (63%ACN e 37%H ₂ O)	98,69	98,69	-1,30
FM (57%ACN e 43%H ₂ O)	103,63	103,63	3,63
Vazão (0,525 mL min ⁻¹)	101,17	101,17	1,17
Vazão (0,475 mL min ⁻¹)	115,47	115,47	15,47

Verificou-se que a robustez do método para a determinação do EE2, encontra-se na faixa de 98,64 – 115,47% com um ER inferior a 16%, mas com um SD na faixa de 0,13 – 1,08 µg L⁻¹ e um CV de 0,13 – 0,93% também nas concentrações estimadas.

Os resultados das variações das condições cromatográficas não apresentaram alterações significativas quanto aos ER estipulados pela literatura descritos no **item 3.9.4**, portanto, o método apresentou ser robusto mesmo frente à pequenas variações dos parâmetros cromatográficos.

5.2 – Adsorção

5.2.1 – Otimização dos ensaios de adsorção

Conforme descrito no **item 4.8**, foi utilizado o modelo Box-Behnken para otimizar os parâmetros estudados nos experimentos de adsorção. Os três fatores empregados (agitação, pH e massa do adsorvente) foram variados em três níveis, resultando em 15 experimentos aleatórios. O software Statistica 7[®], foi utilizado para tratar os dados experimentais e estimar os coeficientes da equação de regressão polinomial de segunda ordem ou quadrática (Equação 52).

Entretanto, o modelo empírico também pode ser calculado pela Equação 54:

$$B = (X^T X)^{-1} X^T y \text{ (Eq. 54)}$$

$$\hat{y} = XB \text{ (Eq.55)}$$

no qual,

B é um vetor contendo os coeficientes (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j);

X é a matriz de contraste contendo as informações dos experimentos (Figura 18);

X^T é a matriz X transposta (Figura 19);

y é um vetor contendo a resposta experimental (Tabela 13);

\hat{y} é um vetor contendo as respostas previstas.

$$X = \begin{matrix} & \begin{matrix} 1 & 1 & 0 & -1 & 1 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 \end{matrix} \\ \begin{matrix} 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \end{matrix} & \begin{matrix} 1 & 1 & -1 & 0 & 1 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 1 & 1 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & -1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & -1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ -1 & -1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & -1 & 1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & -1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & -1 & -1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & -1 & 0 & -1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 1 \end{matrix} \end{matrix}$$

Figura 18 – Matriz X de contraste com 15 (experimentos) linhas e 10 (coeficientes - a, b, c, d, e, f, g, h, i, j) colunas (15:10)

$$X^T = \begin{matrix} \begin{matrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ -1 \\ 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \\ -1 \\ 0 \\ 0 \end{matrix} & \begin{matrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & -1 & -1 & 0 & 1 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & 1 & -1 & 0 & 1 & 0 & 0 & -1 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 & 1 \\ -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 0 & -1 & 0 & -1 & -1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 & 0 & 1 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 1 & 1 \\ 0 & -1 & -1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & -1 & 0 & 1 & 0 & 1 \end{matrix} \end{matrix}$$

Figura 19 – Matriz X^T com 10 linhas e 15 colunas (10:15)

0,333	0	0	0	-0,167	-0,167	-0,167	0	0	0
0	0,125	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0,125	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0,125	0	0	0	0	0	0
-0,167	0	0	0	0,271	0,021	0,021	0	0	0
-0,167	0	0	0	0,021	0,021	0,021	0	0	0
-0,167	0	0	0	0,021	0,021	0,271	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0,250	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0,250	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,250

Figura 20 – Resultado da multiplicação $(X^T X)^{-1}$ (10:10)

A Tabela 12 expressa as respostas experimentais (taxa de remoção) e previstas pelo modelo Box-Behnken a partir dos 15 ensaios aleatórios.

Tabela 12 – Respostas experimentais e previstas pelo modelo Box-Behnken para 15 experimentos aleatórios

Experimentos	X_1	X_2	X_3	(% Remoção EE2)	
				Experimental	Prevista
6	1	0	-1	55,815	59,111
2	1	-1	0	51,872	47,720
3	-1	1	0	48,256	52,407
1	-1	-1	0	40,520	40,195
13	0	0	0	53,126	53,209
4	1	1	0	64,627	64,952
8	1	0	1	60,195	60,726
7	-1	0	1	56,076	52,780
11	0	-1	1	39,500	43,120
15	0	0	0	52,181	53,209
10	0	1	-1	57,758	54,137
14	0	0	0	54,319	53,209
9	0	-1	-1	43,397	44,252
5	-1	0	-1	47,516	46,986
12	0	1	1	63,535	62,679

Os experimentos 13, 14 e 15 mostram as réplicas no ponto central (variáveis codificadas em 0), enquanto que, os 12 experimentos restantes são os pontos médios das 12 arestas do cubo (variáveis codificadas entre -1 e +1). As respostas experimentais ficaram na faixa de 39 a 64% (taxa de remoção do EE2) e pelo modelo ficaram na faixa de 40 a 65%. Portanto, o modelo gerado por meio da Equação 55 e da Tabela 12 é mostrado na Equação 56.

$$\begin{aligned}
 Y = & 53,208_{\pm 0,619} + 5,017_{\pm 0,379}X_1 + 7,361_{\pm 0,379}X_2 + 1,852_{\pm 0,379}X_3 + 0,982_{\pm 0,558}X_1^2 \\
 & - 2,872_{\pm 0,558}X_2^2 + 0,710_{\pm 0,558}X_3^2 + 1,255_{\pm 0,536}X_1X_2 - 1,045_{\pm 0,536}X_1X_3 \\
 & + 2,418_{\pm 0,536}X_2X_3 \quad (Eq. 56)
 \end{aligned}$$

em que,

Y é a taxa de remoção (%) de EE2 pelo biossorvente, X_1 é a agitação do processo, X_2 é a massa de adsorvente e X_3 é o pH do meio aquoso.

Para o ajuste do modelo de regressão proposto na Equação 56, foi necessário verificar os parâmetros significativos. De forma rápida e clara, o diagrama de Pareto foi utilizado para expressar as variáveis que são estatisticamente importantes ao nível de confiança de 95% (Figura 21). Os parâmetros cujos retângulos ultrapassaram à direita da linha pontilhada ($p=0,05$) foram considerados significativos e incluídos no modelo matemático, enquanto, os retângulos que estão à esquerda da linha pontilhada não foram considerados significativos e excluídos do modelo.

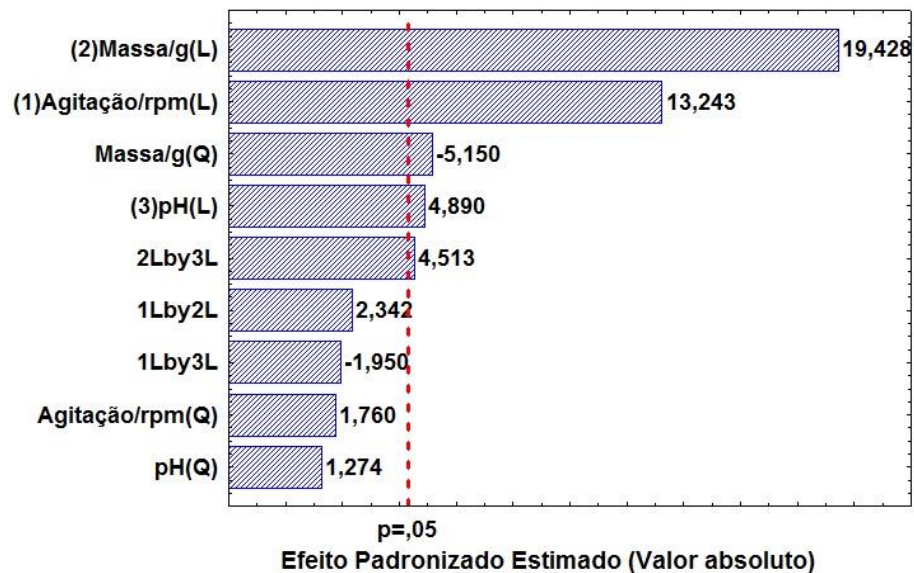


Figura 21 – Diagrama de Pareto em função dos valores da estatística de teste t-Student resultante do modelo Box-Behnken

Pelo diagrama de Pareto, foi verificada a importância da massa do adsorvente e a agitação do meio reacional dentro do domínio experimental. De modo moderado, o pH também influenciou individualmente a resposta, além do sinergismo (efeito de interação de segunda ordem) com a massa do adsorvente. Em contrapartida, o termo quadrático da massa de adsorvente apresentou um efeito negativo na resposta.

Desta forma, os parâmetros: massa do adsorvente, agitação, pH, termo quadrático da massa do adsorvente e a interação de segundo grau pH/massa de adsorvente, foram significativos ($p=0,05$), enquanto, os parâmetros: termos quadráticos da agitação e pH, interações de segundo grau agitação/massa de adsorvente e agitação/pH, não foram significativos. Em termos de percentagem de remoção, foi possível apurar por um outro

diagrama de Pareto (Figura 22) os efeitos estimados pelo modelo proposto de cada parâmetro na resposta.

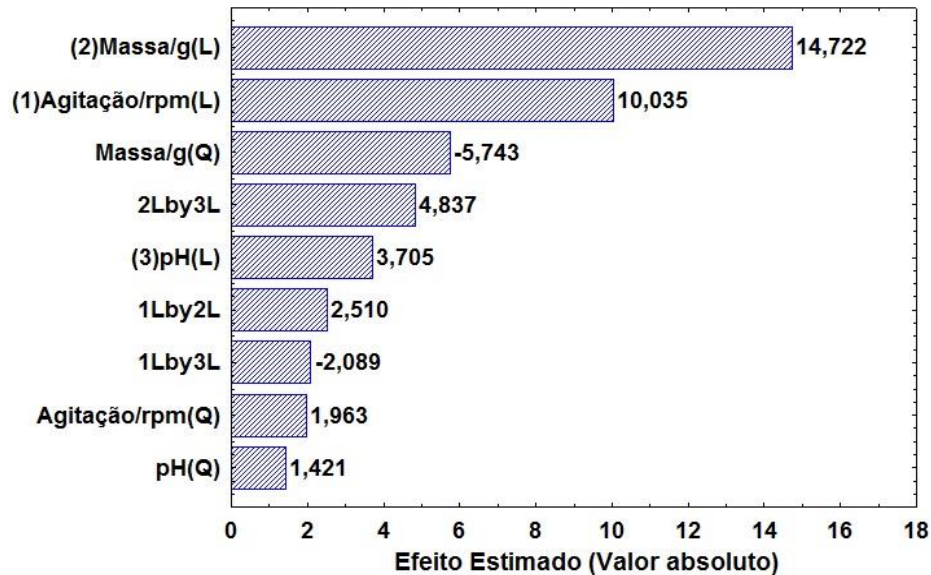


Figura 22 – Diagrama de Pareto em função dos valores dos efeitos estimados pelo modelo proposto

A massa de adsorvente sendo a variável de maior significância, dentre os parâmetros, apresentou um maior efeito previsto na taxa de remoção do EE2 superior a 14%, a agitação retratou um efeito de 10% e o pH apenas um efeito menor de 4%. Contrapondo o resultado da massa de adsorvente, o termo quadrático do mesmo reduz a remoção do EE2 em 6% aproximadamente, todavia, a interação da massa de adsorvente/pH apresentaram um efeito próximo de 5%, enquanto isso, os outros parâmetros apresentaram efeitos abaixo de 2,5% na remoção do hormônio estudado.

Assim sendo, o modelo empírico de regressão proposto para as variáveis estudadas ficou da seguinte forma:

$$Y = 53,208_{\pm 0,619} + 5,017_{\pm 0,379}X_1 + 7,361_{\pm 0,379}X_2 + 1,852_{\pm 0,379}X_3 - 2,872_{\pm 0,558}X_2^2 + 2,418_{\pm 0,536}X_2X_3 \quad (Eq.57)$$

As respostas previstas pelo modelo para os coeficientes significativos ficaram na faixa de 38 a 63% como é mostrado na Tabela 13.

Tabela 13 – Respostas experimentais e previstas pelo modelo Box-Behnken otimizado

Experimentos	(%) Remoção EE2	
	Experimental	Pre vista
6	55,815	56,374
2	51,872	47,994
3	48,256	52,680
1	40,520	37,958
13	53,126	53,209
4	64,627	62,715
8	60,195	60,078
7	56,076	50,043
11	39,500	42,410
15	52,181	53,209
10	57,758	53,427
14	54,319	53,209
9	43,397	43,542
5	47,516	46,339
12	63,535	61,968

Nota-se que os valores previstos calculados a partir do modelo proposto otimizado para as variáveis estudadas apresentaram uma boa concordância com os valores experimentais, como foi mostrado na Tabela 13. Entretanto, para a validação do modelo proposto na otimização das variáveis, foi necessário a aplicação da análise de variância (ANOVA). A partir desta análise de variância foi possível construir uma tabela ANOVA onde relacionam-se diversos parâmetros do modelo proposto. Os parâmetros verificados foram: SQR (Soma Quadrática da Regressão), SQres (Soma Quadrática dos resíduos), SQT (Soma Quadrática Total), SQep (Soma Quadrática do erro puro), SQfaj (Soma Quadrática da falta de ajuste).

A Tabela 14 mostra de forma resumida todas as características das SQ descritas anteriormente (PEREIRA FILHO, 2015).

Tabela 14 – Descrição sucinta das SQ da tabela ANOVA

Parâmetro	Soma Quadrática (SQ)	Graus de Liberdade (GL)
SQR	$\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	p-1
SQres	$\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$	n-p
SQT	$\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$	n-1
SQep	$\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	n-m
SQfaj	$\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	m-p

p = número de coeficientes; n = número de experimentos; m = número de experimentos independentes; \hat{y}_i : resposta prevista; \bar{y} : média das respostas experimentais
 Fonte – Pereira Filho (2015) modificada.

A Tabela 15 ilustra os resultados da ANOVA de forma resumida e sucinta.

Tabela 15 – ANOVA para o ajuste do modelo proposto

Parâmetro	SQ	GL	Média Quadrática (MQ)	Teste F_{calc}	F_{tab} (95%)
Regressão	728,710	5	145,742	11,41	3,48
Resíduo	114,940	9	12,771		
Total	843,650	14			
Erro Puro	2,297	2	1,148		
Falta de Ajuste	112,643	7	16,092	14,01	19,35
Varição explicada (R^2)	0,8638	R	0,9294		
Máxima variação explicável (R^2 máximo)	0,9973	R máximo	0,9986		

A partir dos dados obtidos pela Tabela 15, verificou-se que o valor da SQres (114,940) mostra a quantidade de informação que não está sendo modelada pelo modelo proposto

(coeficientes de regressão), das quais estão relacionadas às SQ_{ep} (2,297) e SQ_{faj} (112,643). A SQ_{ep} é o parâmetro associado às réplicas no ponto central, um valor de grande importância que fornece uma ideia de como é o erro intrínseco das medidas. Ao passo que, a SQ_{faj} está relacionada com a incapacidade do modelo em se ajustar aos valores experimentais obtidos.

Para verificar a qualidade e a confiabilidade do modelo, foi efetuada uma comparação das variâncias calculadas (MQ) por meio do teste F. Com base na razão entre as MQR e MQres, o modelo proposto foi estatisticamente significativo, isto é, foi capaz de prever de forma adequada a resposta, visto que o F calculado da regressão é maior que o F tabelado a um nível de confiança de 95% para 5 e 9 graus de liberdade, ou seja, as duas variâncias (MQR e MQres) são estatisticamente diferentes.

Para aferir o ajuste do modelo, neste caso foi necessário comparar as variâncias MQ_{faj} e MQ_{ep} também pelo teste F. O F calculado é menor que o F tabelado a um nível de confiança de 95% para 7 e 2 graus de liberdade, ou melhor, as duas variâncias são consideradas estatisticamente iguais. Uma condição perfeita para o modelo, visto que a sua incapacidade em se ajustar, confunde-se com o erro intrínseco das réplicas do ponto central, afirmando que o mesmo não apresentou falta de ajuste.

Enfim, ao avaliar a quantidade de informação que a SQR consegue explicar em relação à SQT, constata-se que é bastante satisfatória, já que mais de 86% da SQ de todo o sistema ou das informações são explicadas pela regressão e quase 14% não foram modelados ou explicados pelo modelo. Agora, para uma máxima porcentagem de informação que o modelo conseguiria explicar era necessário uma SQ_{ep} igual a zero, ou seja, um desvio padrão do ponto central nulo; assim o modelo conseguiria explicar mais de 99% da SQ das informações.

Na Figura 23, foi possível perceber uma boa conformidade entre os valores experimentais e aquelas previstas pelo modelo proposto.

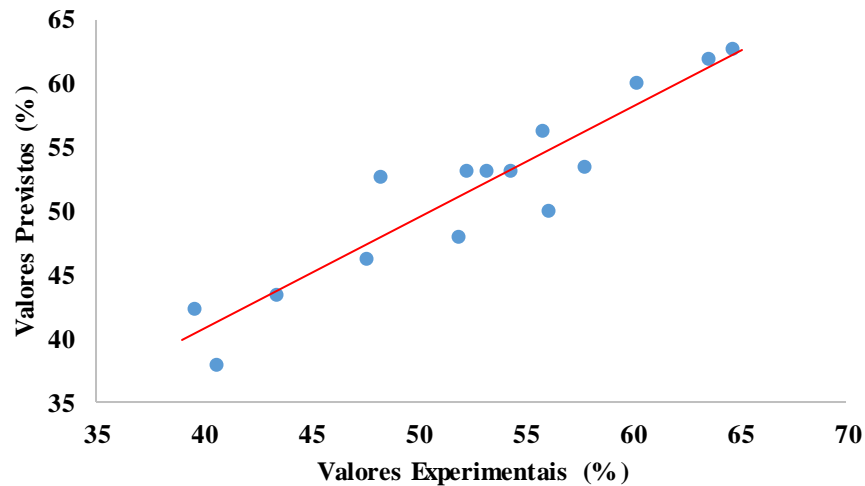


Figura 23 – Valores experimentais em função dos valores previstos pelo modelo proposto

Nessa observação, confirma-se o bom ajuste do modelo que foi apurado na Tabela 16, descrevendo bem os dados experimentais, visto que os pontos estão relativamente próximos à linha reta. A Figura 24 apresenta o comportamento dos resíduos, que são a diferença entre os valores experimentais e os previstos, como função dos valores previstos para os dados da remoção do EE2. Observa-se uma boa concordância entre as respostas experimentais e previstas, sendo assim, o modelo polinomial apropriado para esse domínio experimental.

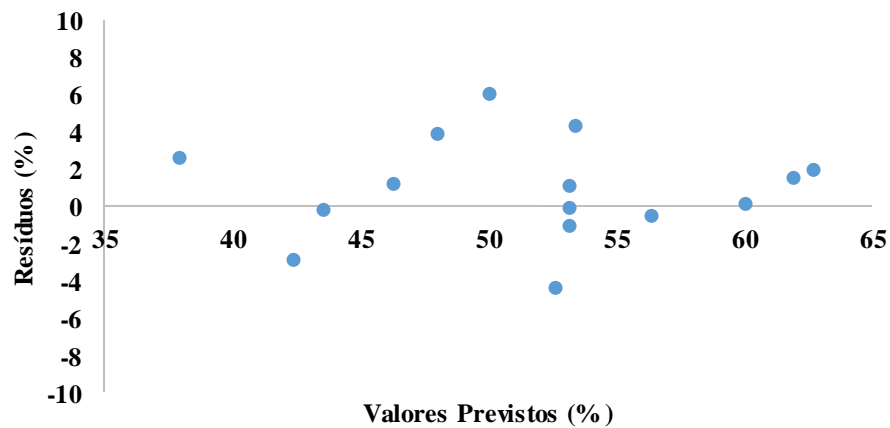


Figura 24 – Valores previstos em função dos resíduos do modelo proposto

Compreende-se que os resíduos se comportam de forma aleatória frente os valores previstos, pois não existe padrão de comportamento. Apesar do fato de que a relação entre valores previstos *versus* os resíduos, apresentaram 9 e 6 resíduos positivos e negativos, respectivamente, e uma extensão inferior a 7% de remoção.

O efeito combinado das três variáveis na resposta foi muito importante, como demonstrado na Figura 25. A partir dele foi possível encontrar o máximo de sinal analítico na região de trabalho estudado.

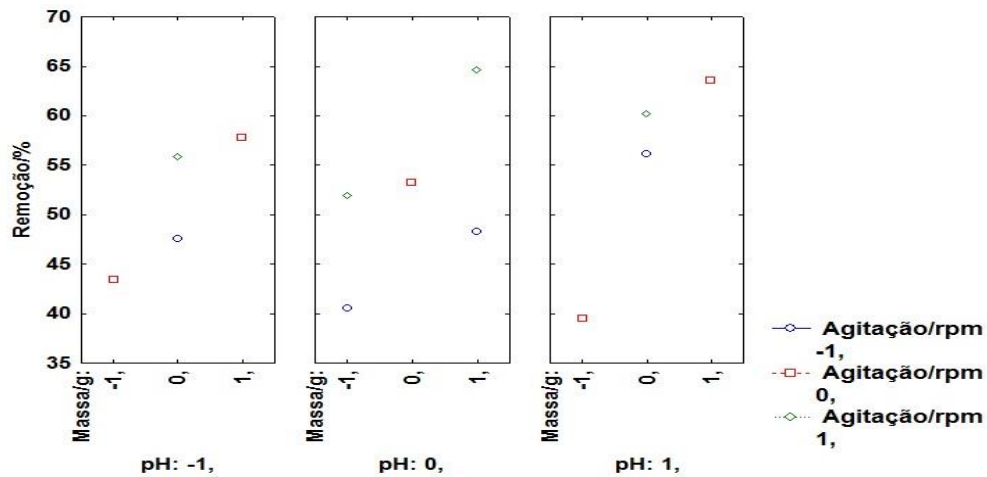


Figura 25 – Gráfico das Médias Marginais dos experimentos

Percebe-se que para agitação (-1) e pH (0), a influência da massa de adsorvente (+1) foi relativamente pequena, abaixo dos 50% de remoção. Para agitação (+1) e pH (0), a influência da massa de adsorvente (+1) foi muito boa, quase 65% de remoção, pois nota-se que a remoção do EE2 é maior para níveis superiores de massa de adsorvente e agitação.

Portanto, a condição ótima escolhida para o processo de remoção do EE2 foi agitação (+1), massa de adsorvente (+1) e pH (0).

Diante dessas observações, foi realizado um experimento em triplicata com as seguintes condições ótimas: agitação em 500 rpm, massa de adsorvente de 2,00 gramas e solução de pH 6. Neste caso, o processo de adsorção foi estendido para 24 horas. Aliquotas foram retiradas nos tempos 0; 1,0; 1,75; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 24 horas. A Tabela 16 apresenta os resultados do processo de adsorção dessa condição ótima.

Tabela 16 – Taxa de remoção do EE2 em 24 horas e seus parâmetros

Tempo (h)	[EE2]_{Média} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	(%) Remoção Média	SD	CV (%)
0	263,24	0	0	0
1	144,56	45,08	12,57	27,88
1,75	144,49	45,11	9,37	20,76
2	146,09	44,50	9,01	20,25
3	143,28	45,57	8,30	18,21
4	74,42	71,73	9,88	13,78
5	116,38	55,79	9,46	16,95
6	112,87	57,12	5,63	9,86
24	26,95	89,76	3,08	3,43

No tempo zero, tem-se a concentração inicial da substância, e acompanhando a remoção ao decorrer de 24 horas, verificou-se que após 6 horas de adsorção, obteve-se mais de 57% de remoção do hormônio EE2. Contudo, ao término das 24 horas, a remoção total do EE2 foi bastante satisfatória, aproximadamente de 90%. Todavia, o processo de remoção do hormônio obteve valores de SD, na faixa de 3,08 – 12,57 e valores de CV entre 3,43 – 27,88%, considerados aceitáveis. A partir disso, conclui-se que os experimentos tiveram uma boa precisão e que os dados não apresentaram variações significativas.

A taxa de remoção do EE2 encontrada neste estudo foi considerada significativa, quando comparada a outros trabalhos envolvendo adsorção de EE2 aplicando diferentes materiais adsorventes. Fernandes e colaboradores (2011), por exemplo, avaliaram a taxa de remoção do EE2 em soluções aquosas empregando turfa decomposta como material adsorvente e obtiveram uma remoção máxima de 55% aproximadamente, utilizando uma concentração inicial de EE2 de 0,10 mg L⁻¹ e variando a massa do adsorvente em 50 a 200 mg, além do processo de adsorção operar sob agitação magnética por 36 horas. Em contrapartida, Clara e colaboradores (2004), avaliaram a adsorção do EE2 em lamas ativadas e inativadas, EE2 na concentração de 1,0 mg L⁻¹ e os adsorventes nas concentrações de 1 a 7,0 g L⁻¹, sob agitação magnética por 24 horas; na qual apresentou-se alta afinidade de adsorção ao adsorvente, mesmo em concentrações iniciais muito elevadas, a partir dos resultados obtidos dos parâmetros de coeficiente de partição ou distribuição, matéria orgânica e do teor de carbono orgânico do sorvente. Enquanto, Rudder e colaboradores (2004), estudaram a remoção do EE2 em água por um tratamento avançado; utilizaram três biorreatores a montante de 2 litros de capacidade com areia, carvão ativado granulado e grânulos de MnO₂, obtendo 17,3%, 99,8% e 81,7% de remoção do EE2, respectivamente, variando a concentração inicial do EE2 em 5.000 a 20.000 ng L⁻¹. Desta maneira, nota-se a boa capacidade de bioadsorção das cascas de amendoim aqui estudadas.

A Figura 26 retrata o comportamento da remoção máxima do hormônio após o tempo de contato e seus resíduos. Observa-se que a taxa de remoção do hormônio EE2 apresentou um bom comportamento durante as 24 horas de experimento, todavia, no tempo de 4 horas percebe-se um erro experimental onde a concentração residual do EE2 em solução diminuiu-se abruptamente e nas 2 horas subsequentes aumenta-se, fazendo com que a remoção do poluente diminuísse consideravelmente.

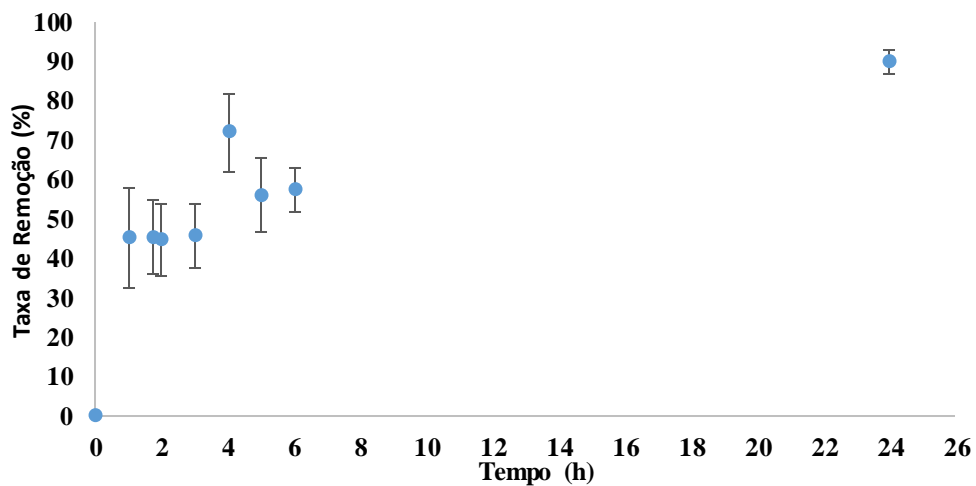


Figura 26 – Taxa de remoção do EE2

Com o modelo empírico proposto adequado e validado, foram realizadas superfícies de resposta e gráficos de contorno (visão superior da superfície de resposta), que relaciona a influência de cada variável e a taxa de remoção do hormônio EE2.

A Figura 27 exibe o comportamento dessas variáveis que estão codificadas de acordo com os níveis (-1, 0, +1), proposto pelo planejamento de experimentos e a remoção descrita em percentagem de remoção.

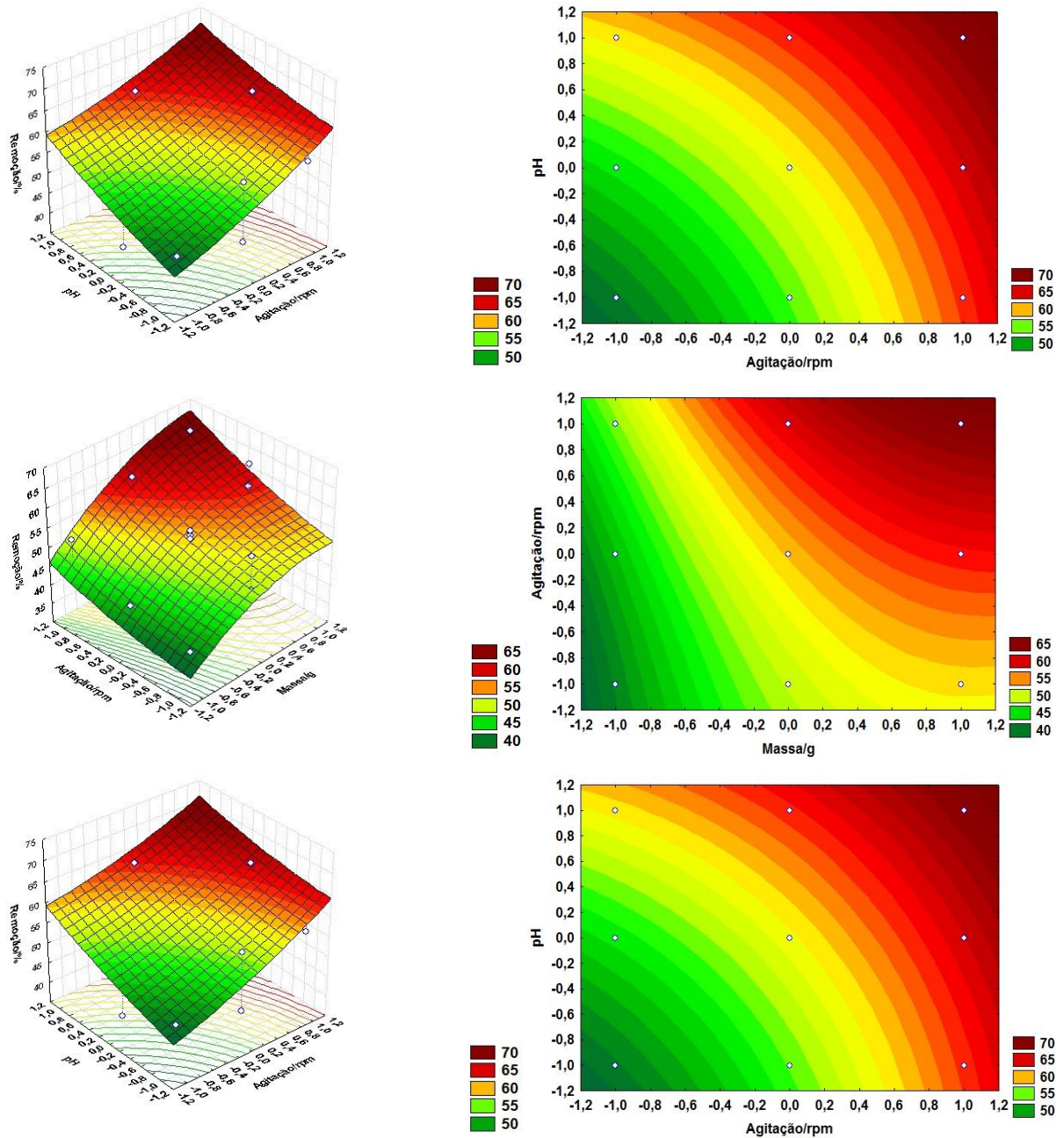


Figura 27 – Superfícies de resposta e curvas de nível da taxa de remoção do hormônio EE2 em função das variáveis (massa, pH, agitação) utilizadas no planejamento de experimento

A partir das superfícies de resposta e das curvas de nível obtidas na Figura 27, ficou claro a importância do parâmetro massa de adsorvente no aumento da taxa de remoção do hormônio EE2. A remoção em função das relações agitação *versus* massa e pH *versus* massa, figura nitidamente a significância do parâmetro massa, ao passo que, para o parâmetro agitação, a taxa de remoção apresentou um acréscimo na remoção para valores codificados em +1, também significativos. Para o parâmetro pH, a taxa de remoção manteve-se praticamente constante em toda faixa, contudo, para ambas variáveis (agitação e pH), quando relacionadas com o aumento da massa de adsorvente, afetaram positivamente na taxa de remoção para

valores codificados em +1. Agora, para a relação agitação *versus* pH, a agitação influenciou de forma positiva na taxa de remoção do hormônio EE2 para valores codificados em +1, enquanto, o parâmetro pH afetou levemente a taxa de remoção para os mesmos valores codificados. Contudo, quando os parâmetros são associados, a taxa de remoção praticamente manteve-se constante para valores codificados em +1, prevalecendo o parâmetro agitação.

5.2.2 – Cinéticas de adsorção

A cinética de adsorção foi avaliada para verificar o comportamento do fenômeno de transferência de massa e o tempo de equilíbrio onde ocorre a adsorção máxima do hormônio pelas cascas de amendoim, além de descrever a velocidade de remoção da substância em estudo.

Para evidenciar a transferência de massa em função do tempo de equilíbrio, foi preciso aplicar o modelo cinético de Lagergren, que mostra a relação da adsorção máxima do adsorvato pelo adsorvente.

A Figura 28 expõe os resultados obtidos para descrever o comportamento cinético de adsorção do EE2 e suas modelagens (pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem). Experimento realizado em triplicatas com as seguintes condições: agitação em 500 rpm, massa de adsorvente de 2,00 gramas, solução em pH=6 e temperatura ambiente (20°C aproximadamente).

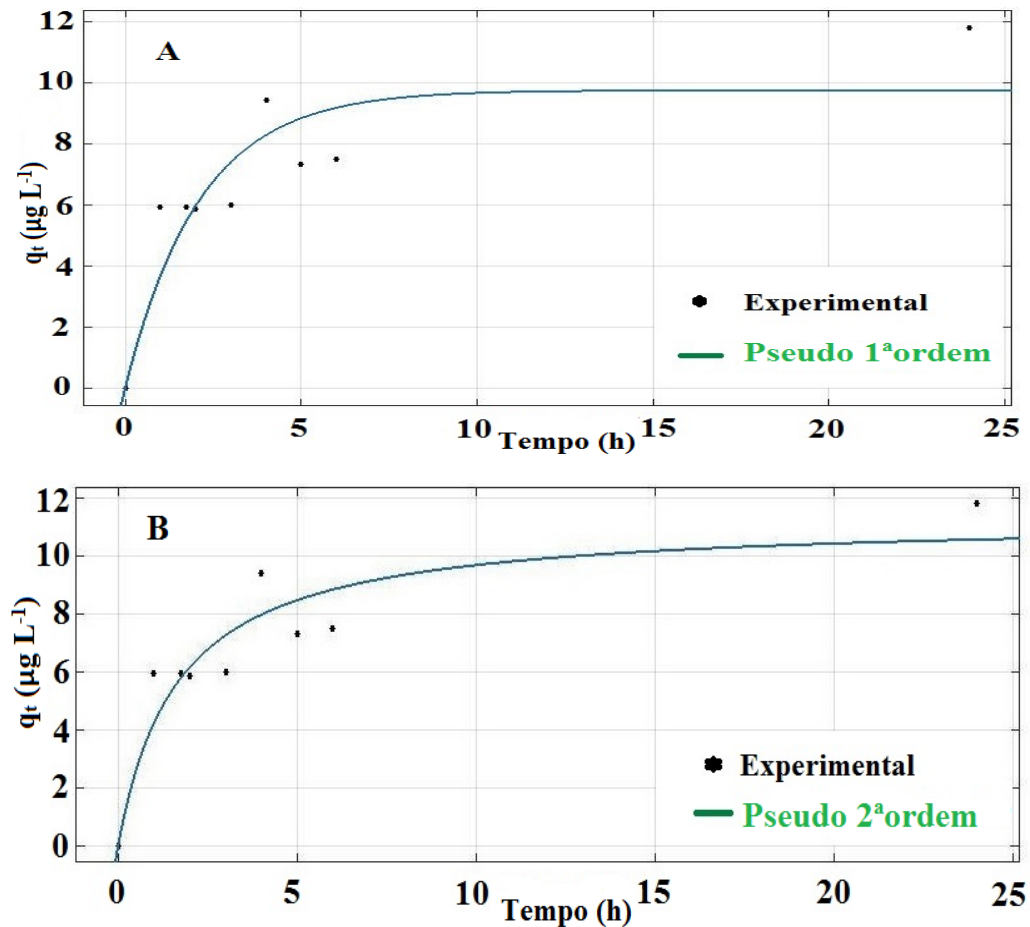


Figura 28 – Modelos cinéticos: pseudo-primeira ordem (A) e pseudo-segunda ordem (B) para adsorção do EE2 pela casca de amendoim

Nota-se que o tempo de equilíbrio de adsorção do adsorvato foi de 24 horas aproximadamente e que a velocidade de adsorção foi mais rápida no início do processo experimental, onde os fenômenos de difusão e convecção das moléculas de EE2 prevalecem, além dos sítios do adsorvente estarem desocupados, facilitando a transferência de massa externa na superfície das cascas de amendoim. Entretanto, após 6 horas de processo, a cinética torna-se lenta gradativamente, neste caso, a difusão interna das moléculas de EE2 prevalecem, pois o processo de adsorção ocorre na superfície e poros internos do adsorvente.

A Tabela 17 relaciona os parâmetros das modelagens e o valor experimental no tempo de equilíbrio do analito.

Tabela 17 – Parâmetros dos modelos cinéticos para adsorção do EE2 pela casca de amendoim

EE2	Pseudo-1ª ordem	Pseudo-2ª ordem	Experimental
q_e ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$9,759 \pm 2.871$	$11,310 \pm 3,200$	$11,800 \pm 0,376$
k_1 (h^{-1})	$0,474 \pm 0.387$	-	-
k_2 ($\text{g } \mu\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	-	$0,053 \pm 0,062$	-
R^2	0,7512	0,8420	-

Os resultados teóricos estimados pelos modelos, apresentaram valores próximos aos valores experimentais, todavia, percebe-se que o modelo de pseudo-segunda ordem obteve uma melhor concordância com os dados experimentais. O R^2 ajustado do modelo de pseudo-segunda ordem obteve uma maior correlação entre as variáveis independente e dependente (t e q_t) em relação ao modelo de pseudo-primeira ordem e o valor de q_e estimado é mais coerente com o valor experimental obtido.

Como o modelo de pseudo-segunda ordem melhor descreveu os dados experimentais (Figura 28.B), o modelo de pseudo-primeira ordem foi descartado e um novo estudo de cinética foi realizado variando a temperatura em 36, 56 e 66°C, essas temperaturas foram escolhidas a partir da estabilização da temperatura do meio reacional, pois o processo de adsorção foi desenvolvido em uma chapa aquecedora sob agitação magnética. Entretanto, esse estudo foi realizado para a determinação da energia de ativação do processo de adsorção. As condições experimentais foram mantidas (agitação, 500 rpm; massa de adsorvente, 2 g e pH, 6).

A Figura 29 relata o comportamento cinético dos processos nas temperaturas estudadas.

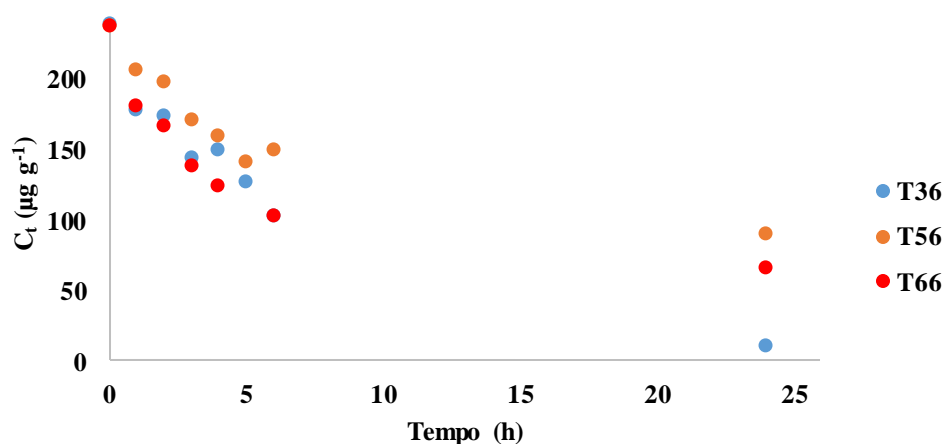
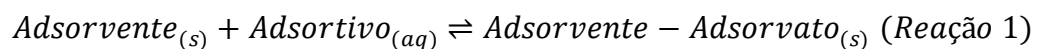


Figura 29 – Estudo cinético de adsorção à temperaturas de 36, 56 e 66°C

Observa-se que a temperatura foi um fator importante no estudo cinético de adsorção do processo experimental. O aumento da temperatura favoreceu o processo de dessorção, ou seja, a quantidade adsortiva de EE2 pela casca de amendoim diminuiu com o aumento da temperatura, pois as moléculas de EE2 adquirem energias cinéticas ou térmicas e conseqüentemente ganham maior mobilidade molecular nos poros internos e externos das cascas de amendoim, devido aos movimentos translacionais, rotacionais e vibracionais adquiridos, desprendendo dos mesmo, e deste modo aumentam a concentração residual em solução como pode ser visto na Reação 1 (RUTHVEN, 1984):



Como a massa de adsorvente é constante, pela reação 1 é possível verificar com o aumento da temperatura à reação inversa é favorecida, ou seja, ocorre a formação dos reagentes e aumento da concentração de adsorvitos em solução.

Na temperatura de 36°C, a concentração de EE2 em solução no tempo de equilíbrio (24 horas) foi inferior em relação as outras temperaturas, predizendo que a quantidade de EE2 retida na superfície do adsorvente no equilíbrio foi alta, enquanto, nas outras temperaturas subsequentes foram relativamente baixas.

A Figura 30 mostra o comportamento dos dados experimentais das cinéticas de adsorção nas temperaturas de 36, 56 e 66°C e a utilização da modelagem de pseudo-segunda ordem linearizada (Equação 14).

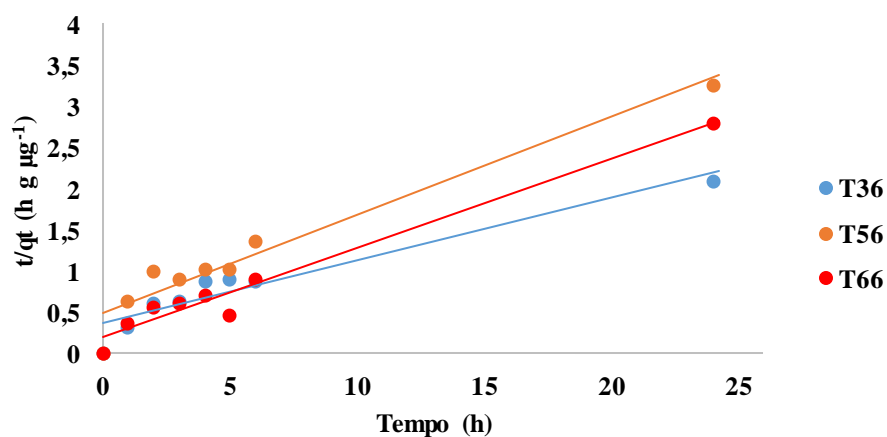


Figura 30 – Modelo cinético pseudo-segunda ordem linearizada para adsorção do EE2 pela casca de amendoim nas temperaturas 36, 56 e 66°C

A Tabela 18 demonstra os parâmetros da modelagem de pseudo-segunda ordem e experimentais no tempo de equilíbrio do analito nas temperaturas estudadas.

Tabela 18 – Parâmetros da modelagem de pseudo-segunda ordem e experimentais da cinética de adsorção do EE2 pela casca de amendoim à temperaturas de 36, 56 e 66°C

EE2	T(36°C)	T(56°C)	T(66°C)
$q_e(\text{exp}) (\mu\text{g g}^{-1})$	11,413	7,359	8,575
$q_e (\mu\text{g g}^{-1})$	13,098	8,411	9,194
$k_2 (\text{g } \mu\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1})$	0,016	0,029	0,063
R^2	0,9094	0,9437	0,9705

A partir dos comportamentos cinéticos de adsorção apresentados na Figura 30 e dos parâmetros determinados pelo modelo de pseudo-segunda ordem demonstrados na Tabela 19, nota-se que o aumento da temperatura favoreceu o aumento de k_2 , que praticamente quadruplicou da temperatura de 36°C para 66°C, e q_e teve comportamento inverso, pois o aumento da temperatura não favoreceu o aumento da adsorção de EE2 pelo adsorvente, e sim sendo favorecida pela diminuição da temperatura.

Com os ajustes dos dados experimentais ao modelo de pseudo-segunda ordem e com a determinação das constantes de velocidade cinética de adsorção em três temperaturas diferentes, foi possível calcular a energia de ativação do processo de adsorção do EE2 pelas cascas de amendoim.

A Figura 31 e Tabela 19, mostram a aplicação da equação de Arrhenius linearizada e os parâmetros estimados, respectivamente.

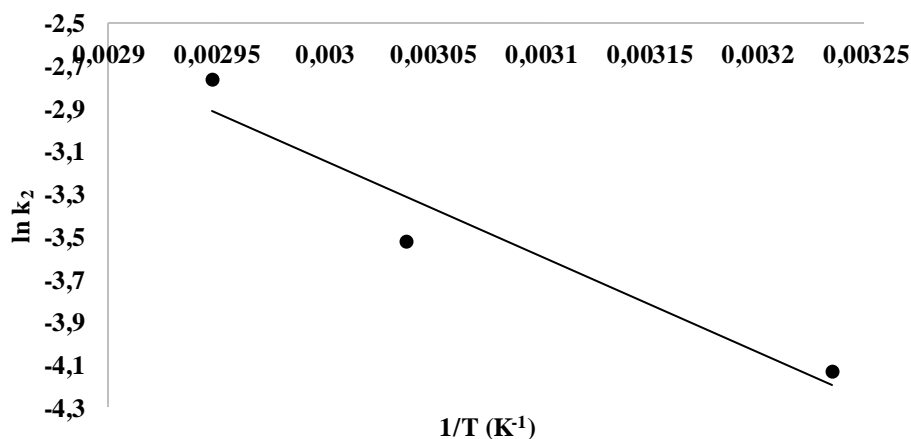


Figura 31 – Energia de ativação do processo de adsorção nas temperaturas 36, 56 e 66°C

Tabela 19 – Parâmetros da equação de Arrhenius

R^2	$\ln A$	A ($\text{g } \mu\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	E_a (kJ mol^{-1})
0,9244	10,277	29.061,8	37,202

De acordo com Nollet e colaboradores (2003), um processo com características de adsorção física é denotado por valores de E_a na faixa de 5,0 a 40 kJ mol^{-1} e os que possuem características de adsorção química, E_a encontra-se entre 40 a 800 kJ mol^{-1} .

A energia de ativação encontrada para o processo de adsorção do EE2 em cascas de amendoim foi de 37,2 kJ mol^{-1} , e deste modo, o processo pode ser considerado como uma fisiossorção, na qual, as interações intermoleculares são predominantes, principalmente as forças de Van der Waals e forças eletrostáticas.

Esse valor de E_a determinado a partir da equação de Arrhenius, é a menor energia necessária fornecida ao processo de adsorção para a formação do complexo ativado, que é proveniente das interações intermoleculares entre as moléculas de EE2 e dos sítios ativos da superfície das cascas de amendoim, além de favorecer a velocidade cinética de adsorção pois quanto menor a barreira energética para que o processo ocorra, mais rápido será a Reação 1.

5.2.3 – Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção foram avaliadas para expressarem a distribuição ou a relação de equilíbrio das moléculas ou concentração remanescente de EE2 (adsorvato) na solução e a quantidade de adsorvato adsorvida pelas cascas de amendoim (adsorvente), além de revelarem informações sobre a capacidade máxima de adsorção do biossorvente.

Foram realizados os ensaios de equilíbrio de adsorção à temperaturas de 33, 53 e 60°C, e os resultados em termos da quantidade adsorvida de EE2 no equilíbrio por unidade de massa das cascas de amendoim em função da concentração de equilíbrio de EE2 na fase líquida, é demonstrado na Figura 32. Neste caso, as temperaturas foram escolhidas do mesmo modo do estudo cinético de adsorção para o cálculo da energia de ativação, que foi partir da estabilização da temperatura do meio aquoso devido o mesmo ocorrer em uma chapa aquecedora sob agitação magnética.

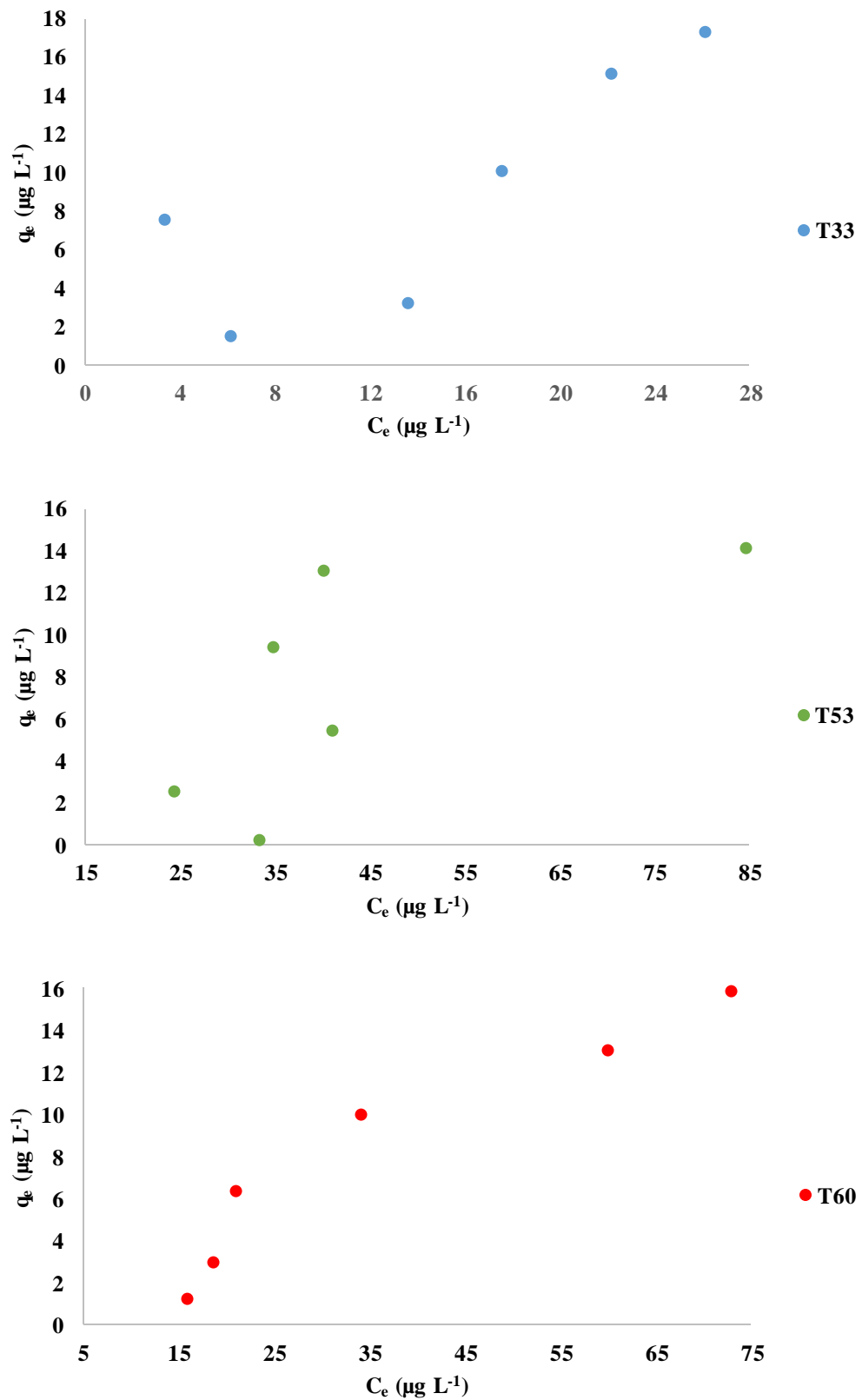


Figura 32 – Quantidade de adsorvato retido no adsorvente no equilíbrio (q_e) em função da concentração de equilíbrio do soluto em solução nas temperaturas de 33, 53 e 60°C

As isotermas utilizadas para a modelagem dos dados experimentais foram os modelos isotérmicos de Langmuir e Freundlich. As curvas de ajuste dos modelos nas formas linearizadas são apresentadas na Figura 33, e os parâmetros estimados na Tabela 20.

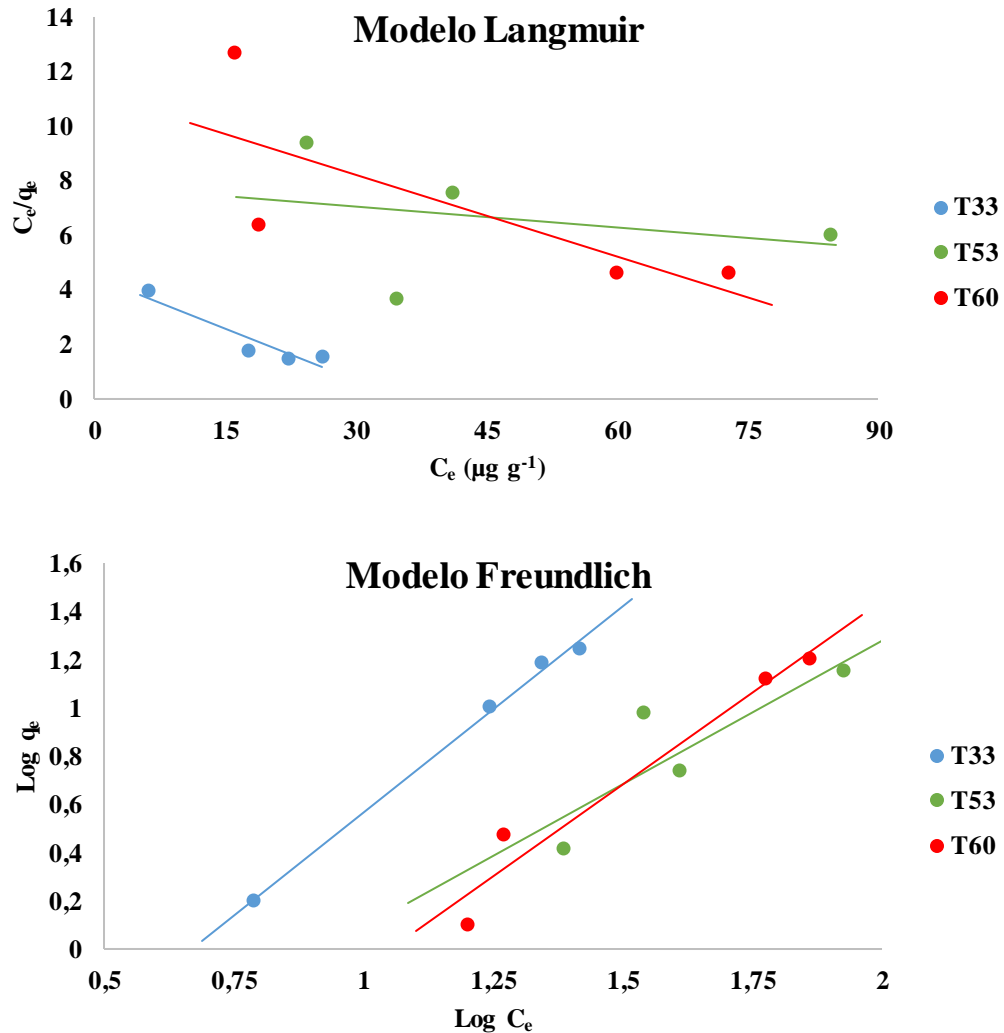


Figura 33 – Linearização das isotermas estudadas à temperaturas de 33, 53 e 60°C

Tabela 20 – Parâmetros das isotermas de Langmuir e Freundlich

Parâmetros						
Temperatura	Langmuir			Freundlich		
	$q_{máx}$	K_L	R^2	n	K_F	R^2
33°C	-7,770	-0,0287	0,8879	0,5862	0,0723	0,9961
53°C	-38,461	-0,0032	0,0818	0,8436	0,0800	0,7174
60°C	-9,990	-0,0089	0,5646	0,6579	0,0250	0,9562

A escolha do modelo de isoterma para esse estudo, foi analisado a partir do ajuste obtido para as diferentes temperaturas. A partir disso, os resultados experimentais de adsorção no equilíbrio não se ajustaram ao modelo de Langmuir, ou seja, o modelo não é capaz de descrever o comportamento de sorção para o biossorvente e a substância estudada. Enquanto, o modelo de Freundlich demonstrou melhor ajuste para os dados experimentais, portanto, foi escolhido para as análises e discussões dos resultados posteriores.

Como o ajuste dos resultados experimentais pelo modelo de Langmuir não ficaram bem definidos, como pode ser visto pela Tabela 20, a correlação entre as C_e/q_e e C_e não foram satisfatórias, pois os R^2 foram baixos; $q_{máx}$ e K_L obtidos negativamente, inviabilizando qualquer análise qualitativa do processo de adsorção, razão pela qual não serão discutidos e apresentados a partir deste ponto.

Ao avaliar os parâmetros do modelo de Freundlich obtidos a partir da linearização da Equação 22, verificou-se que o parâmetro n , uma constante adimensional que indica se a intensidade de adsorção é favorável ou não, além de inferir o grau de reversibilidade do sistema, apresentou valores entre 0 a 1, o que implica em uma adsorção desfavorável para todos os ensaios adsorptivos e o processo de dessorção é favorável; enquanto o parâmetro K_F , uma constante de equilíbrio característica do sistema que indica a capacidade de adsorção, apresentou valores abaixo de 1, o que explica a baixa capacidade de remoção do biossorvente em baixas concentrações de EE2 em solução.

5.2.4 – Termodinâmica de adsorção

A termodinâmica de adsorção foi estudada para demonstrar se o processo experimental é espontâneo ou não-espontâneo, exotérmico ou endotérmico e confirmar se ele ocorre por interações intermoleculares ou por ligações químicas.

A determinação dos parâmetros termodinâmicos de adsorção (ΔG° , ΔH° e ΔS°), foi realizada a partir dos resultados obtidos de C_e e q_e das isotermas de Freundlich à temperaturas de 33, 53 e 60°C, e com a utilização das Equações 25, 27 e 28. Os parâmetros de K_d foram determinados a partir dos coeficientes lineares obtidas das regressões lineares de $\ln q_e$ versus $\ln C_e$ (Equação 27) conforme a Figura 34; e os valores são apresentados na Tabela 21.

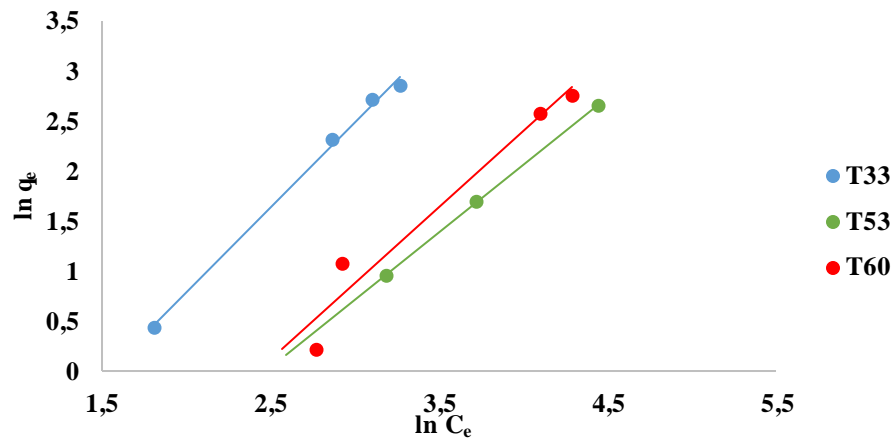


Figura 34 – Regressão linear de $\ln q_e$ versus $\ln C_e$ à temperaturas de 33, 53 e 60°C para a determinação dos K_d

Tabela 21 – Parâmetros das Regressões lineares de $\ln q_e$ versus $\ln C_e$

T (°C)	R ²	ln K _d
33,0	0,9961	-2,6268
53,0	0,9994	-3,3628
60,0	0,9562	-3,6870

Com a determinação das constantes de equilíbrio termodinâmico aparente (K_d), é possível estimar os valores dos parâmetros ΔH° e ΔS° de adsorção. Foram determinados através dos coeficientes angular e linear da reta, respectivamente, obtidos a partir da regressão linear de $\ln K_d$ versus T^{-1} (Equação de Van't Hoff) conforme Figura 35, e os valores encontrados descritos na Tabelas 22. Após a determinação dos parâmetros ΔH° e ΔS° de adsorção, foi possível determinar ΔG° de adsorção nas temperaturas estudadas a partir da Equação 25 (Equação Fundamental da Termodinâmica) e os dados estimados são apresentados também na Tabela 22.

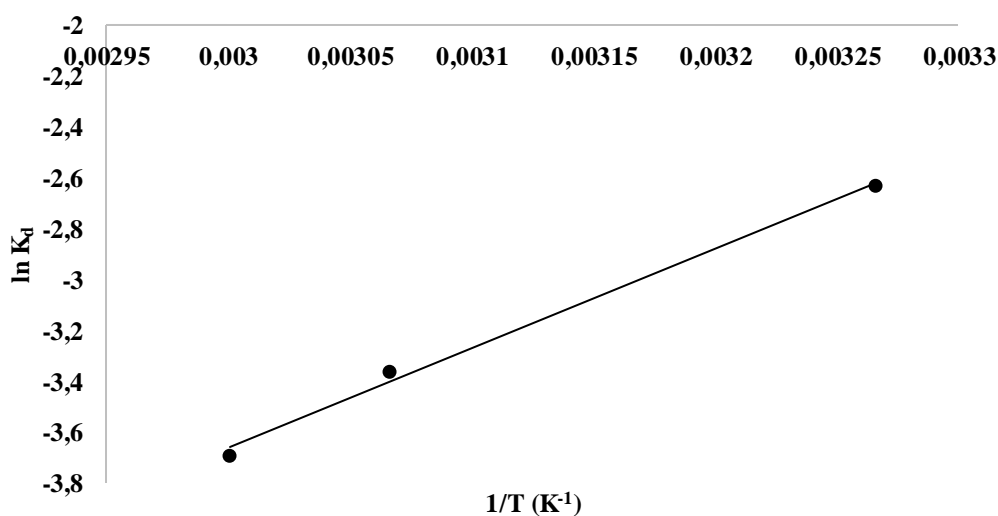


Figura 35 – Regressão linear de $\ln K_d$ versus T^{-1} à temperaturas de 33, 53 e 60°C para a determinação dos parâmetros ΔH° e ΔS° de adsorção

Tabela 22 – Parâmetros termodinâmicos de adsorção

T (K)	1/T	ln K _d	R ²	$\Delta G^\circ_{\text{ads}}$ (kJ mol ⁻¹)	$\Delta H^\circ_{\text{ads}}$ (kJ mol ⁻¹)	$\Delta S^\circ_{\text{ads}}$ (kJ K ⁻¹ mol ⁻¹)
306,15	0,00326	-2,6268		6,656		
326,15	0,00306	-3,3628	0,9957	9,223	-32,633	-0,128
333,15	0,00300	-3,6870		10,121		

A partir dos resultados obtidos, o estudo termodinâmico do processo de adsorção de EE2 em cascas de amendoim pode inferir que o processo não é espontâneo e termodinamicamente desfavorável para todas temperaturas estudadas, pois $\Delta G^\circ_{\text{ads}}$ apresentou valores positivos como pode ser visto na Tabela 22. Com o aumento da temperatura, o processo de adsorção torna-se mais desfavorável; em contra partida, o valor negativo de $\Delta H^\circ_{\text{ads}}$ relata a natureza exotérmica da adsorção, ou seja, o processo libera energia na forma de calor para vizinhança. Esse valor de $-32,633 \text{ kJ mol}^{-1}$ encontrado para $\Delta H^\circ_{\text{ads}}$, é característica de ocorrência das interações intermoleculares entre EE2 e o bioissorvente, pois a adsorção física prevalece para o processo. E por fim, o valor de $\Delta S^\circ_{\text{ads}}$ é negativo, predizendo que antes do processo de adsorção existia uma certa desordem no sistema e quando as moléculas de EE2 foram adsorvidas aos sítios ativos da superfície do bioissorvente, a desordem do processo diminuiu e conseqüentemente $\Delta S^\circ_{\text{ads}}$ diminuiu.

5.3 – Caracterização do bioissorvente

A caracterização da casca de amendoim pelas técnicas FTIR e MEV-EDS teve como objetivo, a verificação de grupos funcionais na estrutura do adsorvente *in natura* e após o processo de adsorção; o mesmo em relação à estrutura do EE2, e por fim, à estrutura morfológica da superfície e da composição química do bioissorvente.

5.3.1 – Análise por FTIR

Os espectros de absorção no FTIR para o EE2 e para o adsorvente *in natura* e após o processo de remoção são apresentados na Figura 36.

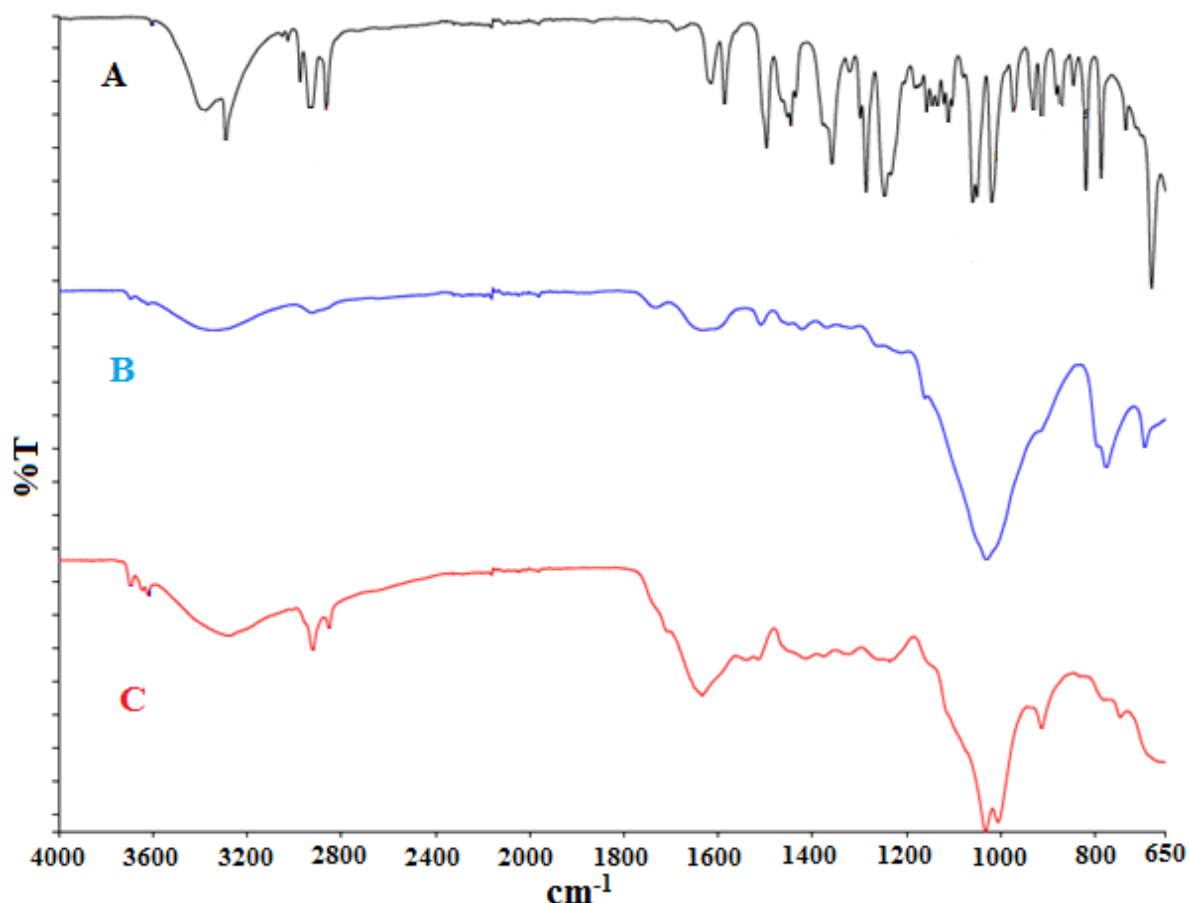


Figura 36 – Espectros de absorção na região do infravermelho do EE2 (A), do adsorvente após o processo de adsorção (B) e do adsorvente *in natura* (C)

A partir da Figura 36, observa-se que os espectros de absorção no infravermelho do adsorvente após o processo de adsorção e *in natura*, não apresentaram diferenças significativas em relação a adsorção do EE2, apenas alterações relacionadas à intensidade e ao alargamento

das bandas. Todos os espectros apresentaram uma banda com formato de sino em aproximadamente $3400\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$, atribuída ao estiramento O-H de grupo funcional de álcool e/ou fenol e confirmada pela presença da banda de estiramento de C-O em torno de $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$, além do estiramento de ligação C=C, bandas mais agudas e menos intensas compreendidas no intervalo de aproximadamente $1650\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ e associada a ela, a presença da banda de deformação angular fora do plano da ligação =C-H localizada na região de 950 cm^{-1} . Em $2900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ observa-se bandas mais finas, referentes a estiramentos C-H de alcanos ou grupos alquila. No espectro de absorção do EE2, as bandas características foram os estiramento de ligação $\equiv\text{C-H}$ de alquino terminal localizada em 3290 cm^{-1} aproximadamente e na região de $1300\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ que apresentam bandas originadas de modos vibracionais acopladas, vibracionais referente ao esqueleto carbônico da molécula e bandas fortes devida à deformação angular fora do plano (BARBOSA, 2008). Essa diferenças podem ser justificado ao preparo das amostras (tamanho de partículas) e ao fato do adsorvato estar presente na superfície do biossorvente em concentrações ultra-traços, na qual, não foi possível encontrar alguma vibração molecular de grupos funcionais presentes no EE2.

5.3.2 – Análise por MEV-EDS

As micrografias eletrônica de varredura para o biossorvente *in natura* e após o processo de remoção são mostradas na Figura 37.

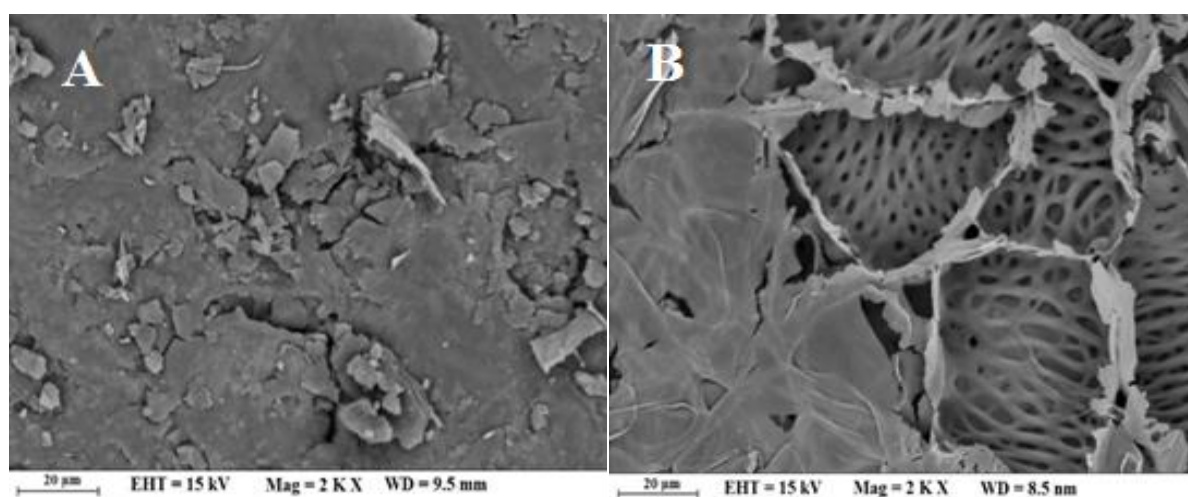


Figura 37 – Micrografias eletrônica de varredura aumentada 2.000 vezes da região analisada para as cascas de amendoim. A) *in natura*; B) após o processo de adsorção

A partir das micrografias, foi possível observar uma diferença significativa entre a superfície do biossorvente *in natura* e após o processo de adsorção. Na Figura 37-A, as fibras

vegetais encontram-se encobertas por resíduos do solo, enquanto, na Figura 37-B, tornam-se expostas e aparentes, situação justificável pelo processo de adsorção ocorrer em meio aquoso, favorecendo a remoção desses resíduos da superfície.

Os espectros de EDS são apresentados na Figura 38, uma análise qualitativa dos elementos químicos presentes nas amostras das cascas de amendoim *in natura* e após o processo de adsorção.

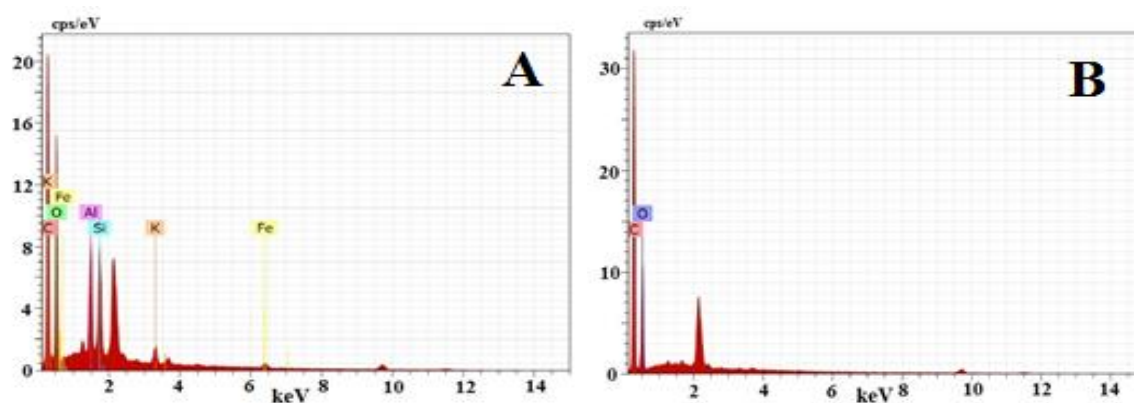


Figura 38 – Espectros de EDS das cascas de amendoim. A) *in natura*; B) após o processo de adsorção

A partir dos espectros de EDS, foram identificadas a presença dos elementos carbono, oxigênio, silício, alumínio, ferro e potássio na composição química das cascas de amendoim *in natura* (Figura 38-A), enquanto, após o processo de adsorção (Figura 38-B), foram identificados apenas os elementos carbono e oxigênio. O que é justificado pela presença dos resíduos (minerais) do solo na superfície do bioadsorvente *in natura*, já que a origem do mesmo é desenvolvida abaixo da superfície do solo. Como as cascas de amendoim são resíduos agrícolas lignocelulósicos, os quais possuem altos teores de celulose e lignina em matéria seca (85-90% aproximadamente) (TAPIA-OROZCO et al., 2016), a presença apenas dos elementos carbono e oxigênio como constituintes são majoritários neste adsorvente.

Os resultados das análises quantitativas desses elementos na composição química das amostras são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 – Resultado quantitativo da análise elementar (composição química), em porcentagem, das cascas *in natura* e após o processo de adsorção

Elemento	<i>in natura</i>	Após processo
Carbono (C)	47,85	59,38
Oxigênio (O)	38,97	40,62
Silício (Si)	4,91	-
Alumínio (Al)	4,69	-
Ferro (Fe)	2,33	-
Potássio (K)	1,25	-
Total (%)	100	100

De um modo geral, o adsorvente *in natura* possui maior porcentagem dos elementos carbono e oxigênio como já apresentado; e após o processo de adsorção, os elementos silício, alumínio, ferro e potássio foram removidos ao final do tratamento em meio aquoso, além do aumento da porcentagem dos elementos carbono e oxigênio.

5.4 – Capacidade calorífica do biossorvente

Na Tabela 24 encontram-se os valores das capacidades caloríficas (C) das cascas de amendoim *in natura* e após o processo de remoção do hormônio.

Tabela 24 – Capacidade calorífica das cascas de amendoim *in natura* e após processo de remoção

Parâmetros	<i>in natura</i>	CV (%)	Após o processo	CV (%)
Massa_{Média} (g)	0,5342	4,07	0,4555	1,73
$\Delta T_{Média}$ (°C)	1,1140	4,38	0,9483	1,81
C_{Média} (J g⁻¹)	19.062	0,36	18.869	0,30

A partir dos resultados da Tabela 24, percebe-se que a capacidade calorífica das cascas de amendoim após o processo de adsorção do hormônio, não apresentou mudança significativa em relação à capacidade calorífica das cascas *in natura*. Na literatura, a capacidade térmica da madeira encontra-se na faixa de 5.000-2.500 kcal kg⁻¹, por exemplo, cavaco de madeira com

10% de umidade, possui 3.930 kcal kg⁻¹ de poder calorífico, enquanto, para o mesmo cavaco de madeira, mas com 35% de umidade, possui um poder calorífico de 2.675 kcal kg⁻¹ (SCHURHAUS, 2007). Analisando o poder calorífico das cascas de amendoim *in natura* e após o processo de remoção em kcal kg⁻¹, os valores encontrados foram de 4.556 e 4.510 kcal kg⁻¹, respectivamente. Portanto, os mesmos podem ser utilizados para fins de combustão fornecendo energia suficiente em processos endotérmicos ou algo similares, utilizando - os em abastecimento ou na alimentação de caldeiras, fornalhas, trocadores de calor, entre outros.

6 – Considerações finais

No presente estudo, foi proposto a utilização de um bioissorvente de origem biológica para a remoção do EE2 em águas. Os resultados obtidos, mostraram uma aplicação para as cascas de amendoim e um processo alternativo para remoção do hormônio sintético EE2.

Para o estudo da validação analítica do método cromatográfico a partir das figuras de método ou de desempenho, se mostrou adequado para a determinação do EE2. O método apresentou boa seletividade para o EE2 ($T_R=5,20$ min), obteve boa linearidade ($R^2=0,99862$); garantiu uma boa repetibilidade dos ensaios ao nível de 95% de confiabilidade (CV entre 2,90-2,95%, para $n=10$), uma boa exatidão ($ER < 11\%$ e CV entre 0,41-1,00%), LD e LQ exibiu valores de 3,40 e 11,32 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente; além desses fatores, o método se mostrou robusto à pequenas variações de 5% nos parâmetros cromatográficos estudados (volume de injeção, temperatura da coluna, composição da FM e vazão da FM) com $ER < 16\%$ e CV entre 0,13 – 0,93%.

Quanto à otimização dos ensaios de adsorção, o modelo Box-Behnken, permitiu estudar 3 fatores (agitação, pH e massa do adsorvente) e 3 níveis ao mesmo tempo, gerando 15 experimentos aleatórios, fornecendo superfícies de resposta e gráficos de contorno para a determinação da condição ótima de adsorção, a qual, foi descrita por: agitação em 500 rpm, massa de adsorvente em 2,0 gramas e o meio reacional em pH 6,0; condições nas quais atingiu o melhor desempenho de remoção do EE2, 90% aproximadamente, em 24 horas de processo.

Em relação aos ensaios cinéticos, verificou-se que o modelo de pseudo-segunda ordem representou melhor os dados experimentais, no qual obteve-se bons valores de R^2 (0,8420) e q_e (11,310 $\mu\text{g g}^{-1}$), pois o q_e experimental obtido foi de 11,800 $\mu\text{g g}^{-1}$, além de uma constante cinética de velocidade lenta ($k_2 = 0,053 \text{ g } \mu\text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$). E com um novo estudo cinético em três temperaturas diferentes e ajustando os dados experimentais ao modelo de pseudo-segunda ordem, foi possível encontrar a energia de ativação do processo de adsorção do EE2 nas cascas de amendoim. O valor de E_a foi de 37,202 kJ mol^{-1} , a qual, denomina o processo de fisissorção, onde as interações intermoleculares entre EE2 e os sítios ativos das cascas de amendoim são por forças de Van der Waals e forças eletrostáticas.

Quanto ao estudo isotérmico, averiguou-se que o modelo de Freundlich foi capaz de descrever o comportamento de sorção para o bioissorvente e a substância estudada, pois apresentou melhor ajuste aos dados experimentais. A partir dos valores dos parâmetros de

Freundlich (n , K_F e R^2), pode-se inferir que a adsorção é desfavorável e o biossorvente possui baixa capacidade de remoção para baixas concentrações do analito em solução.

Enquanto ao estudo termodinâmico, os valores encontrados para os parâmetros ΔG_{ads}° , ΔH_{ads}° e ΔS_{ads}° foram de $6-10,121 \text{ kJ mol}^{-1}$, $-32,633 \text{ kJ mol}^{-1}$ e $-0,128 \text{ kJ K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, respectivamente. No qual, o processo mostrou-se termodinamicamente não espontâneo e desfavorável, de natureza exotérmica com liberação de calor e diminuição da desordem do sistema.

Em relação ao adsorvente escolhido, sua composição química é basicamente composta pelos elementos carbono e oxigênio, e após o processo de adsorção, pela análise quantitativa, houve um aumento gradativo do teor dos mesmos, indicando que o adsorvente conseguiu remover o EE2.

De modo geral, o biossorvente pode ser considerado como uma alternativa para a remoção do hormônio EE2, uma vez que o mesmo obteve uma boa eficiência de remoção, sem necessidade de passar por qualquer tipo de tratamento químico ou físico, o que elevaria o custo do processo, além do rejeito ser reaproveitado como fonte energética.

7 – Referências bibliográficas

ADAMSON, A. W.; GAST, A. P. **Physics and Chemistry of Surfaces**. 6ª ed. New York: John Wiley e Sons, 1997.

AKSU, Z. Equilibrium and kinetic modeling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature. **Separation and Purification Technology**, v.21, n.3, p.285–294, 2001.

ALFAYA, A. A. S.; CRUZ, M. A. R. F.; GUERRA, Á. R.; ISHIKAWA, D. N.; ALFAYA, R. V. S. Farinha da casca da banana: Um biossorvente para metais pesados de baixo custo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32., 2009, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Química, 2009. Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0837-1.pdf>>. Acesso em: 03 Abr. 2015.

AMARANTE JUNIOR, O. P.; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R.; VALE, M. L. B. F. Validação de métodos analíticos: uma breve revisão. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v.12, n.1/2, p.116-131, Jan./Dez., 2001.

ANDRADE, S. J.; MONTEIRO, B. R. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação dos hormônios sintéticos 17 α -etinilestradiol e levonorgestrel em águas superficiais. **Ciência e Natura**, v.37, n.2, p.391-400, Mai./Ago., 2015.

ANVISA – **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Guia para qualidade em química analítica: Uma assistência a acreditação, v.1, 2004.

AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Removal of pharmaceuticals and endocrine disrupters in sewage treatment plants: literature review. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.18, n.3, p.187-204, Jul./Set., 2013.

ARAÚJO, A. L. P.; SILVA, M. C. C.; GIMENES, M. L.; BARROS, M. A. S. D. Estudo Termodinâmico da Adsorção de Zinco em Argila Bentonita Bofe Calcinada. **Scientia Plena** v.5, n.12, p.1-6, 2009.

ARAÚJO, J. C. **Estudo da eficiência do tratamento de efluentes domésticos na cidade de Araraquara- SP na remoção de hormônios sexuais**. São Carlos, 2006. 84 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

ARAÚJO, W. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B., MAZUR, N.; GOMES, P. C. Relação entre adsorção de metais pesados e atributos químicos e físicos de classes de solo do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, n.1, p.17-27, 2002.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. 1ª Reimpressão, Viçosa - Editora UFV, Universidade Federal de Viçosa, 2008.

BARBOSA, R. N.; SILVA, T. S.; COSTA, C. M. C.; ANDRADE, L. M.; MELO, H. F. Qualidade bacteriológica da água consumida por comunidades rurais de Serra Talhada-Pernambuco. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.10, n.1, p.138-144, Jan./Abr., 2015.

BARROS, A. R. B. **Remoção de íons metálicos em água utilizando diversos adsorventes**. Florianópolis, 2001. 89p. Dissertação (Mestrado) – Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina. 2001.

BECHARA, E. J. H. O homem e o meio ambiente. **Química Nova**, v.15, n.2, p.117, 1992.

BEZERRA, M. A. **Aplicação de matriz de Doehlert na otimização de um sistema de pré-concentração em linha para determinação de cobre usando Espectrometria de absorção atômica com chama**. Salvador, 2003. 95 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, 2003.

BHARATHI, K. S.; RAMESH, S. T. Removal of dyes using agricultural waste as low-cost adsorbents: a review. **Applied Water Science**, v.3, p.773-790, 2013.

BIANCHIN, J. N. **Caracterização e utilização de novos biossorventes para a determinação de metais em matrizes biológicas e ambientais**. Florianópolis, 2011. 50 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2011. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/96082/289270.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 16 Set. 2015.

BILA, D. M., **Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17 β -Estradiol pelo Processo de Ozonização**. Rio de Janeiro, 2005. 303 p. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio de Janeiro/COPPE, 2005.

BIRKETT, J. W., LESTER, J. N. **Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes**. 1th ed., Lewis Publishers, CRC Press LLC, Florida, 2003.

BRANDÃO, C. C. S.; SILVA, A. S. Remoção de Cianotoxinas por Adsorção em Carvão Ativado. In: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, Edital 4 (Prosab 4). Contribuição ao Estudo da Remoção de Cianobactérias e Microcontaminantes Orgânicos por Meio de Técnicas de Tratamento de Água para Consumo Humano. Valter Lúcio de Pádua (Coordenador), 2006.

BRITO, N. M.; AMARENTE, O. P; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.13, p.129-146, Jan./Dez., 2003.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics**. 12th ed., The McGraw-Hill Companies, 2011.

BUTT, H. J.; GRAF, K.; KAPPL, M. **Physics and Chemistry of Interfaces**. Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2003.

CAUBET, C. G. A Água, a lei, a política. **Ministério do Meio Ambiente**. Curitiba: Juruá, 2006.

CEC – Commission of the European communities. Community strategy for endocrine disrupters: a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. Communication from the commission to the council and the European parliament, Brussels, COM (1999) 706 final, 1999.

CENSI, M. T.; RODRIGUES, A. G.; VIEIRA, K. A.; ROVANI, S. LIMA, É. C.; FERNANDES, A. N. Estudo de adsorção do hormônio 17α -Ethinilestradiol utilizando um resíduo agroindustrial. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 36., 2013, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química, 2013. Disponível em: <<http://www.eventoexpress.com.br/cd-36rasbq/resumos/T1856-1.pdf>>. Acesso em: 14 Set. 2015.

CIOLA R. **Fundamentos da Catalise**, Ed. 1, Editora Moderna, São Paulo, 1981.

CLARA, M.; STRENN, B.; SARACEVIC, E.; KREUZINGER, N. Adsorption of bisphenol-A, 17b-estradiol and 17a-ethinylestradiol to sewage sludge. **Chemosphere**, v.56, p.843–851, 2004.

COELHO, G. F.; GONÇALVES, A. C.; SOUSA, R. F. B.; SCHWANTES, D.; MIOLA, A. J.; DOMINGUES, C. V. R. Uso de técnicas de adsorção utilizando resíduos agroindustriais na remoção de contaminantes em águas. **Journal of Agronomic Science**, Umuarama, v.3, n. especial, p.291-317, 2014.

COLLINS, C. H.; SILVA, C. G. A. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v.34, n.4, p.665-676, 2011.

CUNHA, B. B. **Interações entre interferentes endócrinos e amostras de sedimento, turfa e espécies de plantas**. Araraquara, 2012. 90 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, 2012.

CURBELO, F. D. S. **Estudo da remoção de óleo em águas produzidas na indústria de petróleo, por adsorção em coluna utilizando a vermiculita expandida e hidrofobizada**. Natal, 2002. 102 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2002.

DABROWSKI, A. Adsorption - from theory to practice. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.93, p.135-124, 2001.

DELLE SITE, A. Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A Review. **Journal of Physical Chemical Reference Data**, v.30, v.1, 2001.

DENIZ, F.; KARAMAN, S. Removal of an azo-metal complex textile dye from colored aqueous solutions using an agro-residue. **Microchemical Journal**, v.99, p.296-302, 2011.

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

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. Vol. 1 e 2, Ed. Rima, São Carlos, 2005.

DODD, M. C.; BUFFLE, M. O.; VON GUNTEN, U. Oxidation of Antibacterial Molecules by Aqueous Ozone: Moiety-Specific Reaction Kinetics and Application to Ozone-Based Wastewater Treatment. **Environment Science & Technology**, v.40, p.1969-1977, 2006.

FARABEE, M. J. **The endocrine system**, 2001. Disponível em: <<https://www2.estrellamountain.edu/faculty/farabee/BIOBK/BioBookENDOCR.html>>. Acesso em: 09 Abr. 2016.

FÁVERE, V. T. **Adsorção dos íons Cu(II), Cd(II), Ni(II), Pb(II) e Zn(II) pelo biopolímero quitina quitosana e pelas quitosanas modificadas**. Florianópolis, 1994. 153p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, 1994.

FEBRIANTO, J.; KOSASIH, A. N.; SUNARSO, J.; JU, Y.; INDRASWATI, N.; ISMADJI, S. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**, v.162, p.616–645, 2009.

FERNANDES, A. N.; GIOVANELA, M.; ALMEIDA, C. A. P.; ESTEVES, V. I.; SIERRA, M. M. D.; GRASSI, M. T. Remoção dos Hormônios 17 β -Estradiol e 17 α -Ethinilestradiol de Soluções Aquosas empregando Turfa Decomposta como Material Adsorvente. **Química Nova**, v.34, n.9, p.1526-1533, 2011.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; da SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; dos REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; dos SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v.597, p.179–186, 2007.

FIGUEIREDO, R. S. **Estudo da adsorção de manganês em batelada e coluna de leito fixo utilizando zeólita sintética**. Ouro preto, 2014. 85p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Ouro preto - Rede Temática em Engenharia de Materiais (UFOP-CETEC-UEMG), 2014.

FLORIDO, P. L. **Tratamento de efluente de refinaria pelo processo combinado de adsorção em carvão ativado e biorreator com membranas**. Rio de Janeiro, 2011. 173p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2011.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v.156, p.2–10, 2010.

FOUST, A. S. et al., **Princípios das Operações Unitárias**. Editora LTC: Rio de Janeiro, 2ª Ed., 1982.

FREITAS, A. F.; MENDES, M. F.; COELHO, G. L. V. Estudo termodinâmico da adsorção de ácidos carboxílicos em carvão ativado. **Revista Universidade Rural. Série Ciências Exatas e da Terra. Seropédica**, RJ, EDUR, v.24, n.1-2, p.28-42, Jan./Dez., 2005.

FREUNDLICH H. Over the adsorption in solution (Über die adsorption in Lösungen). **Journal of Physical Chemistry** (Zeitschrift für Physikalische Chemie), v.57, p.385-470, 1906.

GONÇALVES, A. C., Descontaminação e monitoramento de águas e solos na região amazônica utilizando materiais adsorventes alternativos, visando a remoção de metais pesados tóxicos e pesticidas. **Inc. Soc.**, Brasília, DF, v.6, n.2, p.105-113, Jan./Jun., 2013.

GOULART, C. M; SOUZA, M. M.; MARINHO, I. M. L.; MESQUITA, A. R.; SILVA, V. L. **Estudo da remoção de metais pesados utilizando como biossorventes resíduos agrícolas**.

IF Sudeste MG – Campus Barbacena, Barbacena, Set. 2012. Disponível em: <https://www.ufmg.br/proex/ddc/ufmgjovem2012/docs/mtrab/07-remocao_metais_pesados.pdf>. Acessado em: 03 Abr. 2015.

GRASSI, M.; KAYKIOGLU, G.; BELGIORNO, V.; LOFRANO, G. Removal of emerging contaminants from water and wastewater by adsorption process. **Emerging Compounds Removal from Wastewater Springer Briefs in Molecular Science**, Springer, p.15-37, 2012.

GUILLETTE, L. J.; PICKFORD, D. B.; CRAIN, D. A.; ROONEY, A. A.; PERCIVAL, H. F. Reduction in Penis Size and Plasma Testosterone Concentrations in Juvenile Alligators Living in a Contaminated Environment. **General and Comparative Endocrinology**, v.101, p.32–42, 1996.

GUTENDORF, B.; WESTENDORF, J. Comparison of an array of in vitro assays for the assessment of the estrogenic potential of natural and synthetic estrogens, phytoestrogens and xenoestrogens. **Toxicology**, v.166, p.79–89, 2001.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. Ed. LTC, 8º ed., 2008.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Sorption of copper (II) from aqueous solution by peat. **Water Air and Soil Pollution**, v.158, n.1, p.77-97, 2004.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Pseudo-second-order model for sorption process. **Process Biochemistry**, v.34, n.5, p.451-465, 1999.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008, Rio de Janeiro, 2010.

IKEHATA, K.; EL-DIN, M. G.; SNYDER, S. A. Ozonation and Advanced Oxidation Treatment of Emerging Organic Pollutants in Water and Wastewater. **Ozone: Science and Engineering**, v.30, p.21-26, 2008.

INMETRO – **Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial**. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos DOQ-CGCRE-008, Revisão: 01 – Março de 2003.

JARDIM, I. C. S. F.; MALDANER, L. Determination of some organic contaminants in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Talanta**, v.100, p.38–44, 2012.

JARDIM, W. F. A. Contaminação dos recursos hídricos esgoto doméstico e industrial. **Química Nova**, v.15, n.2, p.144-146, 1992.

JARDIM, W. F.; GHISELLI, G. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v.30, n.3, p.695-706, 2007.

KANITZ, O. **Modificação química do bagaço de cana-de-açúcar usando anidrido do EDTA. Uso deste material na adsorção de metais pesados em solução aquosa**. Ouro Preto, 2007. 113 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Ouro Preto, 2007.

KOEPPEN, B. N.; STANTON, B. A. **Berne & Levy physiology**. 6th ed., Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier, 2009.

KUMMERER, K. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. **Journal of Environmental Management**, v.90, p.2354–2366, 2009.

LA FARRÉ, M.; PÉREZ, S.; KANTIANI, L.; BARCELÓ, D. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v.27, n.11, 2008.

LAI, K. M.; JOHNSON, K. L.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Binding of Waterborne Steroid Estrogens to Solid Phases in River and Estuarine Systems. **Environment Science & Technology**, v.34, p.3890-3894, 2000.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v.40, p.1361-1403, 1918.

LESMANA, S. O.; FEBRIANA, N.; SOETAREDJO, F. E.; SUNARSO, J.; ISMADJI, S. Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v.44, p.19–41, 2009.

LUCENA, W. S. O fármaco 17 alfa etinilestradiol: seus possíveis efeitos à saúde humana e animal por exposições ambientais. Rio de Janeiro, 2013. 68 p. Monografia (Pós-graduação em tecnologias farmacêuticas), Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, 2013.

LUNDSTEDT, T.; SEIFERT, E.; ABRAMO, L.; THELIN, B.; NYSTROM, A.; PETTERSEN, J.; BERGMAN, R. Experimental design and optimization. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.42, p.3–40, 1998.

MAGDY, Y. H.; DAIFULLAH, A. A. M. Adsorption of a basic dye from aqueous solutions onto sugar-industry-mud in two modes of operations. **Waste Management**, v.18, n.4, p.219-226, 1998.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Unit operations of chemical engineering**. McGraw Hill International Edition, Singapore, 5th Ed., 1993.

McKAY, G. **Use of adsorbents for the removal of pollutants from wastewaters**. Flórida: CRC Press. inc. 186 p., 1996.

MELLAH, A., CHEGROUCHE, S. The Removal of Zinc from aqueous solutions by natural bentonite. **Centre de Developpement des Materiaux, Lab. The Trait. Des. Minerais**, BP. v.43, p.621-629, 1997.

MELO, C. R. **Síntese de zeólita tipo 5ª a partir de caulim para adsorção de metais pesados de soluções aquosas**. Florianópolis, 2009. 89 p. Dissertação(Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

MONTEIRO, R. A. **Avaliação do potencial de adsorção de U, Th, Pb, Zn e Ni pelas fibras de coco**. São Paulo, 2009. 86 p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade de São Paulo, 2009.

MORENO-CASTILLA, C. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. **Carbon**, v.42, p.83–94, 2004.

NOGUEIRA, M. I. C.; NASCIMENTO, F. N.; AGUIAR, S. O.; BUARQUE, H. L. B.; ARAÚJO, R. S. Adsorção de fenol e nitrofenóis em solução aquosa usando bagaço da casca de coco como adsorvente. **II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa - PB – 2007**.

NOLLET, H.; ROELS, M.; LUTGEN, P.; VAN DER MEEREN, P.; VERSTRAETE, W. Removal of PCBs from wastewater using fly ash. **Chemosphere**. Issue 6, v.53, p.655-665, 2003.

OLSEN, C. M.; MEUSSEN-ELHOLM, E. T. M.; HONGSLO, J. K.; STENERSEN, J.; TOLLEFSEN, K. Estrogenic effects of environmental chemicals: An interspecies comparison. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v.141, p.267 – 274, 2005.

PANTANO, G.; FERREIRA, J. S.; MOZETO, A. A.; FADINI, P. S. Serragem: um promissor biosorvente para o fósforo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 37., 2014, Natal. **Resumos...** Natal: Sociedade Brasileira de Química, 2014. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/37ra/cdrom/resumos/T0115-1.pdf>>. Acesso em: 17 Jun. 2015.

PETROVIC, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trends in Analytical Chemistry**, v.22, n.10, 2003.

RAIMUNDO, C. C. M. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia**. Campinas, 2007. 126 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 2007.

RATH, S.; PASCHOAL, J. A. R.; AIROLDI, F. P. S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, v.31, n.5, p.1190-1198, 2008.

REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C.; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrogênicos: Contaminantes bioativos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.817-822, 2006.

RIBANI, M.; COLLINS, C. H.; BOTTOLI, C. B. G. Desenvolvimento e validação de método para separação de isoflavonas em extrato seco de soja. **Revista Ciência e Natura**, Santa Maria, v.36, n.3, p.501-510, Set./Dez., 2014.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

ROSENFELDT, E. J.; CHEN, P. J.; KULLMAN, S.; LINDEN, K. G. Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation. **Environment Science & Technology**, v.37, p.105-113, 2007.

RUDDER, J.; VAN DE WIELE, T.; DHOOGHE, W.; COMHAIRE, F.; VERSTRAETE, W. Advanced water treatment with manganese oxide for the removal of 17 α -ethynylestradiol (EE2). **Water Research**, v.38, p.184–192, 2004.

RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption processes**. New York: Wiley, 1984.

SANTOS, J. O.; SANTOS, R. M. S.; GOMES, M. A. D., MIRANDA, R. C.; NÓBREGA, I. G. M. A qualidade da água para o consumo humano: Uma discussão necessária. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental – RBGA**. Pombal - PB, v.7, n.2, p.19-26, Abr./Jun., 2013.

SCHNEIDER, E. L. **Adsorção de compostos fenólicos sobre carvão ativado**. Toledo, 2008. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2008.

SCHURHAUS, P. **Produtos e propriedades energéticas da madeira**. Engenharia industrial da madeira, UNIUV – Centro Universitário de União da Vitória, 2007. Disponível em: < <http://engmadeira.yolasite.com/resources/Energia%20da%20madeira.pdf> >. Acesso em: 05 mar. 2017.

SEIXAS, F. L.; GIMENES, M. L.; FERNANDES-MACHADO, N. R. C. Tratamento da vinhaça por adsorção em carvão de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v.39, n.2, p.172-179, 2016.

SHARMA, R. K.; KUMAR, A.; JOSEPH, P. E. Removal of Atrazine from Water by Low Cost Adsorbents Derived from Agricultural and Industrial Wastes. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.80, p.461–464, 2008.

SILVA, A. T. **Influência da temperatura na adsorção do corante azul de metileno utilizando serragem de *Pinus elliottii* como um adsorvente alternativo: um modelo para o tratamento de efluentes têxteis**. Florianópolis, 2005. 45 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

SILVA, C. P.; ESTEVER, V.; OTERO, M. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review. **Environmental Pollution**, v.165, p.38-58, 2012.

SILVA, V. F.; FERREIRA, A. C.; SILVA, V. F.; BARACUHY, J. G. V. Análises de corpos hídricos constituintes do Riacho das Piabas em Campo Grande/PB. **REMOA**, v.13, n.4, p.3460-3466, Set./Dez., 2014.

SIMMONDS, R. J.; **Chemistry of Biomolecules: An Introduction**. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1992.

SNYDER, S. A.; KEITH, T. L.; VERBRUGGE, D. A.; SNYDER, E. M.; GROSS, T. S.; KANNAN, K.; GIESY, A. J. Analytical Methods for Detection of Selected Estrogenic Compounds in Aqueous Mixtures. **Environment Science & Technology**, v.33, n.16, p.2814-2820, 1999.

SOARES, A. L. N. **Extração em fase sólida utilizando polímeros de impressão molecular para determinação de estrogênios em cursos d'água**. Sandro André, 2015. 22 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do ABC, 2015. Disponível em: <http://ccnh.ufabc.edu.br/arquivos/2015/Ensino/graduacao/bachareladoquimica/TCCs/TCC-Ana_Luiza_Neves_Soares.pdf>. Acesso em: 13 set. 2015.

SOARES, J. L. **Remoção de Corantes Têxteis por adsorção em carvão mineral ativado com alto teor de cinzas**. Florianópolis, 1998. 84p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina. 1998.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. **Caderno temático volume 06: Origem e Destino de Interferentes Endócrinos em Águas Naturais**. Unicamp, Campinas, 2007. Disponível em: <<http://lqa.iqm.unicamp.br/cadernos/caderno6.pdf>>. Acesso em: 25 Mar. 2015.

SODRÉ, F. F.; MONTAGNER, C. C.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v.2, n.2, p.187-196, 2007.

SOUZA, E. **Introdução à cinética química**. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas, Departamento de Química, UFMG, 1999.

TANYILDIZI, M. S. Modeling of adsorption isotherms and kinetics of reactive dye from aqueous solution by peanut hull. **Chemical Engineering Journal**, v.168, n.3, p.1234-1240, 2011.

TAPIA-OROZCO, N.; IBARRA-CABRERAB, R.; TECANTEA, A.; GIMENOA, M.; PARRAC, R.; GARCIA-ARRAZOLA, R. Removal strategies for endocrine disrupting chemicals using cellulose-based materials as adsorbents: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.4, p.3122–3142, 2016.

TARLEY, C. R. T.; ARRUDA, M. A. Z. Biosorption of heavy metals using rice milling by-products. Characterisation and application for removal of metals from aqueous effluents. **Chemosphere**, v.54, p.987-995, 2004.

TAVARES, C. R. G; VEIT, M. T.; COSSICH, E. S.; COSTA, S. M. G; GONZALES, A. M. Isotermas de adsorção de cobre (II) sobre biomassa fúngica morta. In: IV ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE ADSORÇÃO – EBA, 4., 2003, **Anais**, Rio de Janeiro – RJ, p.24-31, 2003.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validations of methods of analysis. **IUPAC, Pure and Applied Chemistry**, v.74, n.5, p.835–855, 2002.

UNRUH, C. **Adsorção do hormônio 17 α -etinilestradiol com uso de Carvão Ativado Granular**. Curitiba, 2011. 68 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, 2011.

US.EPA, 1997; Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis, U.S. Environmental Protection Agency, Report No. EPA/630/R-96/012, Washington D. C, 1997.

VAGHETTI, J. C. P. **Utilização de biossorventes para remediação de efluentes aquosos contaminados com íons metálicos.** Porto Alegre, 2009. 99 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

VASQUES, A. R. **Caracterização e Aplicação de Adsorvente para Remoção de Corantes de Efluentes Têxteis em Batelada e Colunas de Leito Fixo.** Florianópolis, 2009. 153p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

VOLESKY, B. **Biosorption of heavy metals.** Boca Raton, Flórida: CRC Press, 396 p., 1990.

VOLESKY, B. Biosorption process simulation tools. **Hydrometallurgy**, v.71, p.179-190, 2003.

VON BRANDIS, H. J. **Anatomia e Fisiologia para profissionais da equipe de saúde.** Ed. Pedagógica e Universitária LTDA, São Paulo, v.3, p.95-105, 1977.

WESTERHOFF, P.; YOON, Y.; SNYDER, S.; WERT, E. Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes. **Environment Science & Technology**, v.39, p.6649-6663, 2005.

YING, G.-G., KOOKANA, R. S., RU, Y.-J., Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environment International**, v.28, p.545– 551, 2002.

YU, Z.; XIAO, B.; HUANG, W.; AN PENG, P. Sorption of Steroid Estrogens to Soils and Sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.23, n.3, p.531–539, 2004.