

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALINE DA SILVEIRA NECTOUX

**MEMBRANAS POLIMÉRICAS PARA REMOÇÃO DE
DESREGULADORES ENDÓCRINOS
EM AMOSTRAS AQUOSAS**

TESE DE DOUTORADO

Prof.^a Dr.^a. Andreia Neves Fernandes
Orientadora

Porto Alegre, julho de 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALINE DA SILVEIRA NECTOUX

**MEMBRANAS POLIMÉRICAS PARA REMOÇÃO DE
DESREGULADORES ENDÓCRINOS
EM AMOSTRAS AQUOSAS**

TESE DE DOUTORADO

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de doutora em química

Prof.^a Dr.^a. Andreia Neves Fernandes
Orientadora

Porto Alegre, julho de 2019.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela oportunidade de conhecer e poder conviver com pessoas admiráveis;
Aos meus pais Julio e Tânia e aos meus irmãos, Cristiane e Diego, por serem a minha base e me tornarem a pessoa que sou hoje, pelo apoio nos momentos difíceis, pela compreensão e por todo carinho que sempre recebi;
Ao meu namorado Luciano pela dedicação, amor, companheirismo e compreensão;
Às amigas Cláudia, Denise, Juliana e Camila por dividirem comigo momentos tristes e alegres nesses longos anos de amizade verdadeira;
Aos colegas de laboratório pela amizade, pela ajuda na realização deste trabalho e incentivo;
Ao grande amigo Leonardo que tornou esse processo mais fácil, agradeço pela companhia almoços no RU, pelo suporte emocional, pela ajuda na construção desta tese, enfim, pela linda amizade que construímos e que levarei pelo resto da vida;
À Central Analítica do Departamento de Engenharia Química da UFRGS pela realização das análises no HPLC e pela disponibilidade;
À Prof.^a Rosane Soares pelo empréstimo do equipamento de *electrospinning*;
À Prof.^a Andreia Fernandes, por ter me aceito em seu grupo de pesquisa, pelos momentos de orientação e pela confiança depositada;
À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial, professores e funcionários do Instituto de Química pela oportunidade de desenvolver este trabalho;
À CAPES, pela bolsa concedida;
A todos que fazem parte da minha vida e, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada.

TRABALHOS GERADOS A PARTIR DESTA TESE

Artigo publicado

Nectoux, A.S.; Medeiros, L.F.; Rodrigues, R.S.B.; Soares, R.M.D.; Fernandes, A.N. Electrospun nanofibrous membranes for solid-phase extraction of estriol from aqueous solution, **Journal of Applied Polymer Science**, 47189, 2018. DOI: 10.1002/app.47189

Trabalhos publicados em eventos científicos

Nectoux, A.S.; Medeiros, L.F., Fernandes, A.N. Síntese e aplicação de nanofibras poliméricas para remoção de fármacos em amostras ambientais, In: VIII Encontro Nacional de Química Ambiental, Curitiba/PR, Anais do VIII ENQAmb, 356-360, 2018. Pôster e apresentação oral.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. Objetivo geral.....	4
2.2. Objetivos específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Contaminação da Água.....	5
3.2. Contaminantes Emergentes.....	6
3.3. Compostos Desreguladores Endócrinos (EDC).....	8
3.3.1. Estrona (E1).....	13
3.3.2. 17 β -estradiol (E2).....	14
3.3.3. 17 α -etinilestradiol (EE2).....	15
3.4. Avaliação Toxicológica e Risco Ambiental.....	16
3.5. Extração em Fase Sólida (SPE).....	18
3.6. Filtração por Membrana.....	20
3.7. Membranas Poliméricas.....	21
3.7.1. Poliamida 6 (PA6).....	25
3.7.2. Poli(ϵ -caprolactona) (PCL).....	26
3.7.3. Poli (ácido láctico) (PLA).....	27
3.7.4. Poli (butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT).....	28
3.8. Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência.....	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1. Materiais e Reagentes.....	32
4.2. Obtenção das Membranas Poliméricas.....	32
4.3. Caracterização das Membranas Poliméricas.....	35
4.4. Remoção dos Hormônios.....	36

4.4.1. Extração em Fase Sólida por Membrana (SME).....	37
4.4.2. Filtração por Membrana.....	38
4.5. Otimização da Técnica de Filtração por Membrana.....	39
4.5.1. Reutilização das Membranas Poliméricas.....	40
4.5.2. Estudo de Dessorção.....	41
4.5.3. Estudo do Volume de Quebra.....	41
4.6. Aplicação da Membrana Polimérica em Amostra Real.....	41
4.7. Comparação da Membrana Polimérica de PBAT com Membrana Comercial.....	42
4.8. Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1. Avaliação Toxicológica e Risco Ambiental.....	44
5.2. Caracterização das Membranas Poliméricas.....	45
5.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM).....	45
5.2.2. Análise Termogravimétrica.....	49
5.2.3. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier.....	51
5.2.4. Ângulo de Contato e Porosidade.....	54
5.3. Desenvolvimento do Método de Análise.....	56
5.4. Extração em Fase Sólida por Membrana (SME).....	59
5.5. Filtração por Membrana.....	62
5.6. Otimização do Método de Filtração por Membrana.....	66
5.6.1. Estudo da Reutilização.....	66
5.6.2. Estudo de Dessorção.....	67
5.6.3. Estudo do Volume de Quebra.....	69
5.7. Aplicação da Membrana de PBAT em Amostra Real.....	71
5.8. Comparação da membrana preparada com membrana comercial.....	73
6. CONCLUSÃO.....	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Possíveis rotas de contaminação dos corpos d'água pelos compostos desreguladores endócrinos.....	10
Figura 2. Representação das formas de contaminação do meio ambiente por estrogênios.....	11
Figura 3. Estrutura química do hormônio estrona.....	13
Figura 4. Estrutura química do hormônio 17 β -estradiol.....	14
Figura 5. Estrutura química do hormônio 17 α -etinilestradiol.....	15
Figura 6. Desenho esquemático do funcionamento da técnica de extração em fase sólida (SPE).....	18
Figura 7. Dispositivo de extração em fase sólida por membrana (SME).....	20
Figura 8. Esquema representativo da técnica de eletrofiliação.....	22
Figura 9. Estrutura química da poliamida 6.....	25
Figura 10. Estrutura química da poli(ϵ -caprolactona).....	26
Figura 11. Estrutura química do poli(ácido láctico).....	27
Figura 12. Estrutura do poli (butileno adipato co-tereftalato).....	28
Figura 13. Fluxograma de otimização da técnica de eletrofiliação.....	33
Figura 14. Esquema representativo do preparo das membranas poliméricas.....	34
Figura 15. Fluxograma dos testes realizados para as técnicas de SME e filtração por membrana.....	37
Figura 16. Esquema de montagem do sistema SME.....	38
Figura 17. Esquema de montagem do sistema de filtração.....	39
Figura 18. Fluxograma representativo da otimização da técnica de filtração por membrana.....	40
Figura 19. Fluxograma representativo dos testes realizados em amostra real.....	42
Figura 20. Fluxograma representativo dos testes realizados em membrana comercial...	43
Figura 21. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PA6 com magnificação 5000x (a) e 10000x (b), obtido com a voltagem de 8 kV.....	46
Figura 22. Histograma de distribuição das espessuras dos fios da membrana de PA6.....	46
Figura 23. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PCL com magnificação 5000x (a) e 10000x (b), obtida com a voltagem de 10 kV.....	47
Figura 24. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PLA com	

magnificação 2000x (a) e 5000x (b), obtida com a voltagem de 15 kV.....	48
Figura 25. Histogramas de distribuição das espessuras dos fios das membranas de PCL (a) e PLA (b).....	48
Figura 26. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PBAT com magnificação 2000x (a) e 5000x (b), obtida com a voltagem de 10 kV.....	49
Figura 27. Histograma de distribuição das espessuras dos fios da membrana de PBAT....	49
Figura 28. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PA6.....	50
Figura 29. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PCL.....	50
Figura 30. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PLA.....	51
Figura 31. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PBAT.....	51
Figura 32. Espectro FT-IR para a membrana de PA6.....	52
Figura 33. Espectro FT-IR para a membrana de PCL.....	53
Figura 34. Espectro FT-IR para a membrana de PLA.....	53
Figura 35. Espectro FT-IR para a membrana de PBAT.....	54
Figura 36. Ângulo de contato das membranas poliméricas de PCL (a) e PLA (b).....	55
Figura 37. Ângulo de contato da membrana polimérica de PA6.....	55
Figura 38. Curvas analíticas para o método HPLC-DAD para os hormônios E1 (a), E2 (b) e EE2 (c), em água ultrapura.....	56
Figura 39. Curvas analíticas para o método HPLC-DAD para os hormônios E1 (a), E2 (b) e EE2 (c), em água superficial.....	58
Figura 40. Cromatograma dos hormônios E1, E2 e EE2 em solução padrão 1,5 mg L ⁻¹ ...	59
Figura 41. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas PA6 (a), PCL (b), PLA (c) e PBAT (d), Com lavagem, com condicionamento, Com lavagem, sem condicionamento, Sem lavagem, com condicionamento, Sem lavagem, sem condicionamento, através da técnica de SME. (**) Remoção nula.....	60
Figura 42. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas PA6 (a), PCL (b), PLA (c) e PBAT (d), Com lavagem, com condicionamento, Com lavagem, sem condicionamento, Sem lavagem, com condicionamento, Sem lavagem, sem condicionamento, através da técnica de filtração por membrana. (*) Remoção nula..	62
Figura 43. Remoções máximas dos hormônios E1, E2 e EE2, obtidas através das técnicas de SME e filtração por membrana com percolação de 5 mL de solução padrão 1,5 mg L ⁻¹ , utilizando-se as membranas poliméricas de PA6 (a), PCL (b), PLA (c) e PBAT (d).....	65

Figura 44. Remoções dos hormônios E1, E2 e EE2 através da técnica de filtração por membrana com percolação de 5 mL de solução padrão 1,5 mg L ⁻¹ , utilizando-se as membranas poliméricas de PCL (a) e PBAT (b), após 10 ciclos de reutilização.....	67
Figura 45. Estudo de dessorção dos hormônios E1 (a), E2 (b) e EE2 (c) de uma solução padrão 1,5 mg L ⁻¹ realizadas pela técnica de filtração por membrana de PBAT e empregando-se diferentes proporções de acetonitrila/água ultrapura.....	69
Figura 46. Remoções dos hormônios E1, E2 e EE2 obtidas através da técnica de filtração por membrana após a percolação de 5, 50, 250 e 500 mL de solução padrão 1,5 mg L ⁻¹ , utilizando-se a membrana polimérica de PBAT, variando-se o volume de amostra percolado.....	70
Figura 47. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 após percolação de 5 mL de amostra de água superficial (a) e dessorção dos hormônios E1, E2 e EE2 em amostra de água superficial com adição de padrão 1,5 mg L ⁻¹ (b), empregando-se a membrana polimérica de PBAT.....	71
Figura 48. Cromatograma dos hormônios E1, E2 e EE2 em amostra de água superficial com adição de padrão 1,5 mg L ⁻¹ , após processo de filtração por membrana.....	73
Figura 49. Cromatograma dos hormônios E1, E2 e EE2 em amostra de água superficial com adição de padrão 1,5 mg L ⁻¹ , após processo de dessorção.....	73
Figura 50. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando-se membrana comercial de ésteres de celulose, após percolação de 5 mL de amostra padrão 1,5 mg L ⁻¹ e amostra real através da membrana PBAT.....	73
Figura 51. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando-se a membrana de PBAT e a membrana comercial de ésteres de celulose, em amostra padrão (a) e amostra real (b)...	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos desreguladores endócrinos mais comumente utilizado pelo homem.....	9
Tabela 2. Excreção diária (μg) <i>per capita</i> de estrogênios por humanos.....	12
Tabela 3. Parâmetros utilizados para o processo de eletrofiliação.....	34
Tabela 4. Previsões de toxicidade e risco ambiental para o E1, E2 e EE2 realizados pelo software ECOSAR.....	44
Tabela 5. Molhabilidade das membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT.....	55
Tabela 6. Parâmetros de mérito do método de HPLC-DAD, em água ultrapura.....	57
Tabela 7. Parâmetros de mérito do método de HPLC-DAD, em água superficial.....	58
Tabela 8. Remoções máximas obtidas para os hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT, através da técnica de SME.....	61
Tabela 9. Remoções máximas obtidas para os hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT, através da técnica de filtração.....	64
Tabela 10. Remoções máximas obtidas para os hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas de PBAT e celulose, através da técnica de filtração, em amostra padrão e amostra de água superficial.....	74
Tabela 11. Remoção de desreguladores endócrinos por membranas comerciais.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN – Acetonitrila

CAS-ACS – do inglês, *Chemical Abstracts Service* uma divisão da *American Chemical Society*

DAD – Detector por Arranjo de Diodos

DDT – do inglês, *dichloro-diphenyl-trichloroethane*

ϵ – Porosidade da membrana polimérica

ECOSAR – do inglês, *Ecological Structure-Activity Relationship*

E1 – Estrona

E2 – 17 β -estradiol

E3 – Estriol

EDC – do inglês, *Endocrine Disruptor Compound*

EE2 – 17 α -etinilestradiol

ETA – Estação de Tratamento de Água

FDA - *US Food and Drug Administration*

FT-IR – do inglês, *Fourier-transform infrared spectroscopy*

GC – do inglês, *Gas Chromatography*

HBB – Hexabromobifenil

HPLC – do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*

HQ – do inglês, *Hazard Quotient*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LOD – Limite de detecção

Log K_{ow} – coeficiente de partição octanol-água

LOQ – Limite de Quantificação

MF – do inglês, *Microfiltration*

NF – do inglês, *Nanofiltration*

NORMAN – do inglês, *Network of Reference Laboratories Research Centres and Related Organizations for Monitoring of Emerging Environmental Substances*

PA6 – Poliamida 6

PBAT - Poli(butileno adipato-co-tereftalato)

PCB – do inglês, *polychlorinated biphenyl*

PCL – Poli (ϵ -caprolactona)

PFO – Ácido sulfônico perfluorooctano

PLA – Poli(ácido láctico)

POP – Poluentes Orgânicos Persistentes

POSF – Fluoreto de perfluorocetanosulfonil

PPCP – do inglês, *Pharmaceuticals and personal care products*

QSAR – do inglês, *Quantitative Structure-Activity Relationships*

ER – Eficiência de Remoção (%)

RO – do inglês, *Reverse Osmosis*

SAR – do inglês, *Structure-Activity Relationships*

SEM – do inglês, *Scanning Electron Microscopy*

SME – do inglês, *Solid Membrane Extraction*

SPE – do inglês, *Solid Phase Extraction*

TGA – do inglês, *Thermogravimetric Analysis*

UF – do inglês, *Ultrafiltration*

USEPA – *United States Environmental Protection Agency*

WHO – *World Health Organization*

♂ – Masculino, homem

♀ – Feminino, mulher

RESUMO

Diversos compostos químicos são produzidos e utilizados mundialmente em larga escala para diferentes finalidades, aumentando a quantidade de resíduos que podem chegar aos corpos d'água. Os compostos desreguladores endócrinos (EDC), tais como os hormônios, são considerados contaminantes emergentes por serem detectados no meio ambiente em baixas concentrações e pelo fato de serem desconhecidos os efeitos nocivos que podem causar em longo prazo à saúde humana. Entre os EDC, os hormônios estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) e 17 α -etinilestradiol (EE2) são considerados pseudo persistentes, pois embora apresentem curto tempo de meia vida, são diariamente excretados, acumulando-se nos corpos aquáticos, provocando sua contaminação. Tendo em vista que as estações de tratamento de água não foram projetadas para remover completamente tais compostos, esses contaminantes têm sido encontrados em águas brutas e águas destinadas ao consumo humano. Diversas técnicas podem ser empregadas para a remoção de analitos em níveis traço de amostras ambientais, no entanto destacam-se as técnicas de extração em fase sólida por membranas (SME) e a filtração por membranas. A preocupação em se obter materiais de baixo custo, fáceis de preparar e que apresentem alta eficiência de remoção, tornaram as membranas poliméricas produzidas por eletrofiliação materiais bastante promissores. Diante destes aspectos, o presente trabalho visou preparar por eletrofiliação membranas poliméricas utilizando os polímeros poliamida 6 (PA6), poli(ϵ -caprolactona) (PCL), poli(ácido láctico) (PLA) e poli(butilenoadipato-*co*-tereftalato) (PBAT) e aplicar na remoção de três hormônios em amostras aquosas: estrona, 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol, utilizando a técnica de SME e filtração por membrana. A técnica de SME apresentou maiores porcentagens de remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 quando se empregou as membranas de PCL e PBAT, enquanto para a técnica de filtração por membrana, as maiores porcentagens de remoção dos compostos foram obtidas para a membrana de PBAT. O método utilizado de HPLC-DAD para detecção dos hormônios apresentou coeficientes de correlação adequados e limites de detecção e quantificação compatíveis com as concentrações utilizadas neste trabalho. Desta forma, a utilização da membrana de PBAT para remoção dos hormônios E1, E2 e EE2, por meio da técnica de filtração, é realizada de uma forma rápida e simples. A membrana polimérica de PBAT produzida através da técnica de eletrofiliação é tão eficaz quando uma membrana comercial de celulose na remoção e na recuperação dos hormônios estudados, além de apresentar menor custo de produção e possibilitar modificações internas e externas.

Palavras-chave: Membranas poliméricas; contaminantes emergentes; compostos desreguladores endócrinos.

ABSTRACT

Several chemical compounds are produced and used worldwide in a large scale for various purposes, increasing the amount of waste that can reach the bodies of water. Endocrine disrupting compounds (EDCs), such as hormones, are considered emerging contaminants because they are detected in the environment at low concentrations and because the harmful effects that would cause long-term human health are unknown. Among the EDCs, the hormones estrone (E1), 17 β -estradiol (E2) and 17 α -ethinyl estradiol (EE2) are considered pseudo persistent because although they have a short half-life, they are excreted daily, accumulating in the aquatic bodies, causing their contamination. Since water treatment plants were not designed to completely remove such compounds, these contaminants have been found in raw water and intended for human consumption. Several techniques can be employed for the removal of analytes at trace levels of environmental samples, however, the techniques of solid phase extraction (SME) by membranes and membrane filtration stand out. The concern to obtain low cost materials, easy to prepare and with high removal efficiency, made the polymer membranes produced by electro-spinning very promising materials. In view of these aspects, the present work aimed to prepare polymer membranes using the polymers polyamide 6 (PA6), poly(ϵ -caprolactone) (PCL), poly(lactic-acid) (PLA) and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) and to remove three hormones in aqueous samples: estrone, 17 β -estradiol and 17 α -ethynylestradiol using the SME technique and membrane filtration. The SME technique presented higher percentages of removal of the hormones E1, E2 and EE2 when PCL and PBAT membranes were used, whereas for the membrane filtration technique, the highest removal percentages of the compounds were obtained for the PBAT membrane. The HPLC-DAD method used to detect hormones had adequate correlation coefficients and limits of detection and quantification compatible with the concentrations used in this work. In this way, the use of the PBAT membrane to remove the hormones E1, E2 and EE2, through the filtration technique, is performed in a quick and simple way. The PBAT polymer membrane produced by the electro-spinning technique is as effective as a commercial cellulose membrane in the removal and recovery of the studied hormones, besides presenting lower production costs and allowing internal and external modifications.

Keywords: Polymeric membranes; emerging contaminants; endocrine disruptor compounds.

1. Introdução

Nos últimos anos, a investigação dos aspectos fundamentais e aplicados em química analítica ambiental tem se destacado no contexto científico. Neste sentido, o desenvolvimento de novas técnicas para avaliação e quantificação de espécies de importância ambiental vem despertando interesse. Diversos compostos químicos são produzidos mundialmente em larga escala para as mais variadas aplicações. Portanto, existe um aumento significativo na quantidade de resíduos gerados, sejam eles derivados das atividades industriais ou após consumo humano, que podem chegar até os corpos d'água^{1,2}. Dentre os principais compartimentos ambientais existentes, se destacam os corpos hídricos, que consistem em receptores de esgotos domésticos, industriais e agropecuários, sendo os principais veículos de dispersão ambiental de contaminantes químicos³.

O impacto da contaminação química tem focado interesse quase que exclusivamente nos produtos convencionais, especialmente nos agrotóxicos e intermediários industriais que mostram persistência no meio ambiente. Outros contaminantes até então negligenciados vêm chamando a atenção da comunidade científica, devido à recente preocupação, sendo denominados de contaminantes emergentes⁴. Um exemplo de classe dos contaminantes emergentes são os compostos desreguladores endócrinos (EDC, do inglês *endocrine disruptor compounds*), tais como os hormônios naturais e sintéticos. Esses compostos vêm demonstrando diversos efeitos nocivos às espécies aquáticas, como a feminização de peixes machos, desenvolvimento de alguns tipos de cânceres podendo causar a redução de espécies ou redução da população de anfíbios, mamíferos, aves, répteis, peixes marinhos e de água doce e também de invertebrados. Além disso, em humanos, a exposição aos hormônios durante o desenvolvimento (útero, infância e primeira infância em seres humanos) pode causar efeitos caso esta exposição ocorra durante o período de desenvolvimento de tecidos específicos, como por exemplo, do cérebro e do sistema reprodutivo, tornando-se perceptíveis apenas décadas mais tarde⁵. Sendo assim, estudos para remoção desses compostos do ambiente aquático tornam-se fundamentais.

Dentre as principais técnicas analíticas empregadas para a determinação de hormônios encontra-se a cromatografia em fase líquida de alta eficiência (HPLC, do

inglês *high performance liquid chromatography*). Esta técnica é amplamente empregada na determinação de analitos presentes em amostras ambientais devido a sua alta sensibilidade, fácil adaptação em determinações quantitativas e sua ampla aplicabilidade⁶. A técnica de HPLC vem sendo utilizada para determinação de desreguladores endócrinos em amostras aquosas^{7,8,9}, como pode ser observado no estudo de determinação simultânea de quatro diferentes desreguladores endócrinos em quatro tipos amostras (água destinada ao consumo, água de rio, efluentes e embalagens plásticas de alimentos), no qual foi utilizada a técnica de HPLC com detector de arranjo de diodos, permitindo a obtenção de limites de detecção na ordem de ng L⁻¹¹⁰.

Diversos métodos vêm sendo empregados para a remoção de EDC presentes nos sistemas aquáticos, tais como adsorção em carvão ativado¹¹, filtração em membrana¹², ozonização¹³, UV solar¹⁴, e processos avançados de oxidação^{15,16}. No entanto, alguns destes métodos apresentam alto custo e podem gerar produtos de transformação mais tóxicos do que os compostos de origem. A escolha adequada de uma técnica para preparação de amostras é um fator primordial para obtenção de resultados analíticos exatos e confiáveis. A extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) tem sido um dos procedimentos mais empregados para extração e/ou pré-concentração de analitos em níveis traço em amostras ambientais. Esta técnica emprega adsorventes empacotados em cartuchos, que são vendidos comercialmente com diversos tipos de adsorventes¹⁷. No entanto, a obtenção de adsorventes produzidos em laboratórios vem sendo cada vez mais empregados, tendo em vista a facilidade de modificação e o baixo custo^{18,19}. Quando a técnica de SPE emprega membranas como material adsorvente, passa a ser chamada de extração em fase sólida por membranas (SME, do inglês *solid membrane extraction*). A utilização de membranas permite a utilização de altos volumes de amostras em baixas concentrações com alta taxa de enriquecimento²⁰.

Outra técnica empregada para remoção de contaminantes emergentes de amostras aquosas é a filtração por membranas. Nesta técnica emprega-se membranas que podem apresentar diferentes tamanhos de poros, caracterizando os diversos tipos de filtração: microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa. Suas principais vantagens são: economia de energia pois, de maneira geral, não envolvem mudanças de fase, facilidade na operação, possibilidade de modificação das membranas tornando o processo seletivo, possibilidade de utilizar grandes volumes de amostra, além do seu baixo custo²¹.

Recentemente, membranas poliméricas têm sido consideradas materiais promissores por possuírem elevada área superficial²², permitindo sua aplicação em uma vasta gama de sistemas^{23,24}. De acordo com Thavasi e colaboradores²⁵, a elevada relação superfície/volume das nanofibras permite uma maior superfície de adsorção de contaminantes, aumentando o tempo de vida dos sistemas de filtração. Um exemplo da utilização de membranas poliméricas para extração de estrogênios de amostras aquosas, é um trabalho publicado por Xu *et al.*²⁰, no qual membranas de poliamida (PA) preparada pela técnica de eletrofiação obtiveram um melhor desempenho analítico em termos de recuperação, reprodutibilidade, limite de detecção quando comparadas à membrana microporosa de poliamida comercial. Diversas técnicas são utilizadas para produção das fibras poliméricas, porém a técnica de eletrofiação é vantajosa em relação às demais, pois produz fibras em escala nano e sub-micrométricas por meio da ação de um campo elétrico externo imposto sobre a solução polimérica. Considerando as vantajosas características e propriedades das membranas poliméricas, elas surgem como materiais adsorventes bastante promissores em SME e como membranas de filtração para a remoção de EDC.

A partir de informações coletadas na literatura, mais de 260 mil trabalhos científicos foram publicados desde o ano de 2003 referentes ao uso de membranas poliméricas para as mais diversas aplicações. Quando se busca publicações referentes a membranas poliméricas produzidas por eletrofiação, o número de trabalhos encontrados desde 2003 reduz para 9 mil. Aplicações das membranas poliméricas produzidas por eletrofiação na remoção de contaminantes foram identificadas em 750 publicações, no entanto apenas 93 foram relacionadas a remoção de desreguladores endócrinos, desde o ano de 2003 (**Anexo I**). Não foram encontrados trabalhos científicos que utilizem as membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT, através das técnicas de SME ou filtração por membrana, para remoção de hormônios em amostras aquosas. Dessa forma, observa-se o ineditismo, originalidade e importância do estudo realizado. Diante destes aspectos, este trabalho preparou membranas poliméricas por eletrofiação para serem aplicadas na remoção de EDC em amostras aquosas por meio de extração em fase sólida por membrana e filtração por membrana. Foram utilizados quatro polímeros para a confecção destes materiais: poliamida 6, poli (ϵ -caprolactona), poli (ácido láctico) e poli (butileno adipato-*co*-tereftalato). Para este trabalho, foram selecionados três hormônios, dois naturais e um sintético, que são frequentemente identificados no ambiente aquático, provocando sua contaminação.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

O objetivo principal deste trabalho consistiu em preparar membranas poliméricas por meio da técnica de eletrofição e aplicar na remoção de diferentes hormônios em amostras aquosas.

2.2. Objetivos Específicos

- Preparar membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT por meio da técnica de eletrofição;
- Caracterizar as membranas por meio de microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*), análise termogravimétrica (TGA, do inglês *Thermogravimetric Analysis*), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de *Fourier* (FT-IR, do inglês *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*), ângulo de contato e porosidade;
- Aplicar as membranas poliméricas preparadas na remoção dos hormônios empregando o processo de extração em fase sólida por membrana (SME);
- Aplicar as membranas poliméricas preparadas na remoção dos hormônios empregando a técnica de filtração por membrana;
- Otimizar o processo de remoção dos hormônios através da técnica mais eficiente;
- Avaliar a capacidade de remoção de hormônios empregando as membranas sintetizadas, utilizando a técnica HPLC;
- Aplicar a membrana polimérica mais eficiente na remoção de hormônios em amostra real;
- Comparar a membrana com melhor resultado e de melhor técnica com membrana comercial de celulose.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Contaminação da Água

Segundo a Organização Mundial de Saúde²⁶, saneamento é definido como “o controle de todos os fatores do meio físico do homem que exercem ou podem exercer efeitos nocivos sobre o bem estar físico, mental e social. É o conjunto de medidas adotadas em um local para melhorar a vida e a saúde dos habitantes, impedindo que fatores físicos de efeitos nocivos possam prejudicar as pessoas no seu bem-estar físico mental e social”. Essas medidas devem ser adotadas de forma a contemplar o abastecimento de água tratada, coleta e tratamento de esgoto, limpeza urbana, manejo de resíduos sólidos e drenagem das águas pluviais.

As principais formas de contaminação dos recursos hídricos são: os resíduos lançados pelas indústrias no esgoto, a disposição inadequada de medicamentos não utilizados ou vencidos, sejam eles de uso humano ou animal, os resíduos hospitalares e de instituições de pesquisa e também de excretas de humanos e de animais. Dados do relatório anual do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS)²⁷ elaborado pela Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental apontam que em 2015, na média do país, o índice de atendimento total com rede de esgotos foi de 52,3% e o atendimento urbano de 58%, porém apenas 42,7% dos esgotos gerados tiveram tratamento. Esses dados indicam que aproximadamente 100 milhões de brasileiros não possuem acesso ao serviço de coleta de esgoto e mais de 3,5 milhões de pessoas nas 100 maiores cidades do país, despejam esgoto irregularmente, mesmo tendo redes coletoras disponíveis. Além disso, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística²⁸ afirma que 2.569 cidades depositam o lixo hospitalar no mesmo aterro dos resíduos urbanos e 68,5% dos resíduos gerados pelos municípios são despejados em lixões e em alagados.

O trabalho publicado por Filho²⁹ afirma que a água distribuída em 16 capitais brasileiras, onde vivem aproximadamente 40 milhões de pessoas, apresenta contaminação por substâncias ainda não legisladas, mas com potencial risco a saúde: os contaminantes emergentes. A ineficiência dos sistemas de coleta de esgoto e da oferta de água potável somada à inexistência de uma legislação que controle as mais diversas substâncias presentes na água tem feito com que, a cada dia, mais contaminantes

emergentes sejam detectados nos sistemas aquáticos e até mesmo na água distribuída para consumo.

3.2. Contaminantes Emergentes

Diante da crescente industrialização desde o século XIX, diversos compostos e produtos químicos são produzidos anualmente, gerando dessa forma, uma grande quantidade de resíduos. Segundo as estimativas, são produzidas quantidades superiores a um milhão de toneladas por ano de diferentes substâncias químicas. De acordo com a CAS-ACS (do inglês, *Chemical Abstracts Service* uma divisão da *American Chemical Society*), estão catalogados aproximadamente 348 mil compostos químicos e biológicos utilizados em todo o mundo e 50 novos compostos são adicionados ao catálogo a cada semana. No entanto, apenas 800 deles apresentam recomendação de valores limite de concentração para ambientes de trabalho³⁰.

Os contaminantes emergentes vêm chamando a atenção da comunidade científica devido a sua constante presença no meio ambiente⁴. Podem ser definidos, em termos gerais, como “substância química, de ocorrência natural ou antrópica, ou qualquer microrganismo que não é normalmente controlado no ambiente, mas que tem potencial para entrar no ambiente e causar efeitos adversos ecológicos e/ou sobre a saúde humana, sendo estes efeitos conhecidos ou suspeitos”³¹. Por outro lado, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*), define os contaminantes emergentes como “contaminantes (bióticos e abióticos) que, atualmente, não são incluídos em programas de monitoramento e que podem se tornar candidatos para legislações futuras dependendo de pesquisas sobre (eco)toxicidade, efeitos sobre a saúde, percepção pelo público e dados sobre sua ocorrência em vários compartimentos ambientais”. Existem estudos que consideram os contaminantes emergentes como micropoluentes recentemente identificados que são encontrados nos meios hídricos em concentrações em níveis traço e apresentam características, como por exemplo, alta estabilidade química, baixa biodegradabilidade, elevada solubilidade em água e baixo coeficiente de adsorção/absorção³ que dificultam sua remoção através das metodologias tradicionais utilizadas nas estações de tratamento³².

De acordo com NORMAN (do inglês, *Network of Reference Laboratories, Research Centers and Related Organizations for Monitoring of Emerging Environmental Substances*)³³, até o ano de 2016, mais de mil substâncias já haviam sido listadas como contaminantes emergentes, tais como, pesticidas, compostos orgânicos (parafinas, perfluorados, pirenos, naftalenos, etc.), indicadores de atividade antrópica, subprodutos industriais, hormônios naturais, drogas ilícitas, produtos de uso veterinário, fármacos e produtos de higiene pessoal, dentre outros.

Atualmente, pouco se sabe sobre os riscos provocados por estes contaminantes aos seres humanos e são quase inexistentes as normas que regulamentam sua presença no meio ambiente. A legislação atual que define os padrões de potabilidade da água para consumo, a Portaria do Ministério da Saúde nº 2914 de 12 de dezembro de 2011, insere apenas alguns contaminantes em seu escopo. Assim, os demais contaminantes que a Portaria 2914 não contempla, tais como os hormônios, não são monitorados para água distribuída para o consumo humano. Alguns estudos indicam que muitos desses compostos são lipofílicos, persistentes e podem causar efeitos a nível bioquímico/molecular, alterando o sistema endócrino, podendo até mesmo causar deficiências no sistema imunológico, abortos espontâneos, distúrbios metabólicos, incidência de neoplasias malignas e indução de bactérias mais resistentes em humanos^{34,35,36} e feminização de peixes, acúmulo de medicamentos do leite, entre outros, mas seus efeitos a longo prazo ainda são desconhecidos.

Existem diferentes classes de contaminantes emergentes, os quais estão classificados de acordo com diversos parâmetros, como: toxicidade humana, ecotoxicidade, persistência no meio ambiente, entre outros³⁷. Abaixo estão listados alguns exemplos de contaminantes emergentes.

- Poluentes orgânicos persistentes (POPs): geralmente são compostos semivoláteis, halogenados, hidrofóbicos que se ligam com partículas na água, fazendo com que se depositem nos sedimentos por meio do processo de sedimentação. São compostos amplamente comercializados, utilizados em alimentos, aditivos, perfumes, drogas, cosméticos, gelatinas, plásticos, tintas, pesticidas e outros produtos industriais e produtos de consumo^{38,39}. Conforme Hung *et al.*⁴⁰, esses compostos são resistentes a degradação e distribuídos via solo, água e ar. Estudos indicam sua presença no tecido placentário humano⁴¹, leite materno⁴² e amostras de sangue, em diversas partes do mundo⁴³. Podem ser

citados como exemplos de POPs os pesticidas (DDT, Aldrin, Dieldrin, etc.), óleos isolantes em equipamentos elétricos como os bifenilos policlorados (PCBs), retardantes de chama como o hexabromobifenil (HBB), os compostos perfluorados, como o ácido sulfônico perfluorooctano (PFOs) e seu sal fluoreto de perfluorooctanosulfonil (POSF), utilizados em partes elétricas e eletrônicos, espuma de combate a incêndios, fotos e imagens, fluidos hidráulicos e têxteis, entre outros.

- Contaminantes inorgânicos: grupo dos metais como mercúrio, arsênio e chumbo. Podem ser acumulados em sedimentos e atuar como fontes de metais por ressuspensão. Diversos estudos indicam que altos níveis destes contaminantes podem causar destruição celular, tanto de animais quanto de vegetais⁴⁴.
- Produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal (PPCPs, do inglês *Pharmaceuticals and personal care products*): grupo que inclui drogas prescritas e não prescritas (antibióticos, anti-inflamatórios, antissépticos, analgésicos, etc.), medicamentos de uso veterinário, produtos químicos como fragrâncias, protetores solares, batons, tinturas de cabelos, entre outros. Estudos indicam que esses compostos podem possuir características tóxicas, carcinogênicas e afetar o desenvolvimento embrionário. A exposição prolongada e em níveis traço ainda é desconhecida, no entanto pesquisadores já demonstram preocupação com seus efeitos sobre crianças, fetos e imunodeficientes^{45,46}.

3.3. Compostos Desreguladores Endócrinos (EDC)

Os compostos desreguladores endócrinos podem ser definidos como “agentes exógenos, que mesmo em concentrações-traço, possuem a capacidade de interferir na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais, responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e comportamento dos organismos⁴⁷. Esses compostos podem alterar ou dificultar a síntese normal, secreção, transporte, ligação e metabolismo de hormônios naturais, causando alterações na reprodução e no desenvolvimento de humanos e animais⁴⁸.”

De acordo com WHO⁵, aproximadamente 800 compostos são conhecidos ou suspeitos de interferirem com receptores hormonais, síntese hormonal ou conversão hormonal. Porém, apenas uma pequena parte destes compostos foi investigada em testes capazes de identificar efeitos endócrinos em organismos intactos. Apesar disso, ao longo dos últimos 50 anos, tem-se observado uma alta incidência e tendência crescente de distúrbios endócrinos em humanos, tais como a baixa qualidade do sêmen reduzindo a capacidade de fertilidade, incidência de malformações genitais, prematuridade e baixo peso de bebês, transtornos neurocomportamentais associados à tireoide, aumento das taxas de câncer associados ao sistema endócrino como ovário, próstata e endométrio, além do aumento do desenvolvimento de diabetes tipo 2²⁷. A **Tabela 1** traz um resumo dos EDC mais utilizados e encontrados no meio ambiente.

Tabela 1. Compostos desreguladores endócrinos mais comumente utilizados pelo homem.

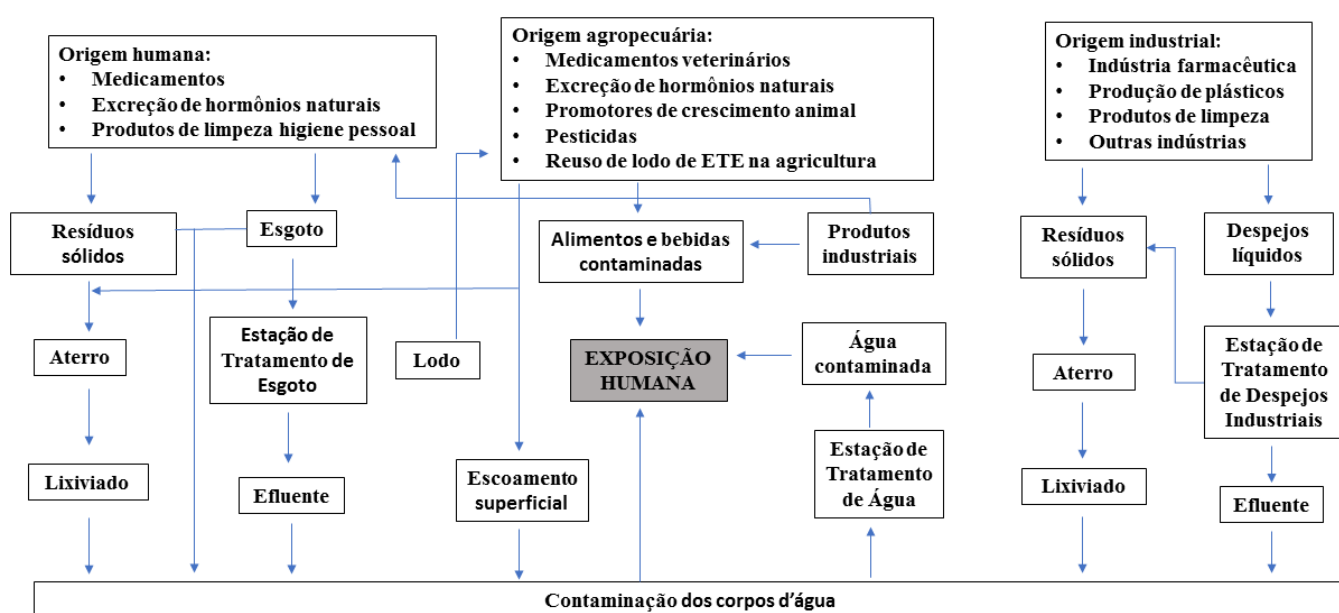
Grupo Desregulador	Exemplos
Fenóis	Surfactantes utilizados em detergentes e desinfetantes
Ftalatos	Plastificante na constituição de plásticos e outros polímeros
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)	Erupções vulcânicas, fogos, queima de combustíveis fósseis e incineração de resíduos
Hormônios sintéticos	Componentes da pílula anticoncepcional
Pesticidas e biocidas	Organoclorados e organofosforados usados na agricultura, tintas antivegetativas
Policloreto de bifenilas (PCB) e dioxinas	Subprodutos de co-incineração
Produtos naturais	Plantas

Fonte: Adaptado de Peres⁴⁹.

No ambiente aquático, já foram observados efeitos adversos à exposição aos EDC, tais como problemas reprodutivos e diminuição da população de jacarés na China, expostos ao pesticida DDT (diclorodifeniltricloroetano)⁵⁰, masculinização e feminização dos sapos leopardo no Centro-Oeste norte-americano, no qual, entre 10 a 92% das rãs leopardo apresentaram anormalidades nas gônadas, incluindo atrasos no desenvolvimento e hermafroditismo, causadas pela exposição à atrazina⁵¹ e também o

aparecimento de graves anomalias morfológicas e fisiológicas em peixes^{52,5}. Os EDC também foram identificados em aproximadamente 40 itens usuais da alimentação dos Estados Unidos, indicando que o risco advindo da ingestão destes alimentos amostrados pode ser de 4 a 21 mil vezes superiores ao da ingestão de água de abastecimento⁵⁴.

A contaminação dos recursos hídricos pode ocorrer tanto por resíduos domésticos, industriais ou hospitalares, descartados diretamente sem o devido tratamento ou ainda através dos efluentes de estações com baixa ou moderada eficiência de remoção⁵⁵. Além disso, os EDC podem atingir os corpos d'água via lixiviação de aterros e drenagens superficiais agrícolas, conforme pode ser observado na **Figura 1**.



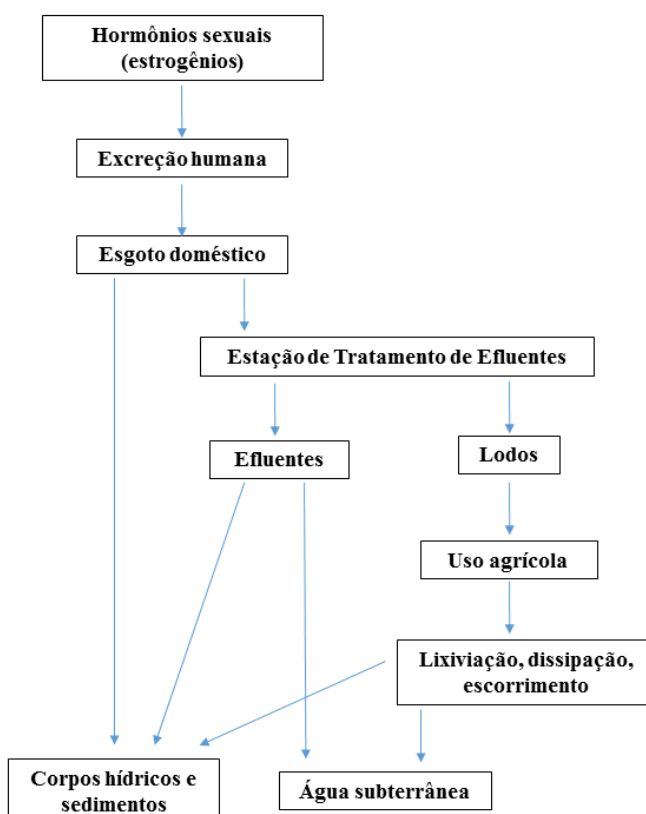
Fonte: Aquino *et al.*⁵⁶.

Figura 1. Possíveis rotas de contaminação dos corpos d'água pelos compostos desreguladores endócrinos.

Uma revisão bibliográfica realizada por Lima *et al.*⁵⁷ aponta diversos estudos que demonstram que a concentração dos compostos detectados na água tratada é da mesma ordem de grandeza que aquela observada nos afluentes das Estações de Tratamento de Água (ETA), indicando que os desreguladores endócrinos não são eficientemente removidos pelos processos clássicos de clarificação e desinfecção utilizados nas ETA. Isso pode ser verificado no trabalho de Raimundo⁵⁸ que avaliou a qualidade dos mananciais e da água tratada de Campinas em relação a diversos compostos farmacêuticos e EDC. A concentração de atrazina identificada na água de rio

é da mesma ordem de grandeza (687 ng L⁻¹) que a concentração do composto identificado na água tratada (42 ng L⁻¹). Além disso, o autor constatou que aproximadamente 40% da água tratada apresentou atividade estrogênica positiva (entre 0,01 e 1,33 ng E_{2equiv} L⁻¹) e toda água bruta apresentou estrogenicidade ou atividade estrogênica (resposta biológica via ativação dos receptores estrogênicos ou por outro mecanismo de ação) entre 0,06 e 6,54 ng E_{2equiv} L⁻¹.

Os estrogênios naturais estrona (E1), 17β-estradiol (E2), estriol (E3) e o sintético, 17α-etinilestradiol (EE2) merecem destaque, pois são compostos com alta estrogenicidade, mesmo em baixas concentrações, podendo causar graves efeitos em organismos. Além disso, estes EDC têm sido frequentemente identificados no meio ambiente⁵⁹, conforme observado na **Figura 2**. Pelo fato de serem excretados continuamente e diariamente e, levando-se em consideração a falta ou inexistência de sistema sanitário eficiente, são encontrados nas águas superficiais que, muitas vezes, são usadas para o abastecimento de água potável para a população^{60,61}.



Fonte: Filho *et al.*⁶².

Figura 2. Representação das formas de contaminação do meio ambiente por estrogênios.

A quantidade de hormônios excretada diariamente depende de diversos fatores como idade, estado de saúde, dieta ou gravidez. Uma estimativa dos valores excretados diariamente *per capita* de estrogênio por humanos é apresentada na **Tabela 2**. Os estrogênios naturais são excretados na urina por mulheres, animais fêmeas e, em menor quantidade, por homens na forma de conjugados polares inativos, predominantemente como glucuronides e sulfatos. Na fase gestacional, os níveis de estrogênios excretados podem aumentar em até quatro mil vezes, como é o caso do E3³⁴. Na menopausa, devido à diminuição da produção hormonal, há uma redução dos níveis de estrogênios excretados diariamente por mulheres e animais fêmeas, chegando a níveis semelhantes aos da excreção masculina. Além disso, estima-se que a excreção de hormônios sintéticos ingeridos seja de aproximadamente 80%, principalmente através da urina⁶³.

Os estrogênios E1, E2 e EE2 recebem uma atenção especial, pois, embora apresentem tempo de meia vida curto (aproximadamente 10 dias), são continuamente e diariamente excretados, podendo apresentar um risco à saúde humana e animal, tendo em vista sua estabilidade e persistência no meio ambiente⁶⁴. Por estas razões, estudos referentes à remoção destes contaminantes do ambiente aquático são fundamentais.

Tabela 2. Excreção diária (μg) *per capita* de estrogênio por humanos.

Estrogênio	Excreção ♂ ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Excreção ♀ ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Excreção ♀ menstruação ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Excreção ♀ gravidez ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Excreção ♀ menopausa ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)
17 β-estradiol	1,6	-	3,5	259	2,3
Estrona	3,9	-	8,0	600	4,0
Estriol	1,5	-	4,8	6000	1,0
17α- etinilestradiol	-	35	-	-	-

Fonte: Bila e Dezotti⁶⁰.

3.3.1. Estrona (E1)

A estrona, também conhecido como E1 (**Figura 3**) é um hormônio natural, metabólito do hormônio 17 β -estradiol (E2), lipofílico, produzido por humanos, mamíferos e alguns vertebrados, mas também é um ingrediente ativo de um estrogênio utilizado em reposições hormonais⁶⁵.

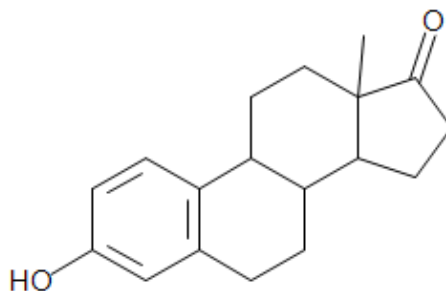


Figura 3. Estrutura química do hormônio estrona.

Pelo fato de ser relativamente estável no meio ambiente, tem sido frequentemente detectado nos ambientes aquáticos em concentrações que variam de 20 a 55 ng L⁻¹⁶⁶, já em águas superficiais há relatos da presença de E1 que variam de 0,7 a 143 ng L⁻¹^{67,68,69}. Além disso, o hormônio E1 apresenta $\log K_{ow} = 3,43$, indicando que possui caráter hidrofóbico, com afinidade pelas partículas do solo e sedimento⁷⁰. Porém estudos de Bowman *et al.*⁷¹ indicam que a sorção dos hormônios seja limitada, fazendo com que a maior parte permaneça no meio aquoso. O mesmo comportamento é verificado por Holthaus *et al.*⁷², que aponta que apenas 1% dos hormônios seja removido pelos sedimentos.

O hormônio E1 foi identificado como o estrogênio natural mais importante com relação aos efeitos provocados ao ambiente. Apesar de E1 apresentar um potencial de agir como interferente endócrino menor em relação ao E2, as concentrações típicas encontradas no efluente são maiores, provavelmente por ser um dos metabólitos naturais de E2^{73,74}. Na literatura, alguns métodos são utilizados para remoção e/ou degradação de E1 no meio aquoso, tais como: utilização de enzimas⁷⁵ com remoção de 90%, membranas de nanofiltração⁷⁶ com eficiência de remoção de 63%, adsorção em nanotubos de carbono funcionalizados com polímeros molecularmente impressos com altas remoções de 90%⁷⁷, fotodegradação por irradiação solar com remoções inferiores a 60%⁷⁸ e ozonização apresentando remoções superiores a 80% do hormônio⁷⁹.

3.3.2. 17 β -Estradiol (E2)

O hormônio 17 β -estradiol, conhecido como E2 (**Figura 4**), é o hormônio responsável pelo desenvolvimento das características secundárias sexuais femininas e reprodutivas. É um estrogênio natural e também é produzido em larga escala para aditivo em contraceptivos orais e reposição hormonal⁶⁵. Entre os estrogênios, E2 é o mais hidrofóbico, com $\log K_{ow} = 3,94$ ⁸⁰.

Este hormônio está diretamente relacionado ao ciclo menstrual, que pode ser dividido em 3 fases: folicular, ovulatória e luteínica. Na fase folicular, na qual se desenvolvem os folículos dos ovários, os baixos níveis de E2 (20-120 ng L⁻¹) e progesterona fazem com que o revestimento uterino (endométrio) degenera e se desprenda na menstruação. Inicia-se então a fase ovulatória com a liberação do óvulo e aumento dos níveis do E2 (120-400 ng L⁻¹) até que atinja seu nível máximo. Por fim, a fase luteínica se inicia após a ovulação e tem duração de aproximadamente 14 dias. Caso o óvulo não seja fecundado, o corpo lúteo se degenera, o corpo para de produzir progesterona e os níveis de E2 diminuem (60-260 ng L⁻¹), iniciando um novo ciclo menstrual⁸¹.

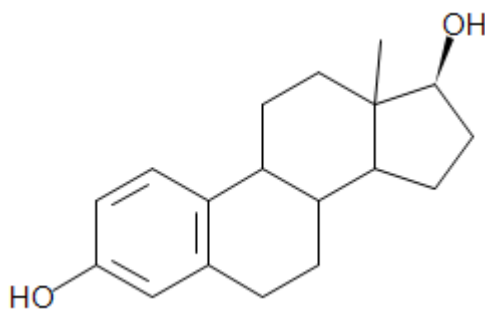


Figura 4. Estrutura química do hormônio 17 β -estradiol.

O E2 tem sido identificado em diversos sistemas ao redor do mundo, tais como rios^{82,83}, córregos⁸⁴, ecossistemas aquáticos costeiros⁸⁵, sedimentos⁸⁶, esgoto *in natura* e esgoto tratado⁸⁷ e em água destinada ao consumo⁸⁸. Diversos métodos estão sendo empregados para remoção ou degradação do E2 no meio ambiente, tais como adsorção utilizando carbono poroso, com remoção de 90 % do hormônio⁸⁹, utilização de membranas de nanofiltração⁷⁶, fotodegradação com tratamento UV apresentando

degradação superior a 80%, mas gerando 20 subprodutos⁹⁰ e ozonização removendo quase 100% do E2 de efluente secundário sintético¹³.

3.3.3. 17 α -Etinilestradiol (EE2)

Os esteroides sintéticos são obtidos, em geral, por reações de alquilação (principalmente grupos metila e etila) ou esterificação dos hormônios naturais, prevenindo-os da metabolização rápida quando no organismo e garantindo assim o efeito desejado. Um dos hormônios sintéticos mais estudados e utilizados é o 17 α -etinilestradiol, conhecido como EE2⁹¹. Sua estrutura é similar a dos estrogênios naturais com a substituição do etinil no carbono 17, conforme pode ser observado na **Figura 5**.

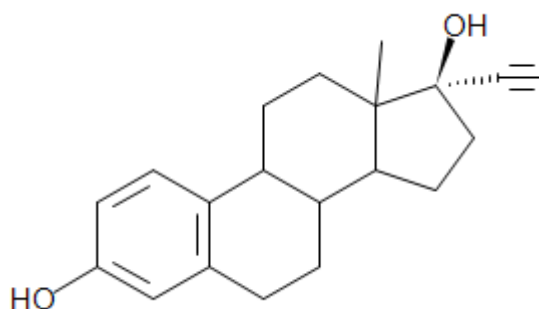


Figura 5. Estrutura química do hormônio 17 α -etinilestradiol.

O EE2 é encontrado nas pílulas anticoncepcionais, com dosagem típica diária administrada por mulheres de 20 a 50 μg , em um período de 21 dias. Após a administração, aproximadamente 25% do EE2 conjugado é excretado⁹¹. É um pouco mais hidrofóbico que os demais estrogênios, com $\log K_{ow} = 3,67^{80}$, apresentando moderado potencial bioacumulativo no ambiente ($\log K_{ow} > 3$). De acordo com a Convenção de Estocolmo, compostos com $\log K_{ow}$ iguais ou superiores a 5,00 possuem elevado potencial bioacumulativo⁹².

O desregulador endócrino EE2 vem sendo identificado em diversos sistemas, tais como esgoto tratado⁹³, esgoto *in natura*⁹⁴, estações de tratamento de água⁹⁵, sedimentos⁹⁶, rios⁹⁷ e até mesmo em água destinada ao consumo⁹⁸. Alguns dos métodos de remoção ou degradação identificados na literatura foram: utilização de membranas de nanofiltração que apresentaram remoção de 90% do composto⁷⁶, fotodegradação com

degradação de 80%⁹⁹, utilização de biorreatores de membrana com 87% de remoção do hormônio¹⁰⁰, utilização de resinas de troca iônica magnéticas apresentando remoções de 80%¹⁰¹ e utilização de bactérias com remoção de EE2 máxima de 61%¹⁰².

3.4. Avaliação Toxicológica e Risco Ambiental

De acordo com a Diretiva 93/67 da comissão sobre avaliação de risco para novas substâncias notificadas, Diretiva 98/8 do Parlamento Europeu e do Conselho relativa à colocação de produtos biocidas no mercado e com o Regulamento nº 1488/94 da comissão sobre avaliação de risco para substâncias existentes, é exigida uma avaliação do risco ambiental em novas substâncias notificadas, em substâncias prioritárias existentes, em substâncias ativas e substâncias preocupantes em produtos biocidas¹⁰³. Devem ser verificados na seguinte ordem:

- Identificação de perigo;
- Avaliação de dose (concentração) – resposta (efeito);
- Avaliação da exposição;
- Caracterização de risco.

Recentemente, têm-se encontrado estudos ambientais que utilizam os SARs (do inglês, *Structure-Activity Relationships*) e os (Q)SARs (do inglês, *Quantitative Structure-Activity Relationships*), definidos coletivamente por (Q)SARs, que são ferramentas que irão “prever” as propriedades físico-químicas e toxicológicas de um composto novo ou ainda não estudado através da similaridade química estrutural com substâncias químicas de toxicidade previamente conhecida¹⁰⁴. Um estudo de Van der Jagt¹⁰⁵ sugere a utilização deste tipo de ferramenta como uma abordagem alternativa aos testes com animais. É demonstrado que, se as autoridades reguladoras aceitassem os métodos alternativos como avaliação do risco toxicológico e ambiental, cerca 1,9 milhões de animais deixariam de ser utilizados em testes.

O ECOSAR (do inglês, *Ecological Structure-Activity Relationship*) é um *software* livre do tipo SARs bastante simples, que foi desenvolvido e é amplamente utilizado pela USEPA. Este programa tem como finalidade prever a toxicidade aquática em peixes, *daphnias* e algas verdes¹⁰⁶. Foi desenvolvido no início da década de 1990 e

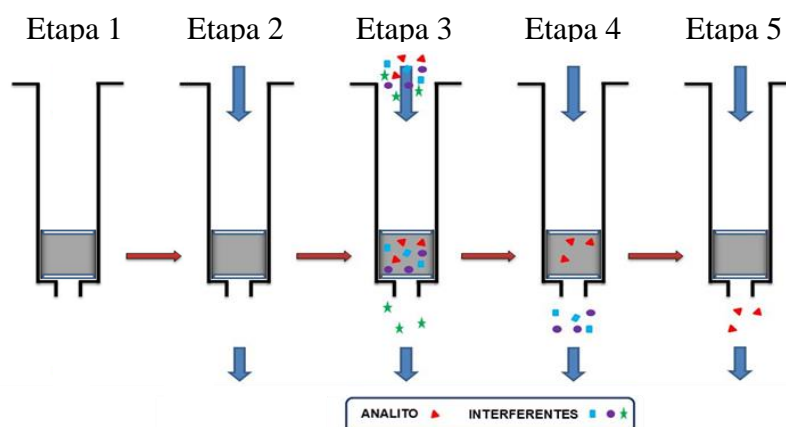
sua versão mais recente é programada para identificar 111 classes químicas e acessar 704 (Q)SARs para inúmeros pontos finais e organismos. Os resultados baseiam-se em uma relação matemática linear entre os valores de $\log K_{ow}$ previstos e o log correspondente dos valores de toxicidade medidos (mmol L^{-1}). Depois de coletar as informações do conjunto de teste para cada produto químico, as técnicas de regressão são aplicadas aos conjuntos de dados específicos da classe para derivar relações matemáticas entre $\log K_{ow}$ e toxicidade. Os resultados obtidos são descritos em termos de concentração de efeito tóxico, ou seja, LC50, que representa a concentração de uma droga capaz de provocar a mortalidade de 50% da população e EC50 que corresponde à dose necessária para provocar alguma resposta em 50% da população¹⁰⁷.

A avaliação de toxicidade dos contaminantes emergentes, como os desreguladores endócrinos, vem sendo estudada através de diferentes (Q)SARs. Como pode ser observado no trabalho de Sanderson *et al.*¹⁰⁸, o qual avaliou 4 classes de preocupação ambiental (antibióticos, antineoplásicos, cardiovasculares e hormônios sexuais), considerando a classe dos hormônios sexuais como a classe mais tóxica das 4 avaliadas. Das 92 amostras de hormônios sexuais investigados, 2/3 foi considerado muito tóxico ($\text{EC50} < 1 \text{ mg L}^{-1}$) para algas e *daphnias* e 37% dos compostos foi considerado extremamente tóxico ($\text{EC50} < 0,1 \text{ mg L}^{-1}$) para algas e *daphnias*. Mais da metade foi prevista como extremamente tóxica para peixes, 80% foram previstos como muito tóxicos e apenas 1% foi considerado não tóxico. Além disso, das 4 classes, os hormônios sexuais apresentaram a maior tendência a bioacumulação. Outro estudo realizado por Judson e colaboradores¹⁰⁹ identificou, através de modelos QSAR que, das 32.464 amostras de produtos químicos avaliadas, aproximadamente 4 mil apresentavam atividade desreguladora endócrina e 38 geravam metabólitos mais tóxicos que os compostos originais.

Este tipo de ferramenta também é utilizado para avaliar a relação/interação do desregulador endócrino com o método escolhido de remoção ou degradação do composto, como pode ser observado no trabalho publicado por Yangali-Quintanilla *et al.*¹¹⁰ que utilizou um modelo (Q)SAR para prever a remoção de diversos contaminantes emergentes, dentre eles os desreguladores endócrinos, utilizando membranas de nanofiltração. Foram identificadas as variáveis que influenciariam diretamente na remoção dos compostos em estudo.

3.5. Extração em Fase Sólida (SPE)

Tendo em vista a complexidade das amostras ambientais e a baixa concentração dos contaminantes nas águas residuais, a realização de uma etapa de preparação de amostra antes da determinação instrumental, é fundamental. A extração em fase sólida (SPE), representada esquematicamente pela **Figura 6**, é uma das técnicas mais utilizadas para extração e/ou concentração de analitos, permitindo sua detecção por métodos extremamente sensíveis como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*), cromatografia em fase gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) e eletroforese capilar (CE, do inglês *Capillary Electrophoresis*). Além disso, possui um vasto campo de aplicação como análises de fármacos, alimentos e meio ambiente, em diferentes áreas¹¹¹.



Fonte: baseado em <https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4538.pdf>.

Figura 6. Desenho esquemático do funcionamento da técnica de extração em fase sólida (SPE).

O processo de SPE inicia-se pela seleção do tamanho e adsorvente adequado do cartucho a ser empregado (Etapa 1). O volume de amostra determinará o tamanho do cartucho e o tipo de adsorvente deverá ser escolhido de acordo com as características do analito para que exista a interação da fase móvel e fase estacionária, aumentando a eficiência da extração. Em seguida, realiza-se o condicionamento do cartucho (Etapa 2) para ativação do adsorvente e eliminação de possíveis impurezas do cartucho. O solvente utilizado nesta etapa dependerá do material a ser ativado¹¹². A Etapa 3 consiste na adição da amostra no cartucho e a Etapa 4, na lavagem do adsorvato com o mesmo solvente de preparação da amostra ou outro solvente que não remova os analitos. Dessa

forma, serão retirados os interferentes da amostra. A última etapa (Etapa 5) é a eluição dos compostos de interesse que ficarão retidos no adsorvato.

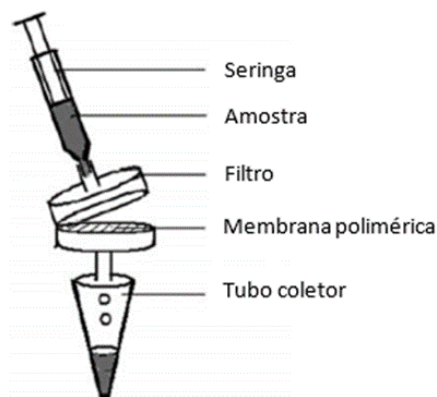
Esta técnica apresenta características vantajosas em comparação à extração líquido-líquido, tais como: diversos tipos de sistemas disponíveis (manual, sistemas de cartuchos múltiplos, discos e placas multi-poço), possibilidade de automação, alta concentração do extrato, seletividade, altas porcentagens de recuperação do analito, volumes reduzidos de resíduos tóxicos, capacidade de aumentar seletivamente a concentração do analito e disponibilidade comercial de adsorventes, permitindo sua aplicação em uma vasta gama de compostos de soluções aquosas ou matrizes orgânicas¹¹³. Apesar desses aspectos, a técnica apresenta desvantagens como o elevado tempo de análise e altos custos dos cartuchos e dos dispositivos comerciais.

Diversos estudos são encontrados na literatura utilizando a extração em fase sólida como uma técnica de preparação de amostras utilizando EDC empregando variados tipos de materiais adsorventes empacotados. Um estudo de Sun *et al.*¹¹⁵ utilizou cartuchos de C18 para pré-concentração de diversos contaminantes emergentes, dentre eles cinco estrogênios, permitindo identificação em 50% das amostras de água do rio Huangpu na China. Por outro lado, no trabalho de Tizaoui, Fredj e Monser¹¹⁶ foram utilizados cartuchos do polímero PA6 como material adsorvente para a técnica de SPE, que promoveram a recuperação de 100% dos EDC 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol e do produto de oxidação 2-hydroxiestradiol.

Diferentes materiais adsorventes são encontrados comercialmente para a técnica de SPE, tais como os adsorventes derivados de sílica C18 e C8, poliestireno-polivinilpiridina (PS-PVP) e carvão ativado¹¹⁷, porém, atualmente, tem-se dado atenção para os adsorventes produzidos em laboratório tendo em vista sua capacidade de modificação a fim de aumentar sua eficiência de remoção. Diversos são os materiais alternativos estudados como grafite, sílica, nanotubos de carbono¹¹⁸ e mais recentemente as membranas poliméricas²⁰.

Em geral, quando se utilizam membranas para a realização da técnica de extração em fase sólida, a técnica passa a ser chamada de extração em fase sólida por membrana (SME – do inglês, *Solid Membrane Extraction*). As vantagens desta técnica com relação à SPE incluem a alta área de sessão transversal e menor queda de pressão, apresentando um maior fluxo para processamento da amostra. A utilização de membranas na técnica de SME geralmente é empregada quando se utilizam grandes

volumes de amostra e baixas concentrações, permitindo a obtenção de melhor coeficiente de enriquecimento²¹. Um desenho representativo da técnica de SME é demonstrado através da **Figura 7**.



Fonte: Xu *et al.*²¹.

Figura 7. Dispositivo de extração em fase sólida por membrana (SME).

Na literatura são encontrados trabalhos que utilizam membranas poliméricas como membranas filtrantes para o processo de SME, como pode ser observado em um estudo de Chigome *et al.*. Neste estudo foram utilizadas membranas de poliestireno produzidas por eletrofiliação para remoção de 4 esteroides do plasma e da água através da técnica de SME, com determinação por HPLC-DAD. A eficiência de remoção dos compostos variou entre 51,14 a 80,13% em plasma e 66,07 a 93,43% em água¹¹⁹. No estudo de Xu e colaboradores, foram obtidas remoções na faixa de 85,3 a 95,9% quando se utilizou uma membrana de PA6 através do processo de SME para remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 de amostras aquosas ambientais, utilizando a técnica de HPLC-UV²¹.

3.6. Filtração por Membrana

O processo de filtração por membranas envolve a utilização de membranas com diferentes tamanhos de poros, dividindo-se nos seguintes tipos: microfiltração (MF) de 0,1 a 1 μm , ultrafiltração (UF) de 0,01 a 0,1 μm e nanofiltração (NF) de 0,001 a 0,01 μm . Além disso, podem ser utilizadas membranas seletivas semipermeáveis, tal como a osmose reversa (OR), com tamanho de poro inferior a 0,001 μm ¹²⁰. Atualmente a

utilização de membranas filtrantes em sistemas inovadores de tratamento de água e esgoto vem crescendo devido ao seu alto desempenho e economia quando comparadas ao sistema tradicional de tratamento¹²¹. Já existem estações de tratamento que empregam alguns tipos de filtração, principalmente em áreas industriais, para purificação da água tanto para abastecimento de água potável ou para outros usos industriais e humanos¹²².

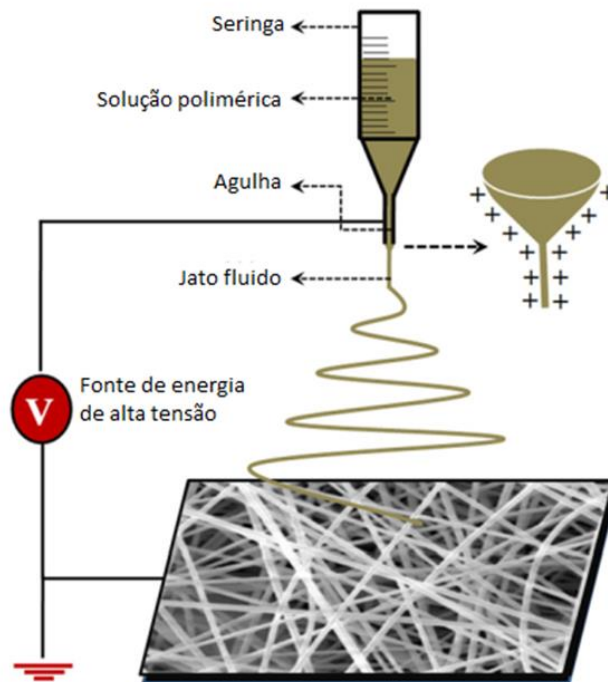
Em geral, o processo de transferência de massa é regulado pelas seguintes interações membrana-soluto: exclusão estérica (peneiramento), interação entre as cargas e afinidade membrana-soluto (ou seja, interações hidrofóbicas e hidrofílicas, ligações de hidrogênio, efeitos dielétricos, etc.). No entanto, a definição de qual processo rege o processo de filtração ainda é um processo difícil, pois as interações da membrana com o soluto são bastante complexas, afinal os contaminantes emergentes apresentam propriedades variadas de massa molar, polaridade/hidrofobicidade/geometria molecular, além de outros fatores que podem influenciar nessas interações tais como pH e composição do composto^{123,124,125}.

Um estudo de Gallenkemper e colaboradores investigou a remoção dos desreguladores endócrinos nonilfenol e bisfenol A empregando onze diferentes membranas de nanofiltração. Alguma das membranas permitiu remoções entre 70 a 100% dos compostos de efluentes de estações de tratamento¹²⁶. Weber *et al.* também investigou a remoção de diferentes desreguladores endócrinos (17 β -estradiol, estrona, 17 α -etinilestradiol, mestranol, dietilstilbestrol, progesterona e β -sitosterina) de soluções estoque 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, empregando membranas de poliamida e polietersulfona. A membrana de poliamida permitiu remoções acima de 99% para todos os analitos, enquanto a membrana de polietersulfona obteve eficiências de remoção entre 40 a 90%. Diversos fatores foram atribuídos a essas diferenças obtidas na eficiência de remoção, tais como as cargas na superfície, tamanhos dos poros e pressão¹²⁷.

3.7. Membranas Poliméricas

Membranas poliméricas são membranas sólidas obtidas por meio de soluções de polímeros que podem ser formadas utilizando-se diferentes técnicas, como fiação a seco (*dry spinning*), fiação úmida (*wet spinning*) e fiação via gel (*gel spinning*)^{128,129}. As membranas produzidas por essas técnicas possuem fibras com diâmetros micrométricos,

no entanto, para a produção de fibras com diâmetros submicrométricos a nanométricos, utiliza-se a técnica de eletrofiação (*electrospinning*). Essa técnica, conforme apresentada na **Figura 8**, é um processo eletrodinâmico com taxas que induzem o movimento do fluido dentro de um campo elétrico¹³⁰.



Fonte: Raghavan *et al.*¹³¹.

Figura 8. Esquema representativo da técnica de eletrofiação.

Para o processo de eletrofiação, uma seringa é preenchida com uma solução polimérica, sendo a solução mantida na forma de gota na ponta da agulha devida sua tensão superficial. Após a aplicação de um campo elétrico, a repulsão de cargas gera uma força oposta à tensão superficial. À medida que a intensidade do campo elétrico é aumentada, a superfície hemisférica da solução na ponta da seringa alonga-se para formar um cone conhecido como Cone de *Taylor*. Quando o campo elétrico atinge um valor crítico no qual a força elétrica repulsiva supera a força da tensão superficial, um jato de solução polimérica carregado é ejetado da ponta do Cone de *Taylor* em direção à base coletora de carga oposta. À medida que o jato se aproxima da base coletora, o solvente evapora, formando uma fibra do polímero sobre o coletor¹³². Os principais parâmetros que afetam o processo de eletrofiação são: condições ambientais (temperatura e umidade), propriedades intrínsecas das soluções (viscosidade, concentração, condutividade elétrica e tensão superficial) e parâmetros de

processamento (tensão aplicada, distância agulha-coletor, diâmetro da agulha e fluxo de injeção da solução).

Os parâmetros de solução influenciam nas morfologias e na geometria das membranas. Eles estão relacionados com as propriedades físico-químicas dos solventes, dos polímeros e com as interações do tipo polímero-solvente. A escolha de um solvente adequado para cada tipo de polímero é importante para que sua completa solubilização. Polímeros com alta massa molar são menos solúveis, produzindo soluções mais viscosas¹³³. A viscosidade da solução influencia o grau de emaranhamentos das cadeias poliméricas do polímero em solução. Valores mínimos de emaranhamento (viscosidade mínima) são fundamentais para a formação de fibras uniformes e sem *beads* (nódulos ao longo da fibra)¹³⁴.

Nos parâmetros de processamento, a tensão aplicada entre a agulha contendo a solução e o coletor é fundamental para otimização da técnica. Assim que a força eletrostática supera a tensão superficial da solução, a alta tensão irá induzir cargas na solução junto com o campo elétrico externo¹³⁵. Evadas provocam alongação da solução devido a maiores forças eletrostáticas no jato, como também um forte campo elétrico, reduzindo o diâmetro das fibras e uma rápida evaporação do solvente. O controle da vazão da solução pode determinar a quantidade de solução disponível para a eletrofição. Quando ocorre um aumento do fluxo, aumenta-se o diâmetro das fibras ou o tamanho dos *beads*, devido ao aumento do fluxo da solução que sai da ponta da agulha¹³⁶. Vazão elevada necessita de um tempo maior para vaporização do solvente para não originar fibras com defeitos¹²⁸. Para que o solvente tenha tempo suficiente para evaporar, o ideal é que o fluxo seja contínuo e o fluxo seja baixo¹³⁶. É necessária uma distância mínima entre a agulha e a base coletora para que haja tempo suficiente para evaporar o solvente antes de atingir a base¹³⁷, e um valor máximo para que o campo elétrico estabilize a formação das membranas¹³⁴. Em distâncias muito próximas ou muito afastadas, pode ser observada a presença de *beads* e gotas ao invés de fibras¹³⁸.

Os parâmetros ambientais, como umidade, temperatura e composição do ar também podem influenciar na formação e morfologia das nanofibras¹³⁹. Por isso é interessante realizar o processo de eletrofição em um ambiente em condições controladas. O nível de umidade e gases atmosféricos pode afetar a taxa de evaporação de solventes à base de água. Em um ambiente rico em água, é observada a formação de uma pele com contornos bem definidos ao redor do jato eletrofiado, enquanto que em uma situação oposta, uma fina estrutura permite uma evaporação rápida do solvente¹³⁰.

As fibras poliméricas podem ser fabricadas empregando-se diferentes polímeros e permitem diversas modificações a fim de controlar o diâmetro da fibra, sua morfologia, as características da superfície, tornando-as funcionais de acordo com a aplicação de interesse¹⁴⁰. Devido a essas características, elas têm uma ampla gama de aplicações em diferentes áreas como curativos de feridas, enxertos vasculares, imobilização enzimática, detecção eletroquímica, materiais compósitos, engenharia de vasos sanguíneos, engenharia de tecidos¹⁴¹, além de resultados muito satisfatórios como membranas de filtração de água¹⁴².

Estudos recentes têm utilizado as fibras poliméricas para a remoção de contaminantes dos corpos aquáticos, como por exemplo, o estudo de Vanraes *et al.*¹⁴³ no qual foi utilizada a nanofibra de poliamida 6, obtida por meio da técnica de eletrospinning, para extração de atrazina em baixas concentrações. Os resultados obtidos na remoção de atrazina foram mais eficazes ($C_{\text{atrazina}} = 4,6 \mu\text{g L}^{-1}$) quando comparados a testes realizados sem a utilização da membrana de poliamida 6 ($C_{\text{atrazina}} = 11,7 \mu\text{g L}^{-1}$) e a testes simulados utilizando as técnicas de ozonização ($C_{\text{atrazina}} = 29 \mu\text{g L}^{-1}$) e oxidação com peróxido ($C_{\text{atrazina}} = 26,9 \mu\text{g L}^{-1}$). Outro exemplo é o trabalho de Peter *et al.*¹⁴⁴ o qual utilizou um compósito de nanofibras de carbono/nanotubos de carbono para a remoção, considerada pelos autores como alta (> 90%) e moderada, de diversos compostos farmacêuticos.

As fibras poliméricas podem ser obtidas a partir de misturas de diferentes polímeros, os chamados compósitos ou blends. Os compósitos combinam propriedades distintas dos diferentes polímeros empregados, com o intuito de desenvolver características específicas para determinada aplicação¹⁴⁵. Em alguns casos, essa mistura de polímeros é mais eficaz para obter-se o resultado desejado, como pode ser observado no estudo desenvolvido por Prabhakaran e colaboradores¹⁴⁶, no qual foi utilizado um compósito policaprolactona/quitosana para a regeneração do nervo periférico. A adição de quitosana no polímero policaprolactona (PCL) aumentou e melhorou a hidrofobicidade do material e suas propriedades mecânicas, proporcionando resultados mais satisfatórios.

Os polímeros selecionados para a confecção das membranas poliméricas deste trabalho foram a poliamida 6, a poli(ϵ -caprolactona), poli(ácido láctico) e poli(butilenoadipato-*co*-tereftalato), que são amplamente comercializados, bastante estudados e possuem diferentes características de hidrofobicidade. No entanto, estudos

referentes às suas aplicações como membranas para a técnica de SME e como membranas de filtração são escassos ou inexistentes.

3.7.1. Poliamida 6 (PA6)

A poliamida 6 (PA6) (**Figura 9**) é um importante termoplástico semicristalino, amplamente comercializado devido ao seu desempenho (popularmente conhecido como *Nylon 6*), versatilidade e processabilidade. Possui propriedades como alta resistência mecânica, baixo desgaste a abrasão e boa resistência química. Produzido a partir da polimerização por abertura de anel da ϵ -caprolactama^{147,148}.

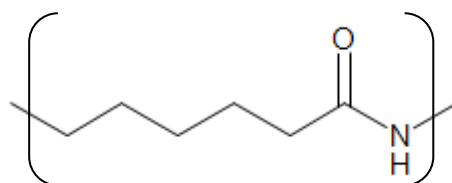


Figura 9. Estrutura química da poliamida 6.

O polímero PA6 possui caráter hidrofílico¹⁴⁹ devido à presença de ligações de hidrogênio e maior caráter hidrofóbico em função de sua longa cadeia carbônica. Diversos estudos são encontrados na literatura utilizando este polímero para a remoção de contaminantes em amostras ambientais. A maior parte dos trabalhos encontrados utilizando-se PA6 é referente a seu uso como membrana para processos de microfiltração^{150,151}.

Um trabalho publicado por Song *et al.*¹⁵² mostrou que nanofibras de PA6/quitosana modificadas com Fe^{+3} foram utilizadas como material adsorvente para a remoção de antibióticos de amostras aquosas. O percentual de remoção obtido foi acima de 90%. Este mesmo percentual de remoção foi obtido em um estudo de Maryšková *et al.*¹⁵³, no qual as nanofibras de PA6/quitosana foram modificadas com a enzima lacase para a remoção de desreguladores endócrinos. Ainda utilizando esta mesma nanofibra de poliamida com quitosana, em um estudo de Dotto *et al.*¹⁵⁴ obtiveram-se capacidades de remoção de corantes aniônicos de aproximadamente 500 mg g^{-1} .

3.7.2. Poli(ϵ -caprolactona) (PCL)

O polímero poli(ϵ -caprolactona) (PCL), **Figura 10**, é um poliéster sintético biodegradável que possui cadeia linear, de fácil preparo, com caráter hidrofóbico¹⁵⁵, obtido através da polimerização de cadeias resultantes da abertura de anel da ϵ -caprolactona, um monômero de baixo custo¹⁵⁶. É aprovado pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA, do inglês *Food and Drug Administration*) para uso na área médica através da reconstrução de vários tecidos como ossos, pele, nervo e retina¹⁵⁷, suturas¹⁵⁸, curativos¹⁵⁹, dispositivos contraceptivos¹⁶⁰, dispositivos de fixação para fraturas¹⁶¹, na odontologia para preenchimento de tratamentos de canal¹⁶², pelo fato de possuir uma lenta taxa de degradação (entre 2 a 4 anos)¹⁶³, permitindo seu uso em implantes de longa duração. Possui várias vantagens, incluindo o fato de ser biocompatível, reabsorvível pelo organismo, de baixo custo, elástico, possuir facilidade de processamento e baixa toxicidade¹⁶⁴.

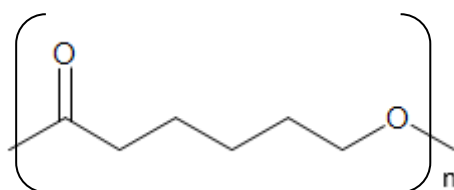


Figura 10. Estrutura química da poli(ϵ -caprolactona).

Poucos são os trabalhos encontrados na literatura referentes à aplicação do PCL puro ou em blendas como material para remoção de contaminantes em amostras ambientais. Em um estudo realizado por Li *et al.*¹⁶⁵, grânulos de PCL foram utilizados como meio de biofiltração e fonte de carbono para desnitrificação de efluentes secundários em estações de tratamento na China. Um bionanocompósito de ciclodextrina-policaprolactona-dióxido de titânio desenvolvido pelo método sol-gel foi utilizado como adsorvente para remoção de 98% de chumbo de águas residuais¹⁶⁶. Outras pesquisas foram desenvolvidas utilizando PCL para remoção de corantes têxteis¹⁶⁷ e biorremediação de naftaleno em água¹⁶⁸, além da remoção de nitrato em zona úmida construída¹⁶⁹ e absorção seletiva de óleo em água poluída¹⁷⁰.

3.7.3. Poli(ácido láctico) (PLA)

O poli(ácido láctico), **Figura 11**, é considerado o polímero do século XXI. Um dos polímeros produzidos em escala industrial, sendo o único que é simultaneamente biodegradável, biocompatível e derivado de produtos biológicos¹⁷¹. Além disso, é um poliéster alifático, de baixa toxicidade, altamente hidrolisável no corpo humano e foi considerado como um material seguro pela FDA^{172,173}. O ácido láctico é um produto da fermentação do amido de plantas como milho, cana-de-açúcar, batata e beterraba. O polímero é então sintetizado por policondensação direta do ácido láctico ou polimerização por abertura de anel láctico usando um catalisador adequado¹⁷⁴.

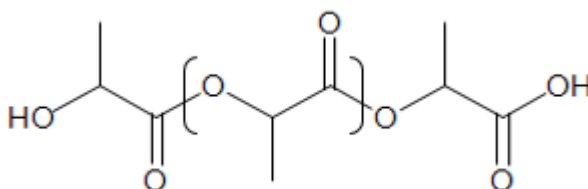


Figura 11. Estrutura química do poli(ácido láctico).

Possui sua maior aplicação na área médica^{175,176} através de suturas, implantes¹⁷⁷, liberação controlada de drogas¹⁷⁸, engenharia de tecidos¹⁷⁹, entre outras. Também possui ampla aplicação industrial em diferentes segmentos, tais como alimentos, produtos farmacêuticos, têxtil, couro, indústria química e embalagens. Além disso, o polímero PLA vem sendo bastante empregado na confecção de embalagens plásticas, como alternativa aos materiais poliméricos que são derivados do petróleo, recurso não renovável, contribuindo com a redução da contaminação ambiental¹⁸⁰.

Poucos exemplos são encontrados na literatura para a utilização de PLA na remoção de contaminantes em amostras ambientais. Um trabalho encontrado é referente à remoção de 60% de rodamina B, um corante básico amplamente utilizado industrialmente com propriedades carcinogênicas, em soluções aquosas utilizando um compósito PLA-carbono ativado¹⁸¹. Uma pesquisa de Sahithya, Das e Das¹⁸² utilizou PLA modificado com o compósito montmorilonita-CuO para a remoção adsortiva de 83,9% de monocrotofos, um inseticida organofosforado (conhecido por Azodrin) que possui características extremamente tóxicas a pássaros e é descrito como citotóxico e

genotóxico, utilizado para controle de insetos em plantios de algodão, amendoim, cana de açúcar, tabaco e outros.

3.7.4. Poli(butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT)

O poli(butileno adipato-co-tereftalato), **Figura 12**, é um copolímero alifático-aromático formado pelos monômeros 1,4-butanodiol, ácido tereftálico e ácido adípico¹⁸³, que mantém as propriedades benéficas dos poliésteres aromáticos, mas é completamente biodegradável em função de seus componentes alifáticos¹⁸⁴. Possui alta dureza¹⁸⁵, alta elasticidade, resistência ao desgaste e à fratura, resistência à água e óleo e é atóxico. O polímero sozinho não possui grande resistência mecânica quando comparado aos demais polímeros, por isso não tem grande aplicabilidade na área médica. No entanto, pelo fato de possuir boa adesão a outros polímeros, vem sendo aplicado na forma de compósitos para melhora de suas propriedades^{186,187}.

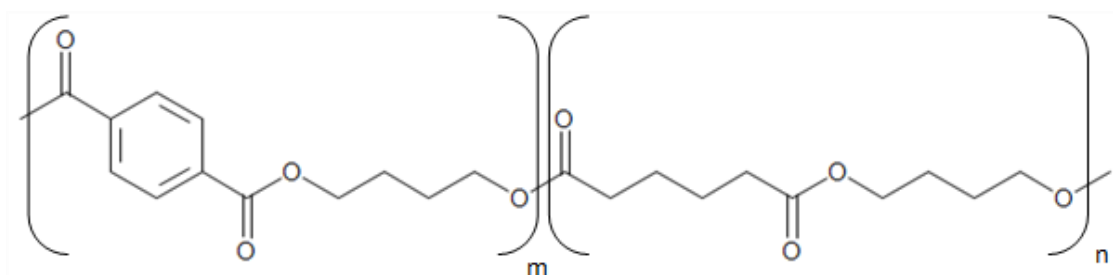


Figura 12. Estrutura do poli(butileno adipato-co-tereftalato).

Estudos empregando PBAT modificado com diferentes compostos e/ou polímeros na área médica, são referentes à recuperação do tecido ósseo¹⁸⁸, tratamento de células cancerígenas¹⁸⁹, compostos antibacterianos¹⁹⁰ e liberação controlada de fármacos¹⁹¹. Outras aplicações do PBAT relatadas na literatura são: uso como material agrícola biodegradável na forma de filmes que aquecem o solo, mantêm sua umidade e previnem o crescimento de ervas daninhas¹⁹² e uso em embalagens¹⁹³. Não foi encontrado na literatura o uso do PBAT como material para remoção de contaminantes emergentes.

3.8. Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Cromatografia é um processo físico de separação, no qual os componentes a serem separados estão distribuídos em duas fases: a fase estacionária e a fase móvel. A fase estacionária geralmente costuma ser um sólido que apresenta grande área superficial. A fase móvel pode ser um gás, um líquido ou ainda um fluido supercrítico. Essa fase móvel passará pela a fase estacionária, arrastando consigo os diferentes componentes da amostra¹⁹⁴. O desenvolvimento de novas tecnologias exigiu equipamentos sofisticados capazes de detectar analitos em níveis traço no meio ambiente e que apresentassem boa reprodutibilidade, alta resolução e sensibilidade.

A técnica analítica de separação HPLC (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*) é a mais utilizada devido a sua alta sensibilidade, fácil adaptação em determinações quantitativas e sua ampla aplicabilidade. Diversos compostos podem ser detectados por HPLC, tais como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarbonetos, hidratos de carbono, drogas, terpenóides, pesticidas, antibióticos, esteroides, espécies organometálicas e muitas substâncias inorgânicas⁶.

Nesta técnica, a fase móvel é um líquido que deve apresentar alto grau de pureza ou ser de fácil purificação; deve dissolver a amostra sem decompor os seus componentes; não deve dissolver a fase estacionária; deve ser compatível com o detector; não ser tóxico; deve possuir baixa viscosidade e ter polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra^{195,196}. Se possível, o solvente da amostra deve ser a própria fase móvel ou um dos seus componentes, para que não ocorra precipitação no injetor ou na coluna, provocando diminuição na resolução dos compostos¹⁹⁷.

A fase estacionária é formada por pequenas partículas com formas regulares, contribuindo para a uniformidade do preenchimento da coluna. Outra característica da partícula, que também é importante para a uniformidade, é a de ter uma faixa de variação de diâmetros bem pequena. Alguns destes materiais são bastante porosos e outros superficialmente porosos, ambos podendo conter fases quimicamente ligadas à sua superfície. A fase estacionária de octadecil (C18) é a mais utilizada na cromatografia líquida de alta eficiência, sendo representada por ODS (octadecilsilano)¹⁹⁸.

A técnica de HPLC utiliza um conjunto de equipamentos especiais, os chamados cromatógrafos. Eles podem diferir em características, grau de automação e caracterizam-se por terem os seguintes componentes:

- Reservatório e sistema de bombeamento da fase móvel;
- Sistema de introdução da amostra;
- Sistema analítico – coluna cromatográfica e termostato das colunas;
- Sistema de detecção (um ou mais detectores);
- Sistema de registo e tratamento de dados¹⁹⁹.

O solvente que se encontra no reservatório é bombeado com o auxílio da bomba através do sistema de introdução da amostra até a coluna cromatográfica, situada ou não dentro de um termostato. Nela, efetua-se a separação dos componentes da mistura de acordo com a natureza da fase móvel, fase estacionária e a natureza dos componentes analisados. A fase móvel sai da coluna e passa por um sistema de detecção, onde são identificadas alterações de propriedades físicas específicas. Esta variação é transformada em um sinal elétrico, que é registado e tratada matematicamente por um processador conveniente. O gráfico obtido chama-se cromatograma¹⁹⁹.

São encontrados diversos trabalhos publicados que utilizam HPLC para determinação de desreguladores endócrinos, como pode ser observado por Shahbazi, Malekinejad e Tajik²⁰⁰ que identificaram $16,2 \pm 1,1 \text{ ng L}^{-1}$ do hormônio E1 na carne bovina, além de $23,3 \pm 1,3 \text{ ng L}^{-1}$ do hormônio E2 e $15,8 \pm 1,9 \text{ ng L}^{-1}$ do hormônio E3, no músculo e na carne do búfalo, respectivamente. Este estudo mostrou que embora a carne seja uma das valiosas fontes de nutrientes para os seres humanos, há, no entanto, preocupações crescentes com a segurança da carne devido à presença excessiva de hormônios esteroides. Um outro exemplo é um estudo de Nur *et al.*²⁰¹ que utilizou a técnica analítica HPLC com detector de arranjo de diodos (DAD) para verificar a presença de bisfenol em 30 amostras de água potável, água mineral, água de rio, água de lago e bebidas e alimentos enlatados, após micro extração em fase sólida utilizando polímeros molecularmente impressos. O método desenvolvido permitiu a identificação do composto em 4 amostras, com limites de detecção de $0,07 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Além dos exemplos citados, Gañán *et al.*²⁰² realizou um estudo que permitiu a identificação do 17β -estradiol em água potável utilizando a técnica de HPLC-DAD, com limites de detecção de $0,38 \text{ mg L}^{-1}$.

Na literatura, são escassos estudos que utilizem membranas poliméricas produzidas pelas técnicas de eletrofiliação para a remoção de contaminantes emergentes, tanto empregando a técnica de SME quanto empregando a técnica de filtração por membrana. Além disso, os trabalhos publicados referentes ao assunto utilizam polímeros diferentes dos escolhidos neste trabalho para estudos de remoção de desreguladores endócrinos em amostras aquosas. Da mesma forma, poucos são os estudos que comparem a eficiência de diferentes membranas poliméricas eletrofiadas para remoção de hormônios de amostras aquosas. Diante destes aspectos, o presente trabalho traz como diferencial dos trabalhos encontrados na literatura a comparação da capacidade de quatro membranas poliméricas removerem três hormônios de amostras aquosas, por meio de duas técnicas diferentes, SME e filtração por membrana, com detecção por HPLC-DAD.

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais e Reagentes

Os padrões dos hormônios foram obtidos da empresa Sigma Aldrich, estrona ($\geq 99\%$), 17β -estradiol ($\geq 98\%$) e 17α -etinilestradiol ($\geq 98\%$). Os solventes utilizados foram: ácido fórmico (Synth, 85%), ácido acético glacial (Vetec, 99,7%), dimetilformamida (Vetec, 99,8%), diclorometano (Química Moderna, 99,5%), acetona grau HPLC (Panreac, 99,9%), metanol grau HPLC (Panreac, 99,9%), acetonitrila grau HPLC (J.T. Baker, 99,98%) e 2,2,2-trifluoretanol (TFE) (Sigma Aldrich, $\geq 99,0\%$). O polímero PA6 foi adquirido da Radilons, o PLA da PURAC, o PCL da Sigma Aldrich e o PBAT da BASF Corporation. Soluções estoque dos hormônios E1, E2 e EE2 (100 mg L^{-1}) foram preparadas, separadamente, em acetonitrila grau HPLC e mantidas na temperatura de -5°C . A solução de trabalho com concentração de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de cada um dos 3 hormônios foi preparada a partir da solução estoque e diluída em água ultrapura, no dia da realização dos testes. Todas as amostras foram filtradas com filtros de PVDF $0,45 \text{ }\mu\text{m} \times 13 \text{ mm}$ (Vertical Chromatography Co., Tailândia) e armazenadas sob refrigeração até análise. A água utilizada neste trabalho foi a ultrapura preparada em sistema Milli-Q, marca Millipore Integral 5, (França).

4.2. Obtenção das Membranas Poliméricas

Conforme já mencionado, o processo de eletrofiação sofre influência de vários parâmetros, tais como massa molar do polímero, viscosidade da solução, tensão aplicada, vazão da solução, temperatura, diâmetro da agulha, coletor e a distância da ponta da agulha, além de parâmetros ambientais (temperatura e umidade relativa do ar), que permitem ajustar as dimensões e qualidades das fibras. A otimização dos parâmetros de eletrofiação constitui uma etapa longa e fundamental do trabalho, pois permitem o preparo de materiais mais eficazes para a aplicação de interesse. As membranas poliméricas produzidas neste trabalho foram baseadas em artigos científicos encontrados na literatura, no entanto diversos parâmetros foram otimizadas, conforme

representado no fluxograma da **Figura 13**. Os resultados de otimização do processo de eletrofição das membranas de PA6 e PCL foram publicados em artigo científico que consta no **Anexo 2** deste trabalho.

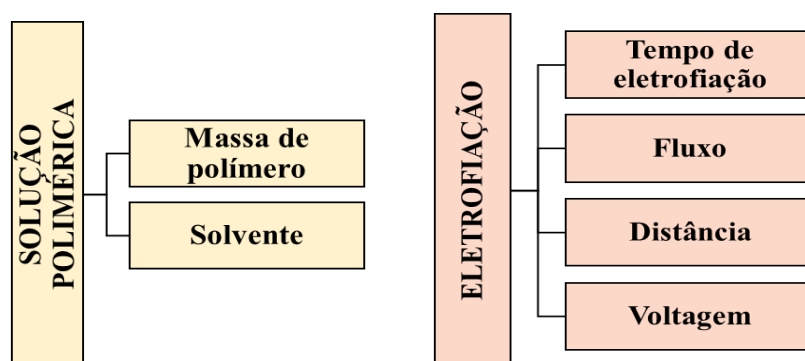


Figura 13. Fluxograma de otimização da técnica de eletrofição.

O processo de obtenção da membrana de PA6 foi baseado em Xu *et al.*²¹. Utilizou-se uma solução 20% (m/v) do polímero em ácido fórmico e o sistema se manteve sob agitação magnética constante em temperatura ambiente por 24 h. A solução polimérica foi transferida para uma seringa do tipo insulina que foi acoplada a um equipamento *electrospinning* (Instor – Porto Alegre, Brasil) com uma distância de 15 cm da base coletora. As voltagens utilizadas foram +24 kV na parte superior e -1,5 kV na parte inferior a uma velocidade de 1,7 mm h⁻¹. O tempo de eletrofição utilizado foi de 90 min.

O preparo da membrana de PCL foi baseada em Lavielle *et al.*²⁰³ e consiste na utilização de 15% (m/v) com uma mistura de ácido acético e ácido fórmico na razão 90:10 (v/v), durante 24 h em temperatura ambiente. As tensões aplicadas foram de +20 kV e -1,5 kV na parte superior e inferior, respectivamente, a uma velocidade de 28,9 mm h⁻¹ e a distância entre a ponta da agulha e a base coletora foi de 15 cm. O tempo de eletrofição utilizado foi de 100 min.

Os parâmetros para obtenção da membrana polimérica de PLA foram baseados em um trabalho publicado por Li, Lim e Kotaki²⁰⁴. Utilizou-se uma solução 10% (m/v) de PLA em diclorometano e dimetilformamida na proporção 3:1 (v/v), sob agitação magnética constante e temperatura ambiente por 24 h. A solução polimérica foi transferida para a seringa do tipo insulina e uma tensão de 20 kV e -1,5 kV foi aplicada entre a ponta da agulha e a base coletora, que estavam a 12 cm de distância entre si. A velocidade utilizada foi de 127 mm h⁻¹ e o tempo de eletrofição foi de 25 min.

Para a obtenção da membrana de PBAT seguiu-se o procedimento descrito por Zehetmeyer²⁰⁵. Utilizou-se uma solução 15% (m/v) de PBAT em 2,2,2-trifluoretanol (TFE) sob agitação magnética constante e temperatura de 45°C por 24 h. A tensão aplicada foi de +16 kV e -1,5 kV, a velocidade foi de 58,1 mm h⁻¹ e a distância entre a ponta da agulha e a base coletora foi de 16 cm. O tempo de eletrofição utilizado foi de 90 min.

O esquema representativo para obtenção das membranas poliméricas e os parâmetros utilizados estão apresentados na **Figura 14** e na **Tabela 3**, respectivamente.

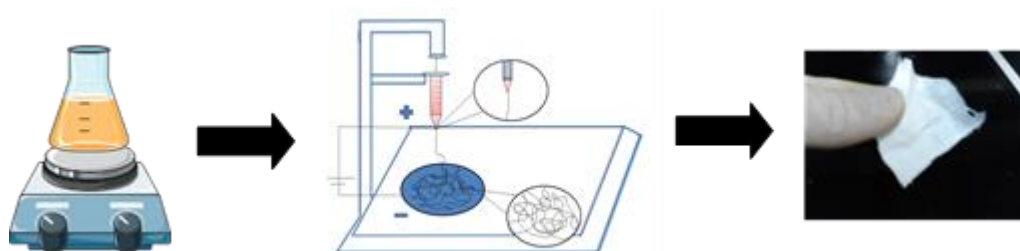


Figura 14. Esquema representativo do preparo das membranas poliméricas.

Tabela 3. Parâmetros utilizados para o processo de eletrofição.

Membrana Polimérica	Solução Polimérica	Voltagem (kV)	Fluxo (mL h ⁻¹)	Distância (cm)	Tempo de eletrofição (min)	Condições
PA6	20% m/V em ácido fórmico	+24kV -1,5kV	0,03	15	100	Agitação 24 h 25°C
PCL	15% m/V em ácido acético e ácido fórmico (90:10 v/v)	+20kV -1,5kV	0,498	15	90	Agitação 24 h 25°C
PLA	10% m/V em diclorometano e dimetilformamida (3:1 v/v)	+20kV -1,5kV	2,24	12	25	Agitação 24 h 25°C
PBAT	15% m/V em 2,2,2-trifluoretanol (TFE)	+16kV -1,5kV	1,002	16	90	Agitação 24 h 45°C

4.3. Caracterização das Membranas Poliméricas

A análise de microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) foi realizada em microscópio Hitachi (Tóquio, Japão) modelo JSM 6060, operando a 8, 10 e 15 kV, dependendo da membrana. Pequenos pedaços das membranas foram colados em *stubs* com o auxílio de uma fita de carbono e revestidos com uma fina camada de ouro, durante 10 min, antes da análise. Com o auxílio do *software* ImageJ, versão 1.52a, de domínio público, foram avaliados os diâmetros das fibras. Foi traçada uma linha perpendicular ao comprimento da fibra e para cada amostra foram mensurados 100 valores de diâmetros das fibras manualmente. Posteriormente estes dados foram processados por meio do *software* Origin 8.6, gerando o gráfico de histograma, caracterizando a distribuição dos diâmetros das fibras com relação à frequência com que ocorreram na membrana polimérica.

A análise termogravimétrica foi realizada em um analisador termogravimétrico Perkin-Elmer, modelo DSC-4 (New Castle, EUA). Uma vez que as amostras estavam secas, sua análise ocorreu sob atmosfera inerte de nitrogênio, usando um suporte de amostra de platina aquecido de 25°C a 900°C, com taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹.

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos com um espectrômetro FT-IR Varian 640 IR Thermo Scientific (Kyoto, Japão) com um cristal de diamante coletando 32 varreduras e resolução espectral de 4 cm⁻¹, no modo de reflexão total atenuada (ATR).

A hidrofobicidade/hidrofilicidade das membranas foi avaliada pelo ângulo de contato com a água, usando um equipamento Kruss, Drop Shape Analyzer - DAS30 (Hamburgo, Alemanha). O primeiro passo desta análise foi colocar a amostra em uma fita de 1 cm². Em seguida, as medidas de três amostras independentes ocorreram usando água deionizada à temperatura ambiente como líquido de teste com gotas de 1 µL.

A porosidade total da membrana foi medida conforme procedimento descrito por Zahari *et al.*²⁰⁶ por meio da massa da membrana seca e úmida após imersão em água ultrapura por 24 horas. A espessura média da membrana foi medida usando um micrômetro mecânico Mitutoyo 0,01 – 10 mm (Suzano, São Paulo). A porosidade total da membrana é determinada gravimetricamente e calculada de acordo com a Equação 1:

$$Pororidade = \frac{Massa_{úmida} - Massa_{seca}}{\rho_{água} \times A \times l} \quad (1)$$

em que $Massa_{úmida}$ e $Massa_{seca}$ representam a massa da membrana úmida e seca, respectivamente; $\rho_{água}$ é a densidade da água à 25°C (0,9970 g cm⁻³); A é a área efetiva da membrana (cm²); l é a espessura das membranas úmidas (cm).

A análise de microscopia eletrônica de varredura e o teste de porosidade foram realizados a fim de se verificar a morfologia das membranas poliméricas. A análise termogravimétrica foi realizada para verificação da temperatura de degradação enquanto a análise de espectroscopia na região do infravermelho verificou os grupos funcionais das membranas poliméricas. Por fim o teste do ângulo de contato avaliou a hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade das membranas produzidas.

4.4. Remoção dos Hormônios

Inicialmente aos testes de remoção, verificou-se previamente a necessidade de lavagem e condicionamento das membranas poliméricas. A lavagem consistiu na imersão da membrana em 50 mL de água ultrapura durante 24 h. Após este tempo, as membranas foram secas em capela, sob temperatura ambiente, durante 24 h e em seguida, em estufa a 60°C por 2 h. Com exceção da membrana de PCL, que foi seca em estufa a 30°C, pois funde a 60°C, tornando inviável sua utilização. Antes da realização dos testes, cada pedaço de membrana polimérica foi pesado em balança analítica Ohaus Corporation (New Jersey, Estados Unidos) e sua espessura registrada com micrômetro mecânico. O condicionamento das membranas (com e sem lavagem prévia) consistiu na percolação de 200 µL de acetona, 200 µL de água ultrapura, 200 µL de metanol e 200 µL de água ultrapura, nesta ordem, antes da passagem da solução contendo a mistura de hormônios. Este condicionamento foi testado para as membranas de PA6 e PCL, enquanto as membranas de PLA e PBAT foram condicionadas com 800 µL de água ultrapura tendo em vista que as fibras produzidas se dissolvem nos solventes utilizados para condicionamento das demais membranas estudadas. O fluxograma representativo das etapas de lavagem e condicionamento realizados nas técnicas de SME e filtração por membrana pode ser observado na **Figura 15**.

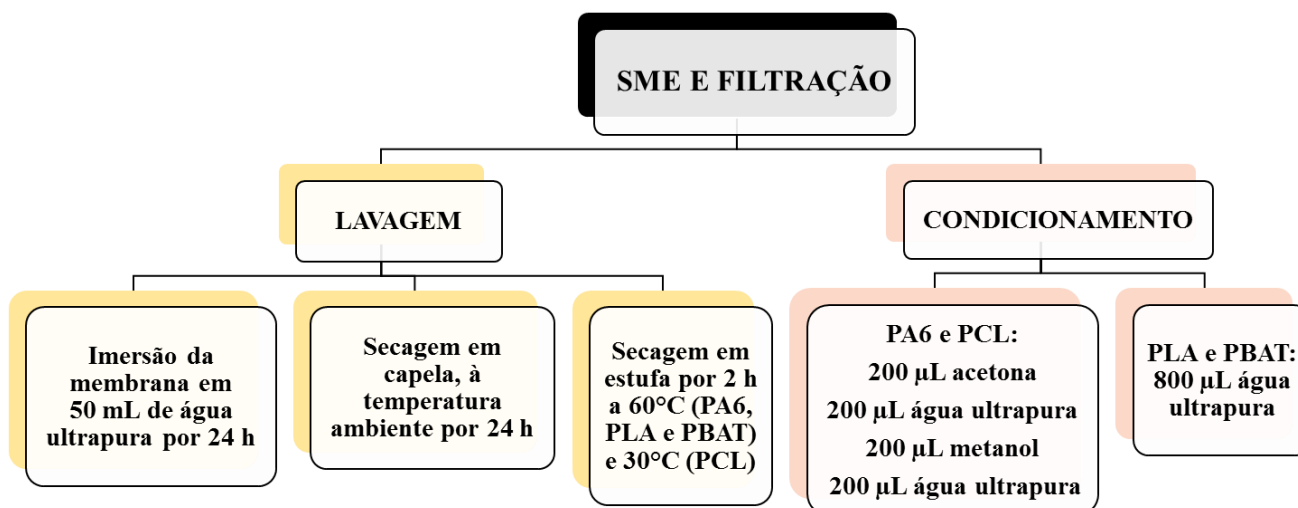


Figura 15. Fluxograma dos testes realizados para as técnicas de SME e filtração por membrana.

4.4.1. Extração em Fase Sólida por Membrana (SME)

Para o procedimento de SME, um pedaço de membrana de 4 cm² foi alocado adequadamente em suportes e acoplados a um sistema Manifold Supelco 24TM – Visiprep DL da Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil), conforme a **Figura 16**. Foram realizados os seguintes testes de extração: (i) membrana sem lavagem e sem condicionamento; (ii) membrana sem lavagem e com condicionamento; (iii) membrana com lavagem e sem condicionamento; e (iv) membrana com lavagem e com condicionamento. Para os testes, foram percolados um volume de 5,0 mL de solução contendo 1,5 mg L⁻¹ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2. Todos os testes foram realizados em triplicata, com fluxo de 1 mL min⁻¹, sob vácuo e temperatura ambiente. Após a passagem das amostras, o resíduo foi coletado, filtrado em filtro PVDF 0,45 µm, e analisado por HPLC.

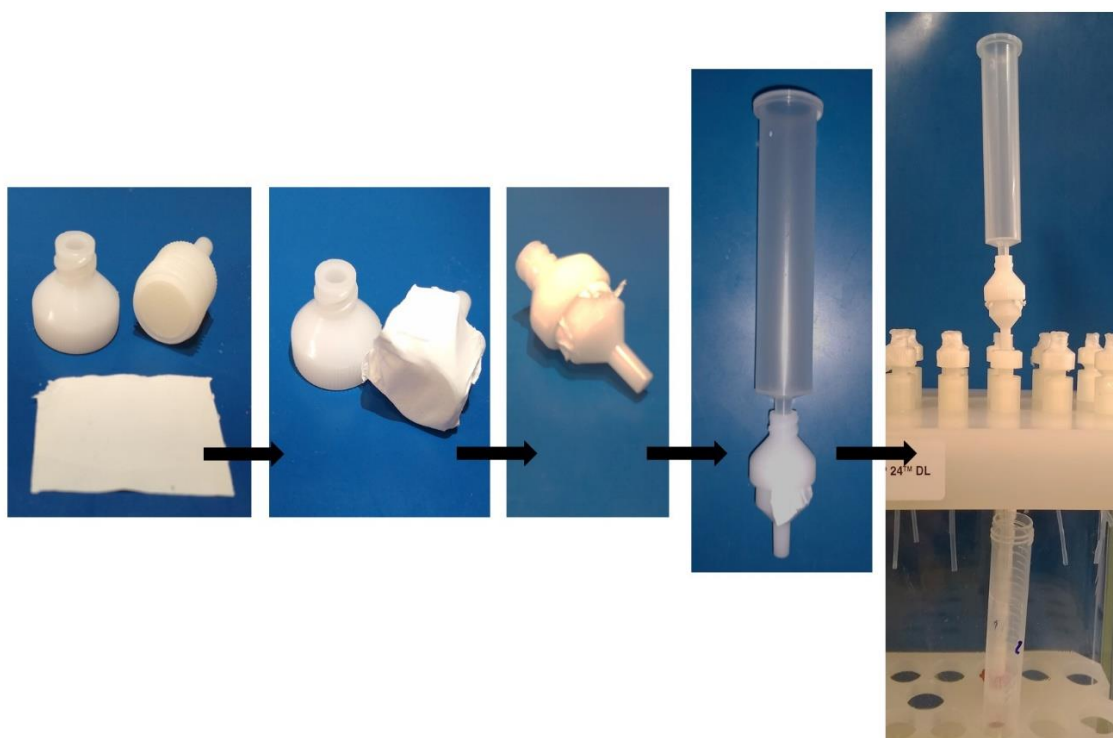


Figura 16. Esquema de montagem do sistema SME.

4.4.2. Filtração por Membrana

Para o teste de filtração por membrana, um pedaço de membrana de 5 cm² foi alocado em um sistema de filtração com placa porosa sinterizada de 5,5 cm de diâmetro, conforme a **Figura 17**. Foram realizados os seguintes testes de filtração: (i) membrana sem lavagem e sem condicionamento; (ii) membrana sem lavagem e com condicionamento; (iii) membrana com lavagem e sem condicionamento; e (iv) membrana com lavagem e com condicionamento. Para os testes, foram percolados um volume de 5,0 mL de solução contendo 1,5 mg L⁻¹ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2. Todos os testes foram realizados em triplicata, em temperatura ambiente, sob vácuo, com duração de cerca de 1 min. Após a passagem das amostras, o resíduo foi coletado, filtrado em filtro PVDF 0,45 µm e analisado por HPLC. A filtragem das amostras antes da análise por HPLC é fundamental para extensão da vida útil do equipamento de cromatografia, pois partículas e impurezas podem interferir em diversos componentes do sistema. A membrana de PVDF foi escolhida para filtração das amostras pois não interfere na remoção dos analitos.

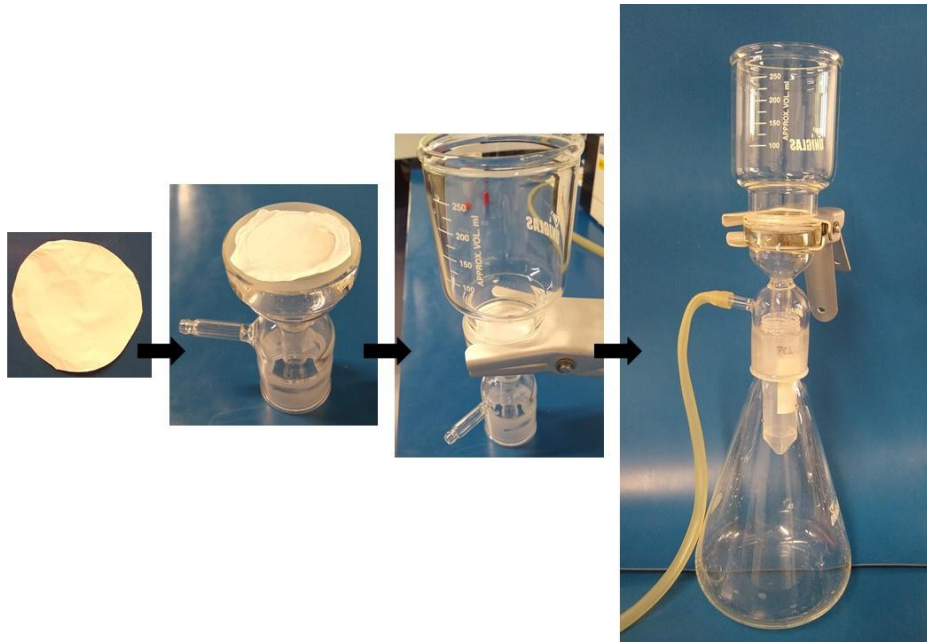


Figura 17. Esquema de montagem do sistema de filtração.

As amostras foram analisadas em HPLC e os resultados obtidos foram submetidos ao cálculo de eficiência de remoção, utilizando a Equação 2:

$$R = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad (2)$$

em que R = remoção (%); C_i = concentração inicial; C_f = concentração final.

4.5. Otimização da Técnica de Filtração por Membrana

Após definição das membranas poliméricas e técnica que possibilitam maior eficiência de remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 de uma amostra $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ contendo os analitos, estudos foram realizados para otimização da técnica escolhida: (i) reutilização das membranas poliméricas; (ii) estudo de dessorção e (iii) estudo do volume de quebra, conforme pode ser observado no fluxograma da **Figura 18** e será descrito mais detalhadamente nos itens a seguir.

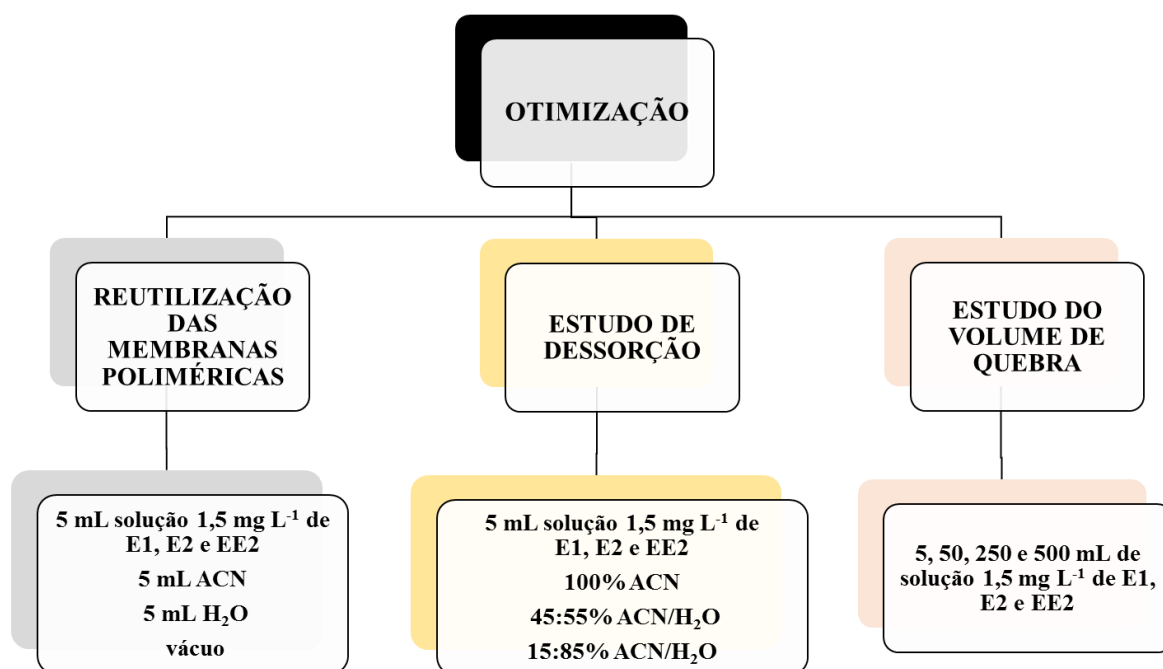


Figura 18. Fluxograma representativo da otimização da técnica de filtração por membrana.

4.5.1. Reutilização das Membranas Poliméricas

A reutilização das membranas poliméricas foi avaliada repetindo-se o processo de percolação da solução contendo $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2, seguida da passagem de 5 mL de acetonitrila grau HPLC e lavagem da membrana com 5 mL de água ultrapura. Por fim, a membrana foi submetida a vácuo para secagem antes da passagem de nova solução dos analitos. Esse procedimento foi repetido por dez vezes. Após o décimo ciclo, as membranas foram lavadas com acetonitrila grau HPLC, água ultrapura, secas a vácuo e foram guardadas em dessecador para avaliar sua utilização após uma semana. Todas as alíquotas, de cada ciclo de reutilização, foram previamente filtradas em membrana de PVDF $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ e analisadas por sistema HPLC-DAD.

4.5.2. Estudo de Dessorção

O estudo de dessorção foi realizado, inicialmente, pela percolação de 5 mL da solução contendo 1,5 mg L⁻¹ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2 (Etapa 1), seguido da percolação de 5 mL de diferentes porcentagens de acetonitrila grau HPLC (Etapa 2). Foram testadas as seguintes porcentagens: 100% ACN, 45:55% ACN:H₂O (v/v) e 15:85% ACN:H₂O (v/v). Foram recolhidas alíquotas tanto da Etapa 1 quanto da Etapa 2 para análise em HPLC-DAD. Os testes foram realizados em triplicata e a remoção e dessorção dos compostos foram calculadas conforme a Equação 2 e Equação 3, respectivamente.

$$D = \frac{C_f \times 100}{C_i} \quad (3)$$

em que D = dessorção (%); C_i = concentração inicial; C_f = concentração final.

4.5.3. Estudo do Volume de Quebra

O estudo do volume de quebra procedeu-se com a utilização da membrana polimérica de PBAT de 5 cm², conforme procedimento descrito anteriormente para filtração por membrana. Foram avaliados diferentes volumes de solução (5, 50, 250 e 500 mL) contendo 1,5 mg L⁻¹ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2 percolados pelas membranas. Após o processo, as soluções foram filtradas em membrana de PVDF 0,45 µm e analisadas em sistema HPLC-DAD. Os testes foram realizados em triplicata, sendo a remoção dos compostos calculada conforme a Equação 2.

4.6. Aplicação da Membrana Polimérica em Amostra Real

A amostra de água superficial empregada neste trabalho foi coletada no Lago Guaíba, em Porto Alegre (coordenada: latitude S 30° 7' 8.645", longitude W51° 52' 0") em uma região bastante urbanizada. A coleta ocorreu no dia 8 de agosto de 2018 e foi realizada de acordo com o protocolo de técnicas limpas²⁰⁷. Após a coleta, a amostra foi

transportada imediatamente para o laboratório, onde foi mantida em temperatura de -5°C até a análise. Inicialmente, verificou-se a presença dos hormônios E1, E2 e EE2 na amostra. Em seguida, a membrana polimérica de PBAT foi empregada na remoção dos analitos em uma amostra de água superficial com adição de padrão na concentração de $1,5\text{ mg L}^{-1}$ de cada um dos hormônios. Os testes foram realizados em triplicata e o cálculo da remoção e dessorção dos compostos foi realizada através das Equações 2 e 3. O fluxograma representativo dos testes realizados em amostra real pode ser observado na **Figura 19**.

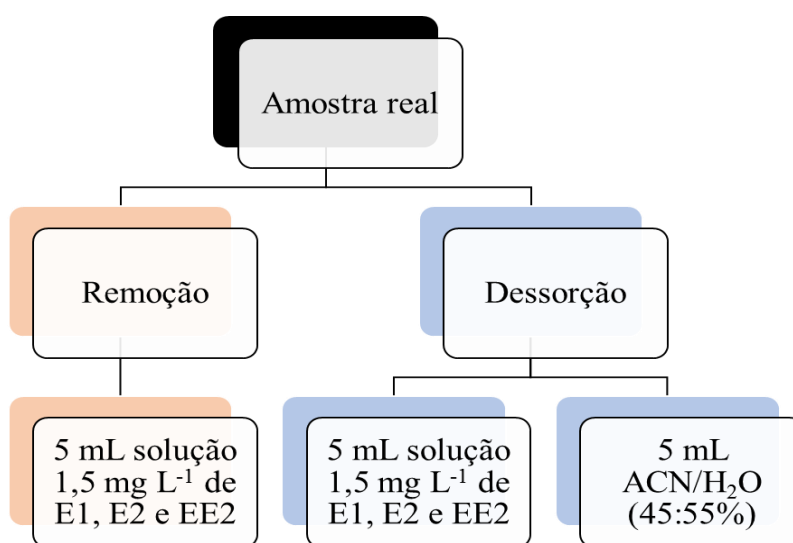


Figura 19. Fluxograma representativo dos testes realizados em amostra real.

4.7. Comparação da Membrana de PBAT com Membrana Comercial

Para que seja possível verificar a eficiência de remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando-se a membrana polimérica de PBAT, foram realizados testes comparativos empregando-se uma membrana comercial de filtração HA em ésteres de celulose (nitrato 75-80% e acetato), $0,45\ \mu\text{m}$, 47 mm (Millipore), hidrofílica. Os testes foram realizados em triplicata, empregando-se a técnica de filtração por membrana, com percolação de uma solução contendo $1,5\text{ mg L}^{-1}$ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2 e outra solução contendo a água superficial. O cálculo da remoção dos compostos foi realizado através da Equação 2. O fluxograma representativo dos testes realizados em amostra real pode ser observado na **Figura 20**.

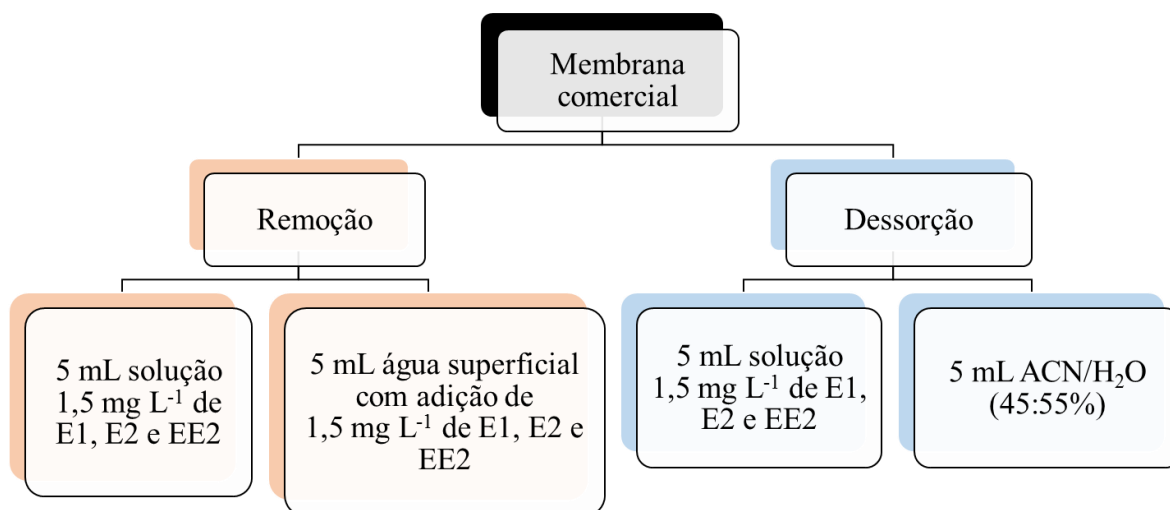


Figura 20. Fluxograma representativo dos testes realizados em membrana comercial.

4.8. Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A determinação dos hormônios foi feita em um cromatógrafo em fase líquida de alta eficiência (HPLC) marca Agilent (Estados Unidos), modelo 1200 Infinity, com injetor automático e detector de arranjo de diodos (DAD), utilizando-se o comprimento de onda de 230 nm. A coluna utilizada foi a Nova-Pak C18 Column, 60Å, 4 µm, 3,9 mm x 150 mm, com temperatura de 20°C. Utilizou como fase móvel uma condição isocrática de água ultrapura (55%) e acetonitrila (45%), com vazão de 0,6 mL min⁻¹. O volume de injeção utilizado no método foi de 20 µL. O método de análise foi realizado considerando os seguintes parâmetros de mérito: (i) faixa linear de trabalho; (ii) limite de detecção (LOD) e (iii) limite de quantificação (LOQ), por meio de curva analítica com padronização externa com as concentrações de 0,05; 0,15; 0,35; 0,50; 0,75, 1,0; 1,25; 1,50, 1,75 e 2,0 mg L⁻¹ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2 em água ultrapura, conforme procedimento descrito pelo Inmetro²⁰⁸. Também foi feita uma curva de calibração para os hormônios estudados em água superficial com concentrações de 0,15; 0,35; 0,50; 0,75, 1,0; 1,25; 1,50, 1,75 e 2,0 mg L⁻¹. O LOD e LOQ foram calculados através da razão sinal/ruído (S/R). Foi considerado como LD do método a razão S/R igual a 3 e LQ do método a razão S/R igual a 10.

5. Resultados e Discussão

5.1. Avaliação Toxicológica e Risco Ambiental

A **Tabela 4**, além dos dados físico-químicos dos fármacos estudados, traz os dados de previsões sobre toxicidade e risco ambiental fornecido pelo *software* ECOSAR. Os resultados obtidos são descritos em termos de LC50, que representa a concentração de uma substância capaz de provocar a mortalidade de 50% da população e EC50 que corresponde à dose necessária para provocar alguma resposta em 50% da população.

Tabela 4. Previsões de toxicidade e risco ambiental para o E1, E2 e EE2 realizados pelo *software* ECOSAR.

Composto	$\log K_{ow}$	Solubilidade em água (mg L ⁻¹)	pK _a	Concentração (mg L ⁻¹)		
				Peixes 96h LC50	<i>Daphnia</i> 48h LC50	Algas Verdes EC50
E1 (CAS N° 53-16-7)	3,43	30	10,5	3,82	3,16	0,355
E2 (CAS N° 50-28-2)	3,94	3,9	10,4	1,71	1,78	0,162
EE2 (CAS N° 57-63-6)	4,11	11,3	10,4	1,42	1,60	0,135

O valor de $\log K_{ow}$ (coeficiente de partição octanol-água) indica o potencial de determinado composto acumular-se nas porções lipídicas. Valores de $\log K_{ow}$ estimados acima de 3 indicam que o contaminante possui potencial de bioacumulação, com grande tendência de acúmulo em solos, sedimentos e biota²⁰². De acordo com os resultados apresentados na **Tabela 3**, observa-se que todos os hormônios estudados mostraram tendência para bioacumulação.

Para E1 a ordem de suscetibilidade é: algas verdes > *daphnia* > peixes e para E2 e EE2 é: algas verdes > peixes > *daphnia*, embora os valores obtidos para peixes e *daphnia* serem bastante semelhantes. Em geral, algas verdes mostraram-se mais suscetíveis à contaminação por hormônios, fazendo com que esses contaminantes se acumulem nesses organismos aquáticos. Estudos mostram que os hormônios podem até

mesmo ser transmitidos através da cadeia alimentar²⁰⁹, porém estes estudos de biomagnificação trófica ainda são bastante escassos.

Uma forma de avaliar o risco ambiental referente a um determinado contaminante é por meio do cálculo do quociente de risco (HQ, do inglês *Hazard Quotient*). Este parâmetro é usado para estimar o risco de efeitos prejudiciais serem prováveis ou não na presença de determinado contaminante. Pode ser obtido dividindo-se a concentração máxima medida do composto no ambiente de interesse pela concentração prevista sem efeito²¹⁰. Valores de HQ menores que 1 indicam que não são prováveis efeitos nocivos, HQ iguais ou maiores que 1 indicam que efeitos nocivos não devem ser descartados. Porém, de acordo com Yuan *et al.*²¹¹, deve-se considerar a interação dos poluentes e o efeito de enriquecimento dos organismos aquáticos (taxa biológicas de dados toxicológicos, qualidade e quantidade de dados e a situação de adaptação), portanto valores de HQ maiores que 0,3 já indicariam potenciais de risco ambiental. Este mesmo autor obteve valores de HQ que variaram de 0,02 a 1,87 para E1 e 1,28 a 23,22 para E2, correspondendo a um potencial de risco de 53,3% e 100% respectivamente. Em outro estudo de Laurenson *et al.*²¹² mostrou que o valor médio de HQ de 0,0065 para o hormônio EE2 indicou baixo risco toxicológico, porém em determinados pontos este HQ pode atingir valores máximos de 4,6, caracterizando alto potencial de risco ambiental.

5.2. Caracterização das Membranas Poliméricas

5.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

De acordo com Ahmed *et al.*²¹³ e Baji *et al.*¹³⁵, alguns parâmetros podem influenciar a morfologia das fibras no processo de eletrofiação, como a concentração do polímero na solução, o solvente utilizado, a condutividade das soluções, a distância entre a agulha e a base do coletor, o tipo de base coletora, a tensão aplicada, a velocidade de passagem da solução polimérica, a umidade relativa e a temperatura do ambiente. Na literatura, não há provas de que a variação do tempo de eletrofiação possa afetar características importantes, que são relevantes para o estudo, como a aparência dos fios, a hidrofobicidade e as condições térmicas.

Na membrana de PA6 (**Figura 21**), as imagens obtidas por SEM, mostram estruturas semelhantes a teias de aranha entre os fios. Esta formação de estrutura peculiar ocorre devido a fortes ligações de hidrogênio entre a cadeia polimérica e as espécies iônicas CONH_2^+ , que se formaram durante a dissolução do PA6 em ácido fórmico. Essas estruturas são formadas por fios menos espessos que as demais fibras, conferindo ao material uma maior área superficial. Os resultados apresentados corroboram com Pant e colaboradores²¹⁴, no qual estrutura e uniformidade da membrana dependem da tensão aplicada, ou seja, quanto maior é a tensão aplicada, menor será a espessura dos fios. A espessura média da membrana de PA6 foi de 0,02 mm. De acordo com o histograma obtido, o diâmetro dos fios da membrana polimérica de PA6 mais frequentemente encontradas variam de 0,5 a 0,9 μm (**Figura 22**).

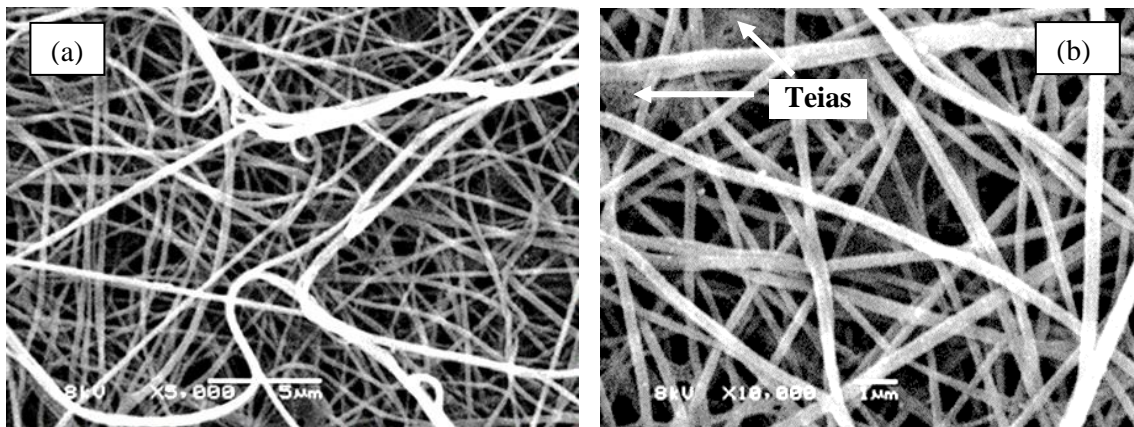


Figura 21. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PA6 com magnificação 5000x (a) e 10000x (b), obtido com a voltagem de 8 kV.

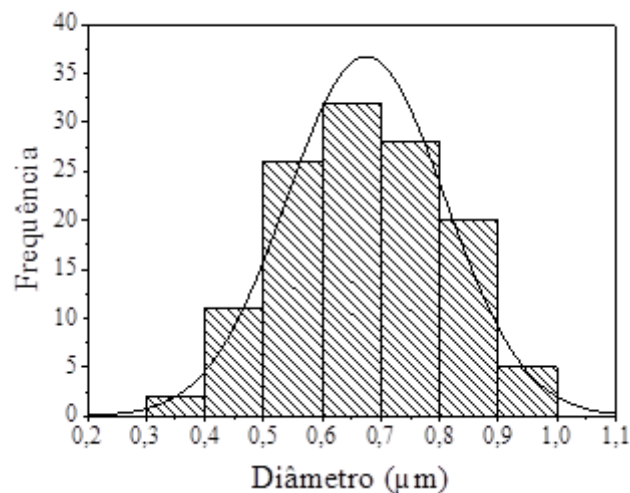


Figura 22. Histograma de distribuição do diâmetro dos fios da membrana de PA6.

Para a membrana de PCL, as imagens de SEM (**Figura 23**) mostraram a ocorrência de nódulos e microgotas ao longo dos fios. Estas nodulações, também chamadas de *beads*, estão relacionadas com a viscosidade da solução polimérica. Quando a viscosidade da solução é muito baixa, micro ou nanogotas (grânulos) se formam, devido à insuficiência de material no jato, o que leva a um grau de emaranhamento inadequado para uma formação do fio contínuo. Por outro lado, há uma obstrução da agulha se a viscosidade das soluções for muito alta, tornando inviável o processo *electrospinning*¹³⁰. Dessa mesma forma, as fibras de PLA apresentaram *beads* e microgotas (**Figura 24**). Além disso, obtiveram-se fios finos e uniformes e a membrana mostrou-se bastante frágil, conforme previamente observado por Liu *et al.*²¹⁵. As espessuras médias das membranas de PCL e PLA foram 0,04 mm e 0,02 mm, respectivamente. De acordo com os histogramas obtidos, o diâmetro mais frequentemente encontrado nos fios das membranas poliméricas de PCL e PLA varia de 0,25 a 0,35 μm (**Figura 25**).

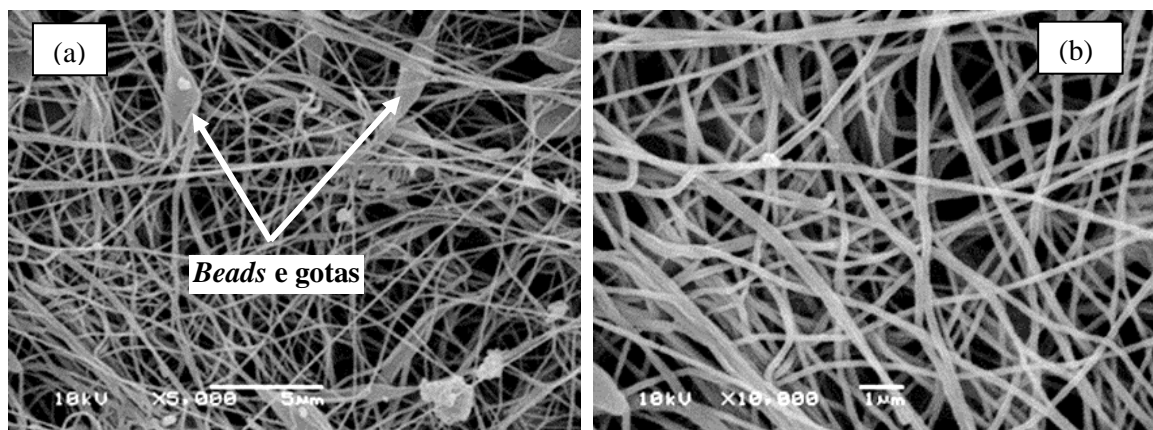


Figura 23. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PCL com magnificação 5000x (a) e 10000x (b), obtida com a voltagem de 10 kV.

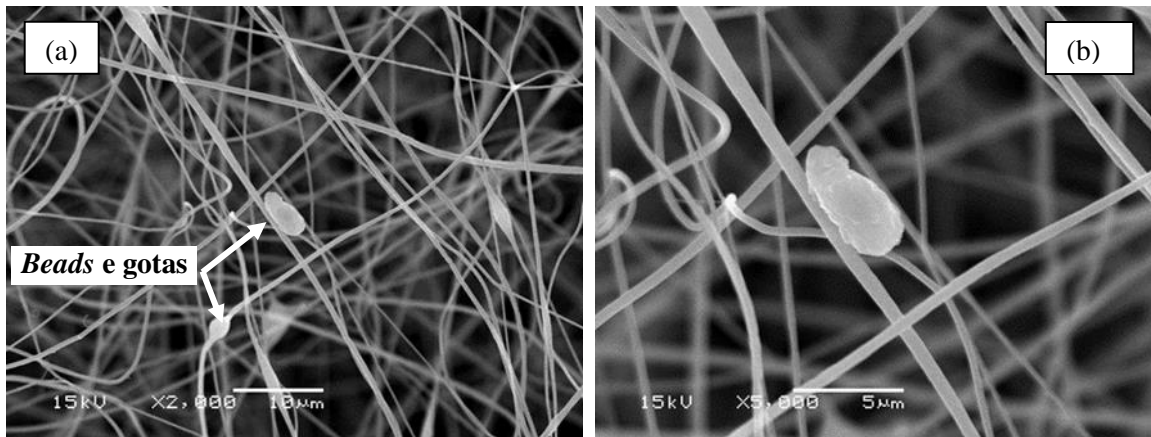


Figura 24. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PLA com magnificação 2000x (a) e 5000x (b), obtida com a voltagem de 15 kV.

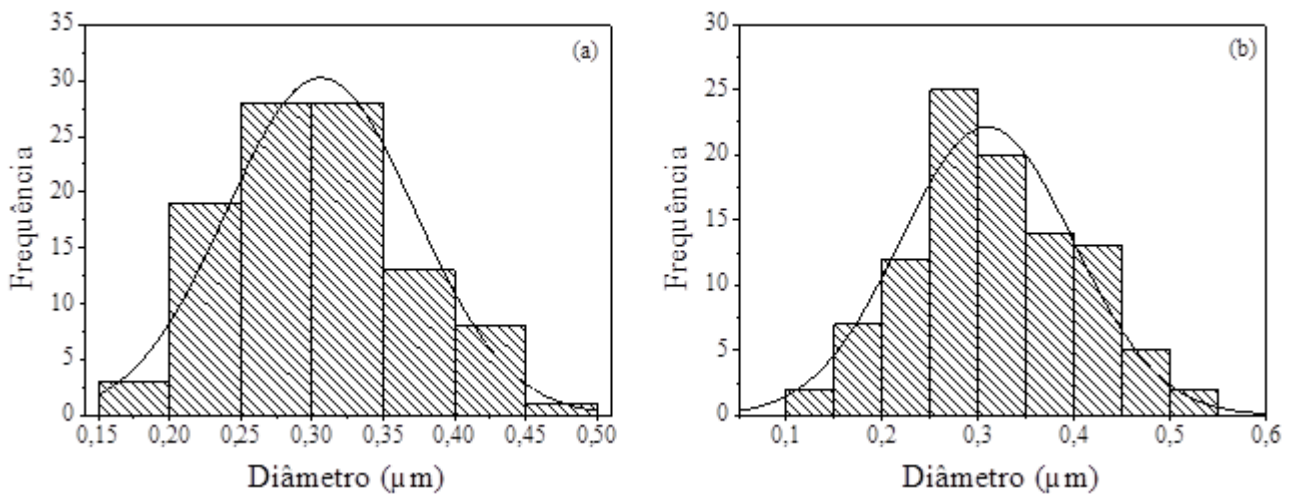


Figura 25. Histogramas de distribuição do diâmetro dos fios das membranas de PCL (a) e PLA (b).

A membrana de PBAT (**Figura 26**) apresentou fios uniformes, mas com espessuras bastante variáveis, com pequena quantidade de *beads*. A espessura média da membrana de PBAT foi de 0,08 mm. Através do histograma obtido, **Figura 27**, observa-se que se têm fios mais espessos que as demais membranas poliméricas, com diâmetros que variam mais frequentemente de 0,8 a 1,2 μm .

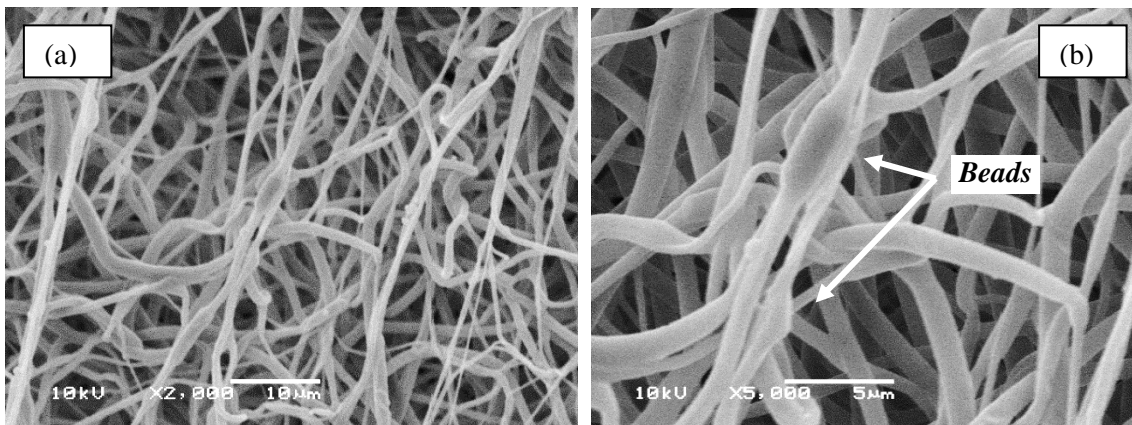


Figura 26. Microscopia eletrônica de varredura da membrana de PBAT com magnificação 2000x (a) e 5000x (b), obtida com a voltagem de 10 kV.

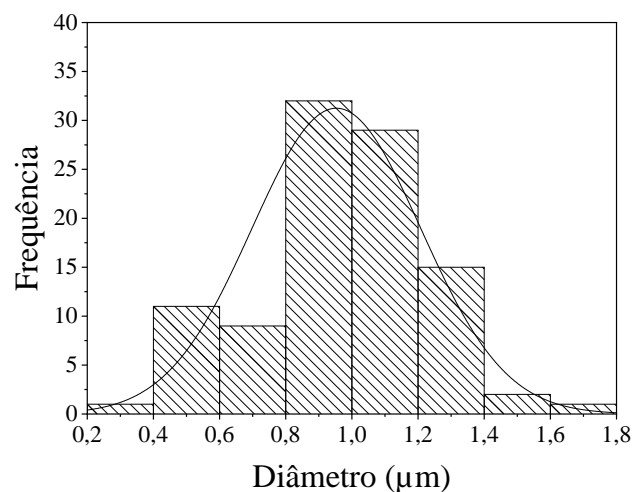


Figura 27. Histograma de distribuição do diâmetro dos fios da membrana de PBAT.

5.2.2. Análise Termogravimétrica

Conforme apresentado nas **Figuras 28 e 29**, sob atmosfera inerte, as duas membranas poliméricas, PA6 e PCL, apresentaram uma degradação térmica de um único estágio. A membrana PA6 (**Figura 28**) foi completamente degradada de 330 a 482°C, com notável perda de massa (80,57%) em 473,3°C. Resultado semelhante foi encontrado por Komalan e colaboradores²¹⁶. Além disso, é possível observar perda de água até 100°C devido ao caráter hidrofílico da membrana de PA6.

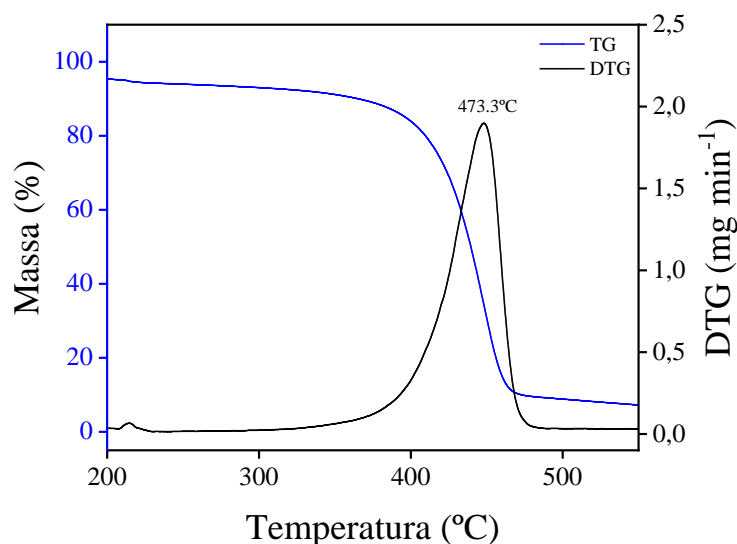


Figura 28. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PA6

A membrana de PCL (**Figura 29**) foi completamente degradada de 345 a 443°C com perda de massa (91,7%) em 392,6°C, conforme observado na literatura²¹⁷. Por outro lado, a membrana de PLA (**Figura 30**) foi completamente degradado de 253 a 382°C com perda de massa (98,3%) em 342,2°C, próximo do valor encontrado na literatura²¹⁸. Para os dois polímeros, PCL e PLA não se observa a presença da perda de água tendo em vista o caráter hidrofóbico destes materiais. A membrana de PBAT (**Figura 31**) foi completamente degradada de 352 a 452°C com perda de massa (92,0%) em 390,0°C, conforme observado na literatura²¹⁹.

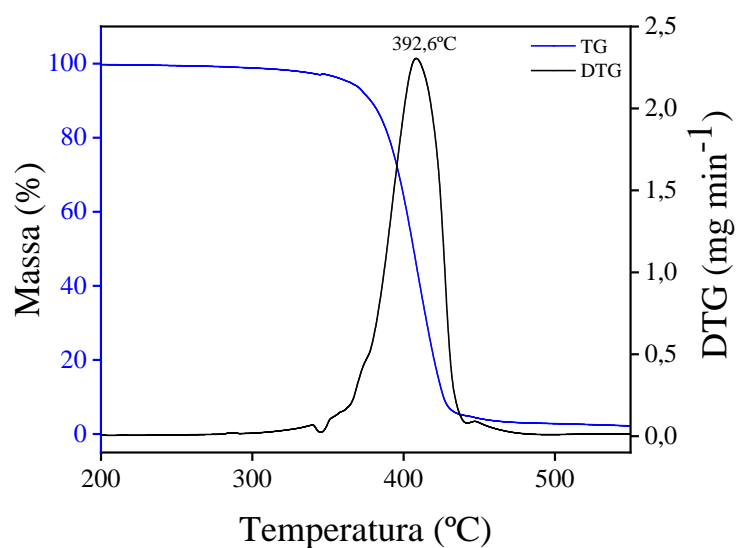


Figura 29. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PCL.

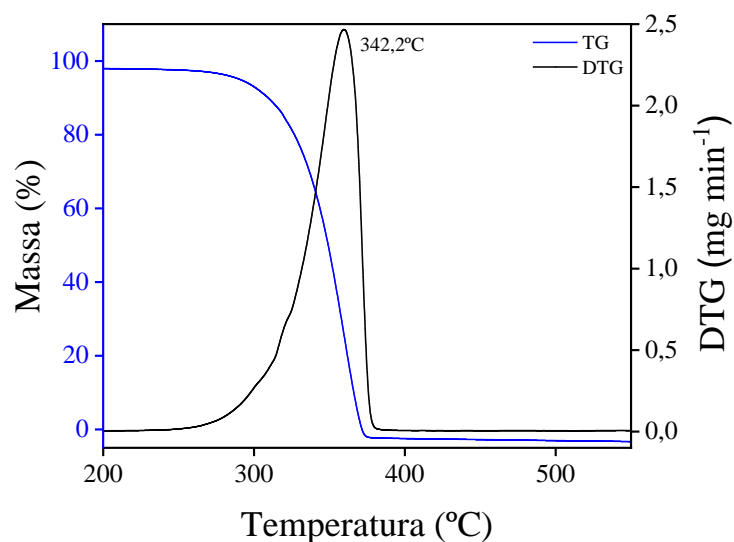


Figura 30. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PLA.

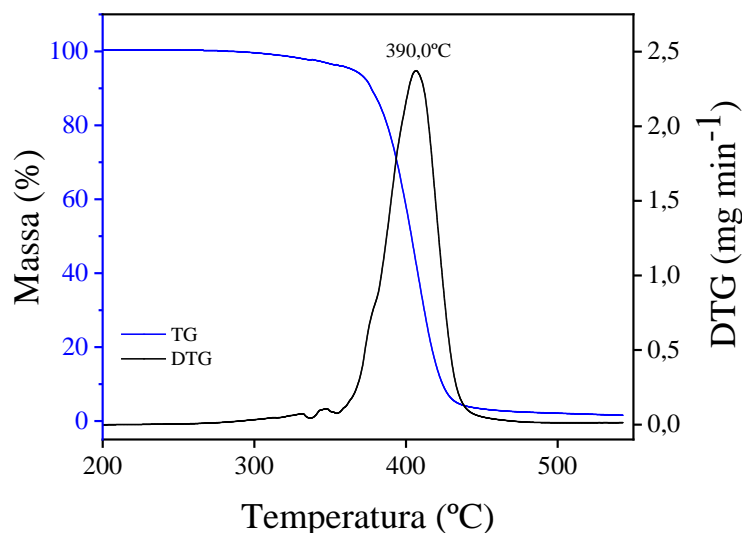


Figura 31. Curvas TG (—) e DTG (—) para a membrana de PBAT.

5.2.3. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

A técnica FT-IR permite a identificação dos grupos funcionais dos polímeros que compõem as fibras preparadas. Os espectros infravermelhos foram feitos numa faixa de varredura entre 4000 a 400 cm^{-1} , que são as principais bandas de absorção de polímeros. Ao analisar a membrana PA6 (**Figura 32**), os picos característicos de poliamidas devidas à ligação peptídica são observados em 3399 cm^{-1} (estiramento vibracional do grupo NH), 1694 cm^{-1} (estiramento vibracional do CO – grupo amida I),

1593 cm^{-1} (deformação de ligação do grupo NH + v de CN – amida II), 3020 cm^{-1} (estiramento vibracional CH_2 simétrico) e 2945 cm^{-1} (estiramento vibracional CH_2 não-simétrico)^{220,221}.

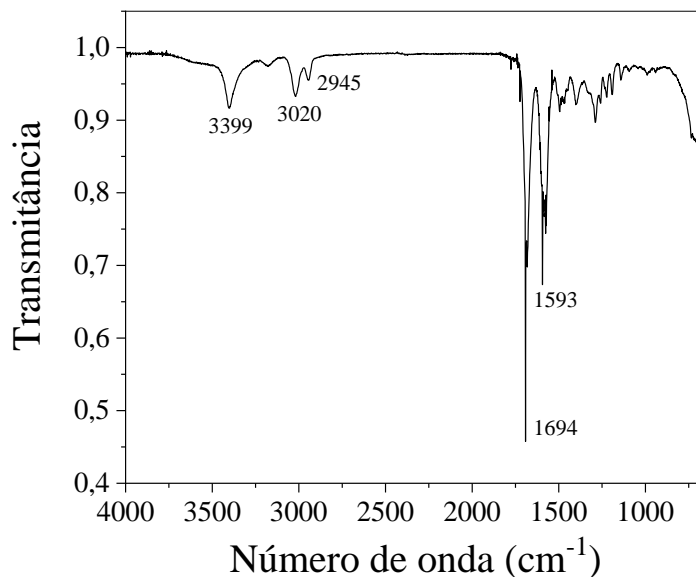


Figura 32. Espectro FT-IR para a membrana de PA6.

Analisando a membrana de PCL (**Figura 33**), as bandas características foram encontradas em 3024 cm^{-1} referente ao estiramento CH_2 assimétrico, 2945 cm^{-1} , referente ao estiramento vibracional CH_2 simétrico, 1767 cm^{-1} , correspondente à ligação C=O, 1319 cm^{-1} do estiramento C–O e C–C na fase cristalina, 1265 cm^{-1} do estiramento assimétrico COC e 1196 cm^{-1} correspondente ao estiramento simétrico COC^{221,222}.

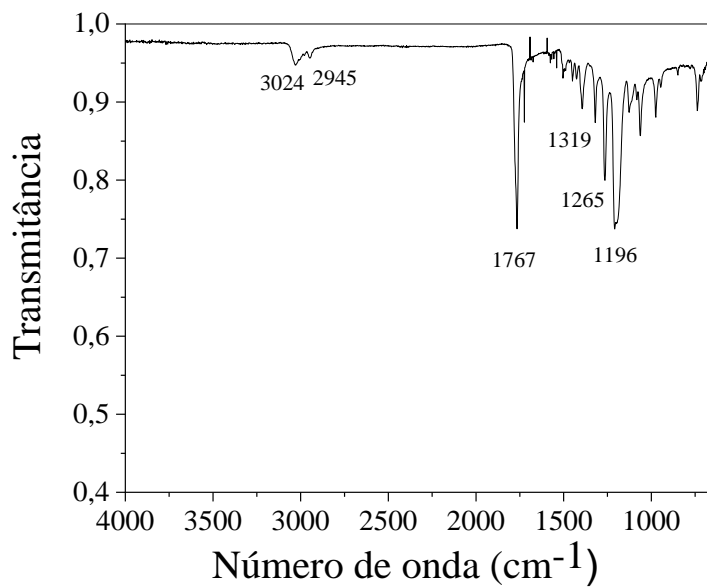


Figura 33. Espectro FT-IR para a membrana de PCL.

As absorções características do PLA são três fortes bandas devidas a vibrações do grupo C-CO-O-C, ou seja, a banda devida ao estiramento do C=O em 1767 cm^{-1} , a banda devida ao estiramento assimétrico do C-O em 1265 cm^{-1} e em 1196 cm^{-1} devido ao estiramento simétrico C-O-C, além de bandas em 3026 e 2949 cm^{-1} referentes ao estiramento vibracional da ligação C-H (**Figura 34**)²²³.

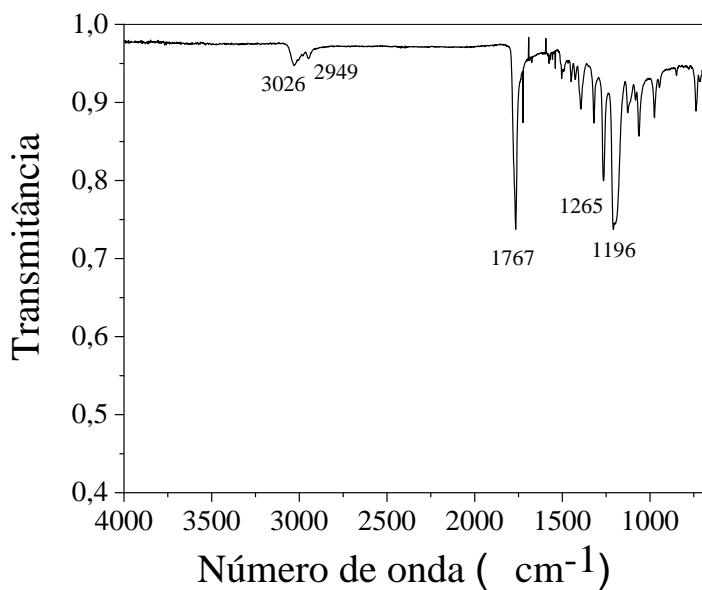


Figura 34. Espectro FT-IR para a membrana de PLA.

No espectro de infravermelho do PBAT (**Figura 35**) os estiramentos vibracionais dos grupos C–H correspondem à banda presente em 2940 cm^{-1} . A banda característica de estiramento vibracional C–O está presente em 1287 cm^{-1} . Observam-se bandas características do estiramento C=O do grupo éster presentes em 1762 cm^{-1} , enquanto a banda em 728 cm^{-1} corresponde às vibrações do grupo CH_2 ²²⁴.

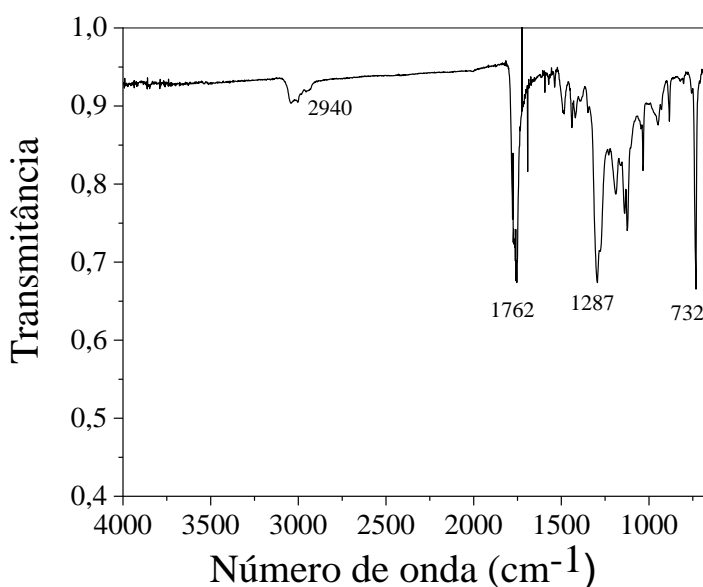


Figura 35. Espectro FT-IR para a membrana de PBAT.

5.2.4. Ângulo de Contato e Porosidade

A molhabilidade das membranas preparadas foi estudada por meio de medidas do ângulo de contato em água, em três diferentes pontos da membrana. Conforme Njobuenwu *et al.*²²⁵, a condição $\theta < 90^\circ$ indica que o sólido é molhado pelo líquido (hidrofílico) e $\theta > 90^\circ$ indica não molhante (hidrofóbico), com os limites $\theta = 0^\circ$ e $\theta = 180^\circ$ definindo molhamento completo e completo não molhante, respectivamente. Portanto, uma vez que as membranas de PCL e PLA apresentaram ângulo de contato de $118,9^\circ$ e $122,2^\circ$ e o tempo de contato da gota com a superfície da membrana foi de 19,3 e 23,7 segundos, respectivamente (**Figura 36**), essas membranas são consideradas hidrofóbicas. Um motivo para a hidrofobicidade das mesmas é a existência de grupos éster na molécula e longa cadeia carbônica. Esses resultados são semelhantes a

trabalhos encontrados na literatura, tanto para a membrana de PCL (124°) quanto para a membrana de PLA (128,5°)^{226,227}.

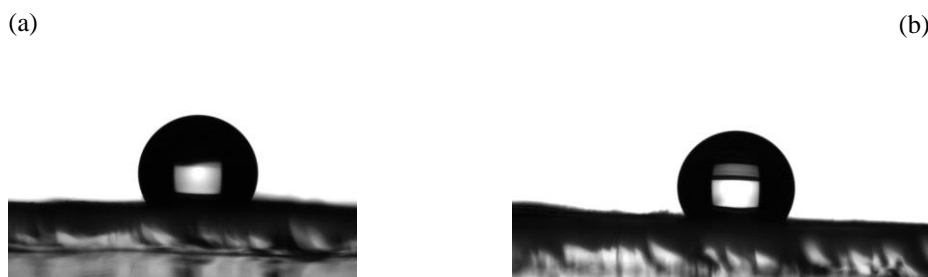


Figura 36. Ângulo de contato das membranas poliméricas de PCL (a) e PLA (b).

Não foi possível a obtenção do ângulo de contato da membrana polimérica de PBAT por não ter havido tempo de leitura suficiente (0,3 segundos), indicando que a membrana apresenta característica superhidrofílica ($\theta < 5^\circ$ em 0,5 segundos). Por outro lado, a membrana de PA6 foi considerada hidrofílica por apresentar ângulo de contato abaixo de 90° ($36,6^\circ$), com tempo de contato de 10,8 segundos. Bačovská *et al.*²²⁸ observou um ângulo de contato de $22,7^\circ$ para a membrana polimérica de PA6, devido à presença de ligações de hidrogênio (**Figura 37**). A **Tabela 5** apresenta um resumo da molhabilidade obtida para as membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT.

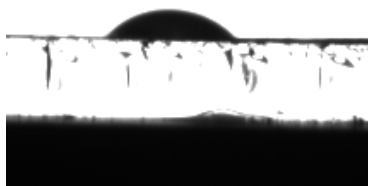


Figura 37. Ângulo de contato da membrana polimérica de PA6.

Tabela 5. Molhabilidade das membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT.

Membrana Polimérica	Ângulo de Contato	Característica
PA6	$36,6^\circ$	Hidrofílica
PCL	$118,9^\circ$	Hidrofóbica
PLA	$122,2^\circ$	Hidrofóbica
PBAT	$\theta < 5^\circ$	Superhidrofílica

A porosidade foi calculada de acordo com a Equação 1 e a média obtida para os testes em triplicada seguem a seguinte ordem: PA6 (86,1%) > PBAT (17,7%) > PLA (11,4%) > PCL (6,5%). Este resultado indica que as estruturas 3D dos fios entrelaçados desempenham um papel importante na formação da estrutura porosa da membrana. As membranas de PCL, PLA e PBAT produzidas são consideradas membranas de microfiltração (MF), pois apresentam porosidade entre 5 e 50%. Geralmente membranas de MF possuem poros com tamanhos que variam de 0,1 a 10 μm ²²⁹.

5.3. Desenvolvimento do Método de Análise

Os parâmetros determinados do método de análise realizadas em HPLC-DAD são apresentados na **Tabela 6** e as curvas analíticas são apresentadas na **Figura 38**. As equações da reta apresentaram linearidade dentro da faixa de concentração estudada, com coeficientes de determinação (R^2) adequados, superiores aos valores recomendados pelo INMETRO, que é de 0,90²⁰⁸ ou de acordo com a ANVISA, que é de 0,99²³⁰. Os limites de quantificação e detecção também foram considerados adequados aos objetivos deste trabalho, de acordo com as concentrações utilizadas.

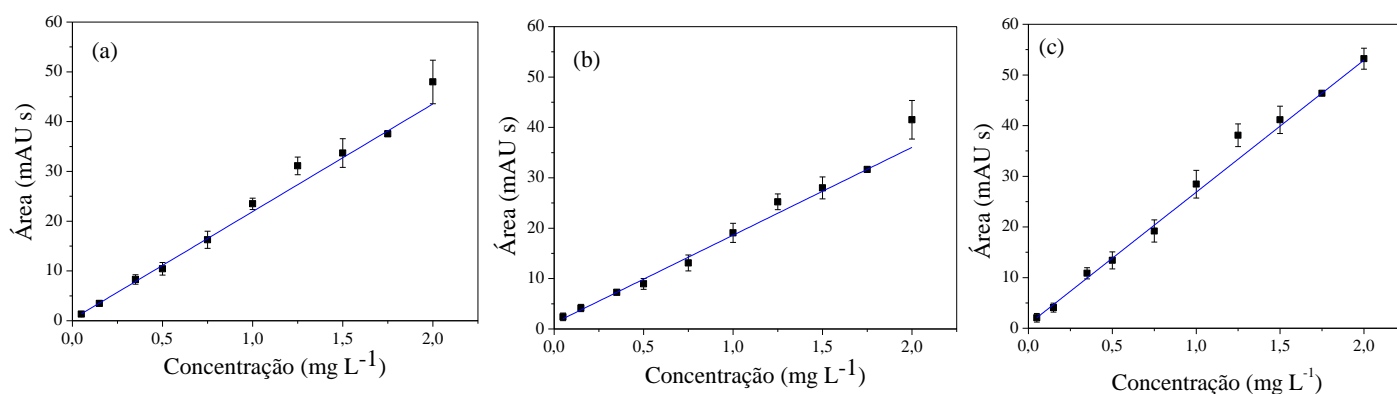


Figura 38. Curvas analíticas para o método HPLC-DAD para os hormônios E1 (a), E2 (b) e EE2 (c), em água ultrapura.

Tabela 6. Parâmetros de mérito do método de HPLC-DAD, em água ultrapura.

	Equação	R²	LOD (mg L⁻¹)	LOQ (mg L⁻¹)
E1	$y = 21,620x - 0,304$	0,997	0,025	0,083
E2	$y = 17,441x - 1,170$	0,999	0,036	0,119
EE2	$y = 26,075x - 0,783$	0,998	0,044	0,147

Os resultados obtidos de LOD e LOQ são semelhantes aos encontrados por Cais, no qual foram obtidos limites de detecção de 0,200 mg L⁻¹ e limites de quantificação de 0,300 mg L⁻¹ para os hormônios estriol, 17β-estradiol, 17α-etinilestradiol e estrona, através da técnica de HPLC-DAD²³¹. Um método desenvolvido por Verbinnen, empregando HPLC-DAD, na qual foram estudados os mesmos hormônios investigados por Cais, foram obtidos LOD que variam de 33,43 µg L⁻¹ a 69,28 µg L⁻¹ e LOQ de 101,29 µg L⁻¹ a 209,95 µg L⁻¹ ²³². Outros estudos encontrados na literatura mostram a obtenção de menores limites de quantificação e detecção para diversos tipos de contaminantes (pg L⁻¹ a ng L⁻¹), inclusive hormônios, quando são utilizados detectores de fluorescência e de espectrofotômetro de massa, sabidamente bem mais sensíveis e seletivos que o DAD, portanto passíveis de quantificar concentrações muito menores dos compostos^{233,234,235}.

Curvas analíticas também foram construídas em água superficial com adição de padrão dos hormônios E1, E2 e EE2. Os parâmetros determinados do método de análise realizadas em HPLC-DAD são apresentados na **Tabela 7** e as curvas analíticas são apresentadas na **Figura 39**. As equações da reta apresentaram linearidade dentro da faixa de concentração estudada, com coeficientes de determinação (R^2) adequados, superiores aos valores recomendados pelo INMETRO e pela ANVISA. Os limites de quantificação e detecção também foram considerados adequados aos objetivos deste trabalho, de acordo com as concentrações utilizadas.

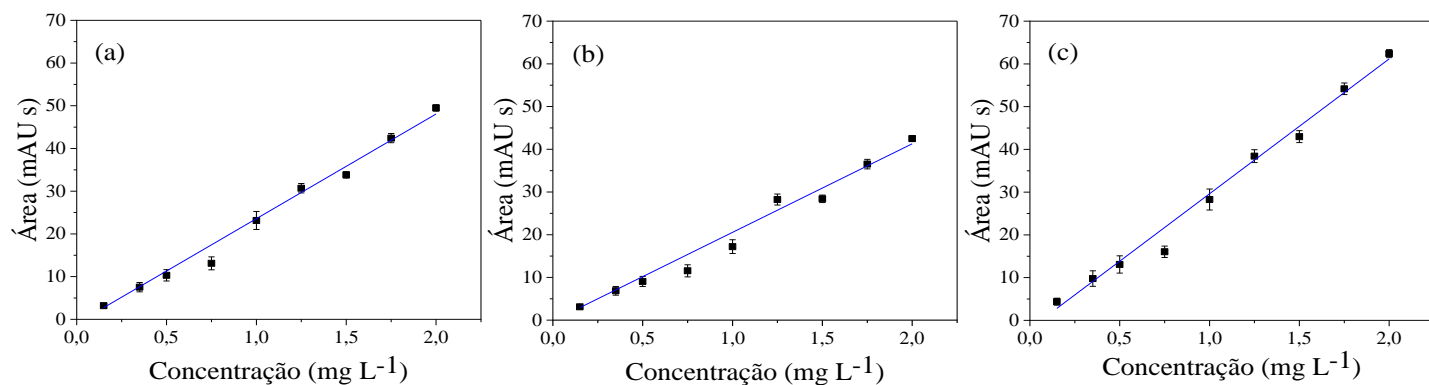


Figura 39. Curvas analíticas para o método HPLC-DAD para os hormônios E1 (a), E2 (b) e EE2 (c), em água superficial.

Tabela 7. Parâmetros de mérito do método de HPLC-DAD, em água superficial.

	Equação	R ²	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)
E1	$y = 24,503x - 0,936$	0,994	0,070	0,234
E2	$y = 20,738x - 0,186$	0,993	0,104	0,347
EE2	$y = 31,557x - 1,937$	0,990	0,081	0,269

O cromatograma obtido para os padrões dos hormônios E1, E2 e EE2, na concentração de 1,5 mg L⁻¹ pode ser observado na **Figura 40**. Os picos correspondentes a 10, 13 e 15 min são referentes aos hormônios E1, E2 e EE2, respectivamente. Nota-se que os picos obtidos estão bem definidos e separados, permitindo a identificação dos três hormônios simultaneamente.

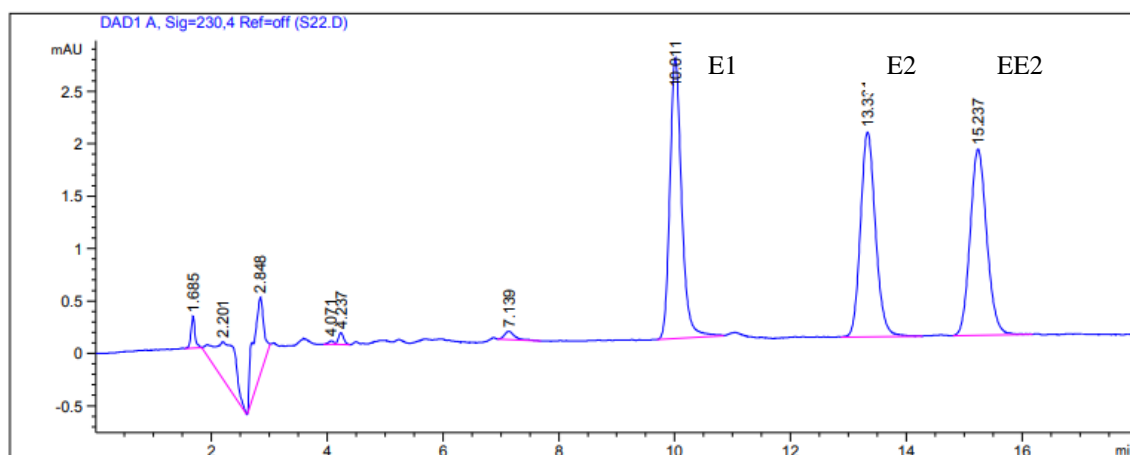


Figura 40. Cromatograma dos hormônios E1, E2 e EE2 em solução padrão $1,5 \text{ mg L}^{-1}$.

5.4. Extração em Fase Sólida por Membrana (SME)

Os gráficos apresentados a seguir representam os testes realizados por meio da técnica de SME, para remoção dos hormônios E1, E2 e EE2. Cada gráfico traz a porcentagem de remoção dos hormônios obtida pelos diferentes testes realizados com cada membrana polimérica. Conforme pode ser observado, as **Figuras 41a-d** mostram que a remoção máxima obtida para membrana de PA6 (sem lavagem e sem condicionamento) corresponde ao hormônio E2 ($23,9 \pm 5,7\%$), para a membrana polimérica de PCL (sem lavagem e sem condicionamento) corresponde ao EE2 ($71,2 \pm 3,3\%$), para a membrana polimérica de PLA (com lavagem e com condicionamento) corresponde ao hormônio E2 ($34,6 \pm 2,5\%$) e para a membrana polimérica de PBAT (sem lavagem e sem condicionamento) corresponde ao hormônio EE2 ($48,4 \pm 0,2\%$).

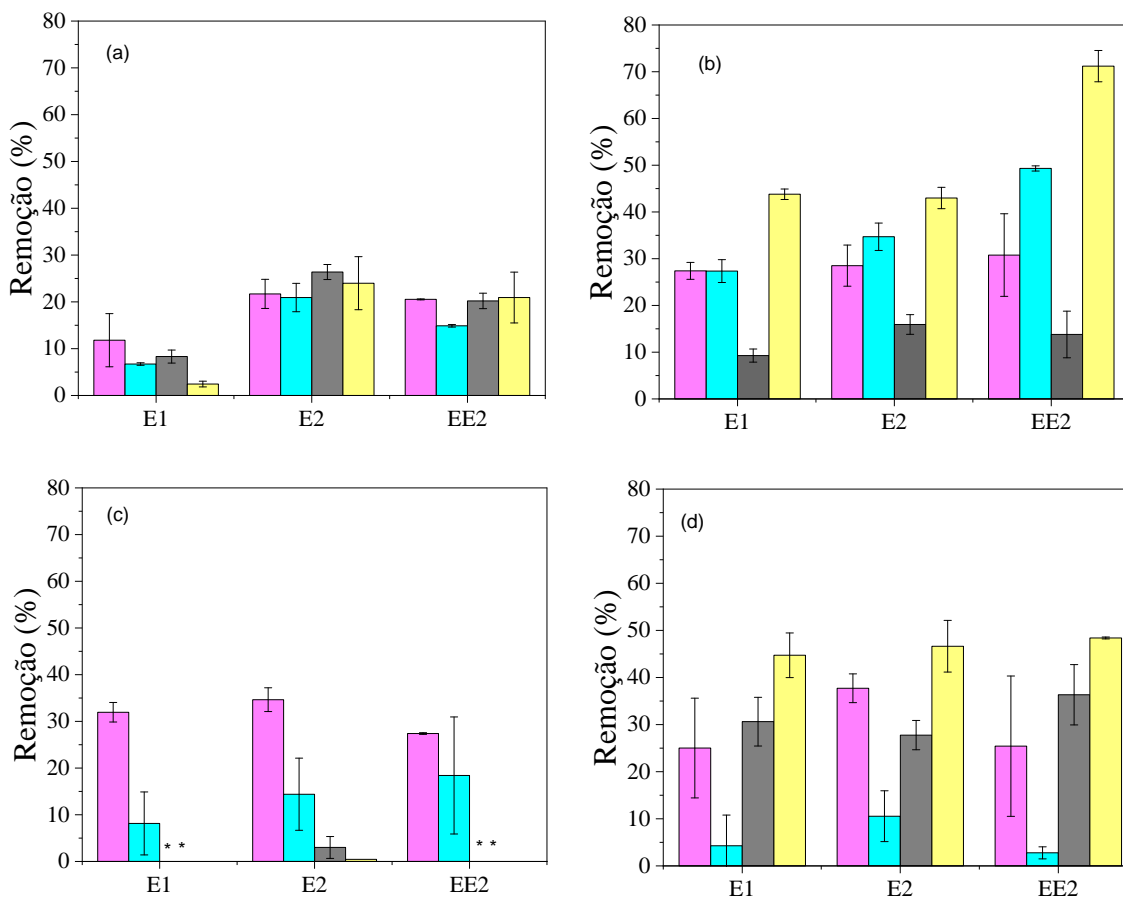


Figura 41. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas PA6 (a), PCL (b), PLA (c) e PBAT (d), ● Com lavagem, com condicionamento, ● Com lavagem, sem condicionamento, ● Sem lavagem, com condicionamento, ● Sem lavagem, sem condicionamento, através da técnica de SME. (**) Remoção nula.

Baseado no teste de Tukey, com nível de significância de 10%, tem-se que os resultados de remoção obtidos para os hormônios E1, E2 e EE2, utilizando ou não lavagem e condicionamento das membranas poliméricas de PA6, PCL e PBAT, não são significativamente diferentes. Dessa forma, para os polímeros citados, as etapas de lavagem e condicionamento não interferem nos resultados de remoção dos hormônios, podendo ser descartadas. No entanto, para a membrana polimérica PLA obteve-se diferença significativa entre os resultados obtidos, ou seja, a etapa de condicionamento e lavagem da membrana polimérica é fundamental para obtenção das maiores remoções dos hormônios estudados. Isso é notado na **Figura 41c**, quando a etapa de lavagem prévia não é realizada, a remoção é extremamente baixa (0,45% para o hormônio E2) ou nula (para os hormônios E1 e EE2). Além disso, a etapa de condicionamento das

membranas poliméricas de PLA provoca um aumento da remoção de todos os hormônios: 8,1% para 31,9% (E1), 14,4% para 34,6% (E2) e 18,4% para 27,4% (EE2).

Utilizando o teste de Tukey para avaliar as diferenças entre as remoções obtidas para cada hormônio, considerando os testes realizados com e sem lavagem e condicionamento, tem-se que as porcentagens de remoção dos hormônios E1 e E2 são significativamente diferentes para todos os resultados obtidos para as membranas PCL e PA6 e também para as membranas PLA e PCL, enquanto os resultados das membranas PCL e PBAT são considerados significativamente iguais. Pelo fato das membranas PCL e PBAT apresentarem maiores porcentagens de remoção dos hormônios E1 e E2, elas foram consideradas como membranas ótimas para remoção destes compostos. Por outro lado, para o hormônio EE2, as remoções obtidas são significativamente diferentes para as membranas PCL e PA6; PLA e PCL e PBAT e PCL. Neste caso, de acordo com os resultados obtidos, as membranas que apresentaram maiores remoções foram as membranas de PBAT e PCL. No entanto, como são consideradas diferentes pelo teste de Tukey, pode-se considerar PCL a membrana ótima para remoção de EE2. Portanto, para a técnica de SME, as membranas de PCL e PBAT foram consideradas como as mais eficazes, sem a necessidade da realização das etapas de lavagem e condicionamento.

As membranas de PCL e PBAT apresentaram remoções máximas sem a realização das etapas de lavagem e condicionamento. Por outro lado a membrana de PLA apresentou remoções máximas com a realização das etapas de lavagem e condicionamento. A membrana de PA6 apresentou remoções máximas diferentes conforme o hormônio estudado, ou seja, para o hormônio E1 a maior remoção foi obtida com lavagem e com condicionamento, para o hormônio E2 e EE2 a maior remoção foi obtida sem lavagem e sem condicionamento, conforme pode ser observado na **Tabela 8**.

Tabela 8. Remoções máximas obtidas para os hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT, através da técnica de SME.

	PA6	PCL	PLA	PBAT
E1	9,0 ± 6,3% ^a	43,8 ± 1,1% ^b	31,9 ± 2,1% ^a	44,7 ± 4,7% ^b
E2	26,4 ± 1,6% ^b	43,0 ± 2,3% ^b	34,6 ± 2,5% ^a	46,6 ± 5,5% ^b
EE2	20,9 ± 5,4% ^b	71,2 ± 3,3% ^b	27,4 ± 0,2% ^a	48,4 ± 0,2% ^b

^aCom lavagem e com condicionamento; ^bsem lavagem e sem condicionamento.

5.5. Filtração por Membrana

As figuras apresentadas a seguir representam os testes realizados pela técnica de filtração por membrana, para remoção dos hormônios E1, E2 e EE2. Cada gráfico traz a porcentagem de remoção dos hormônios obtida através dos diferentes testes realizados com cada membrana polimérica. As **Figuras 42a-d** mostram que a remoção máxima obtida para membrana polimérica de PA6 (com lavagem e sem condicionamento) corresponde ao hormônio EE2 ($84,7 \pm 3,1\%$), para a membrana de PCL (com lavagem e com condicionamento) corresponde ao EE2 ($88,6 \pm 2,1\%$), para a membrana polimérica de PLA (sem lavagem, com condicionamento) corresponde ao EE2 ($54,2 \pm 2,7\%$) e para a membrana de PBAT (sem lavagem e sem condicionamento) corresponde ao hormônio E2 ($91,8 \pm 2,0\%$).

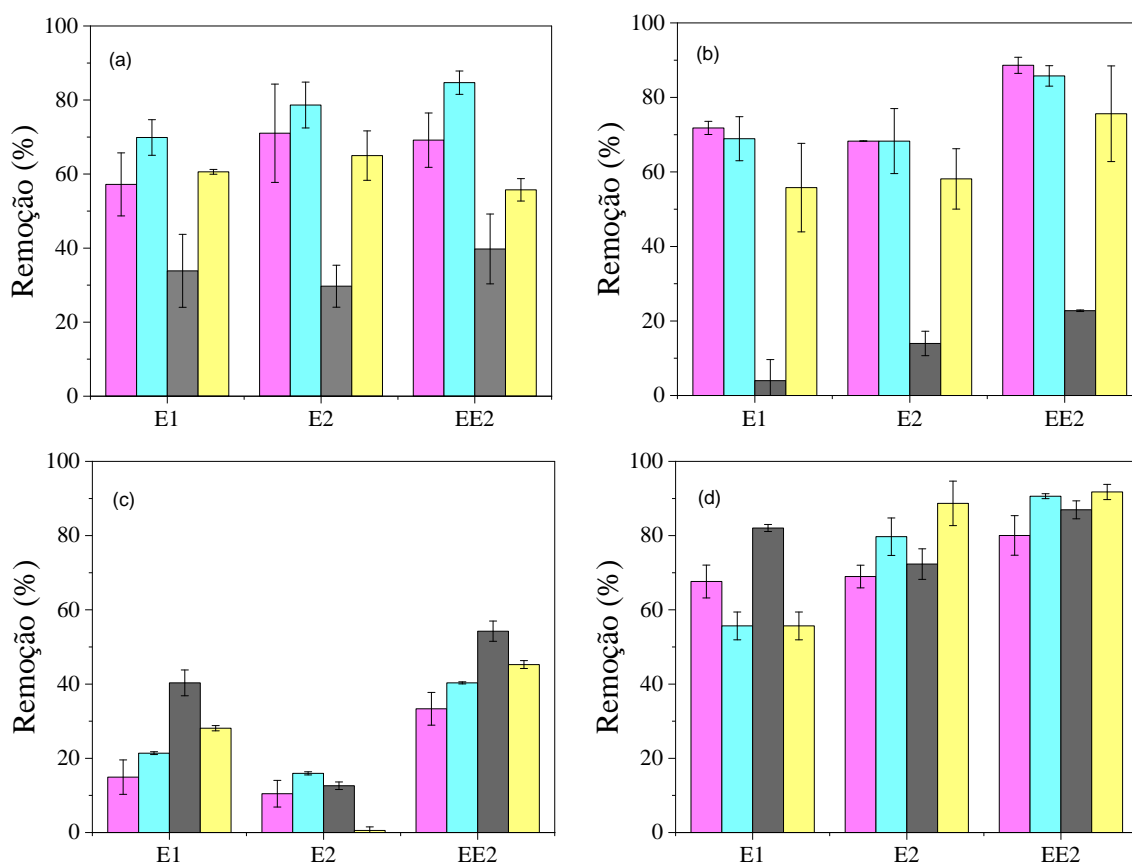


Figura 42. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas PA6 (a), PCL (b), PLA (c) e PBAT (d), ● Com lavagem, com condicionamento, ● Com lavagem, sem condicionamento, ● Sem lavagem, com condicionamento, ● Sem lavagem, sem condicionamento, através da técnica de filtração por membrana. (*) Remoção nula.

Baseado no teste de Tukey, ao nível de significância de 10%, tem-se que os resultados de remoção obtidos para os hormônios E1, E2 e EE2, utilizando ou não lavagem e condicionamento das membranas poliméricas de PCL e PBAT, não são significativamente diferentes. Para os polímeros citados, as etapas de lavagem e condicionamento não interferem nos resultados de remoção dos hormônios, podendo ser descartadas. Para a membrana de PLA as etapas de lavagem e condicionamento influenciam nos resultados obtidos, conforme observado nos testes de SME. Em geral, a etapa de lavagem causou diminuição na eficiência de remoção dos compostos devido à fragilidade da membrana, que pode ter sido ainda mais prejudicada pelo processo de lavagem e secagem em estufa. Uma exceção pode ser observada quando as etapas de lavagem e condicionamento prévios não são realizadas, a remoção do hormônio E2 diminuiu 96%. A membrana polimérica de PLA apresenta alta fragilidade e rompe-se com facilidade. Porém, após passar pelo processo de lavagem e secagem em estufa, torna-se um pouco mais resistente. Para a técnica de SME, são obtidos nove pequenos quadrados a partir da membrana produzida, tendo-se o cuidado de selecionar aqueles que apresentam maior uniformidade e aparente resistência para a realização dos testes. Para a técnica de filtração, são obtidos três círculos a partir de uma membrana sem a opção de se selecionar uma região mais uniforme e mais resistente. Sendo assim, há uma maior probabilidade de se preparar membranas com regiões mais frágeis e possibilidade de ruptura em contato com a solução de trabalho. Diante disso, os resultados obtidos com a lavagem prévia da membrana de PLA utilizando-se a técnica de filtração são piores do que os resultados de remoção obtidos utilizando-se a técnica de SME.

Outras membranas que sofrem influência da lavagem e do condicionamento prévios são as membranas de PA6 e PCL que obtiveram diferença significativa entre os resultados sem lavagem/com condicionamento, portanto este caso das membranas de PA6 e PCL também foi considerado significativamente diferente dos resultados obtidos para as demais membranas.

Utilizando o teste de Tukey para avaliar as diferenças entre as remoções obtidas para cada hormônio, a um nível de significância de 10%, tem-se que as porcentagens de remoção dos hormônios E1 e E2 são significativamente diferentes para a membrana de PLA, para os casos da membrana PA6 sem lavagem prévia e também para o caso da membrana de PCL sem lavagem, com condicionamento. Os demais resultados obtidos utilizando-se a membrana de PCL e os resultados obtidos com a membrana de PBAT

foram considerados significativamente iguais, assim como os resultados obtidos para a membrana de PA6 com lavagem prévia. Dessa forma, comparando as médias dos resultados que foram considerados significativamente iguais, temos que as maiores porcentagens de remoção dos hormônios estudados são referentes à membrana de PBAT, sendo então considerada como membrana ótima para o processo de filtração por membrana.

Conforme se observa na **Tabela 9**, As membranas apresentaram remoções máximas que diferem conforme o hormônio estudado, ou seja, para a membrana de PA6 as maiores remoções dos hormônios E1, E2 e EE2 foram obtidas com as etapas de lavagem e sem a etapa de condicionamento. Para a membrana de PCL, as etapas de lavagem e condicionamento proporcionam maiores remoções para o hormônio EE2, enquanto para os hormônios E1 e E2 as remoções máximas foram obtidas com lavagem mas sem a etapa de condicionamento. A membrana de PBAT apresentou remoções máximas para os hormônios E1, E2 e EE2 quando não se realiza a etapa de lavagem, porém a etapa de condicionamento só proporciona máxima remoção para o hormônio E1. Para a membrana de PLA os hormônios E1 e EE2 apresentam remoção máxima sem a realização da etapa de lavagem e com a etapa de condicionamento, enquanto o hormônio E2 é mais eficientemente removido quando se realiza a etapa de lavagem mas não se realiza a etapa de condicionamento.

Tabela 9. Remoções máximas obtidas para os hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT, através da técnica de filtração.

	PA6	PCL	PLA	PBAT
E1	69,9 ± 4,8% ^a	71,8 ± 1,8% ^a	40,3 ± 3,5% ^c	82,0 ± 0,9% ^c
E2	78,6 ± 6,2% ^a	68,3 ± 8,7% ^a	15,9 ± 0,4% ^a	88,7 ± 6,0% ^d
EE2	84,7 ± 3,1% ^a	88,6 ± 2,1% ^b	54,2 ± 2,7% ^c	91,8 ± 2,0% ^d

a Com lavagem e sem condicionamento; ^bcom lavagem e sem condicionamento; ^csem lavagem e com condicionamento; ^dsem lavagem e sem condicionamento.

A **Figura 43** apresenta uma comparação entre os resultados apresentados nas **Tabelas 8 e 9**, para remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 empregando as membranas poliméricas de PA6, PCL, PLA e PBAT obtidos por meio das técnicas de SME e filtração por membrana. De acordo com os dados, fica bastante evidente que, quando se compara as duas técnicas de extração, há um aumento significativo na eficácia de

remoção dos hormônios quando se utiliza a técnica de filtração por membrana. Isso provavelmente seja devido ao fato da maior área efetiva da membrana disponível para o contato com a solução dos analitos. Diante dos resultados obtidos, foi escolhida a técnica de filtração por membrana e as membranas de PCL e PBAT, sem a necessidade da realização das etapas de lavagem e condicionamento, para a realização dos demais testes.

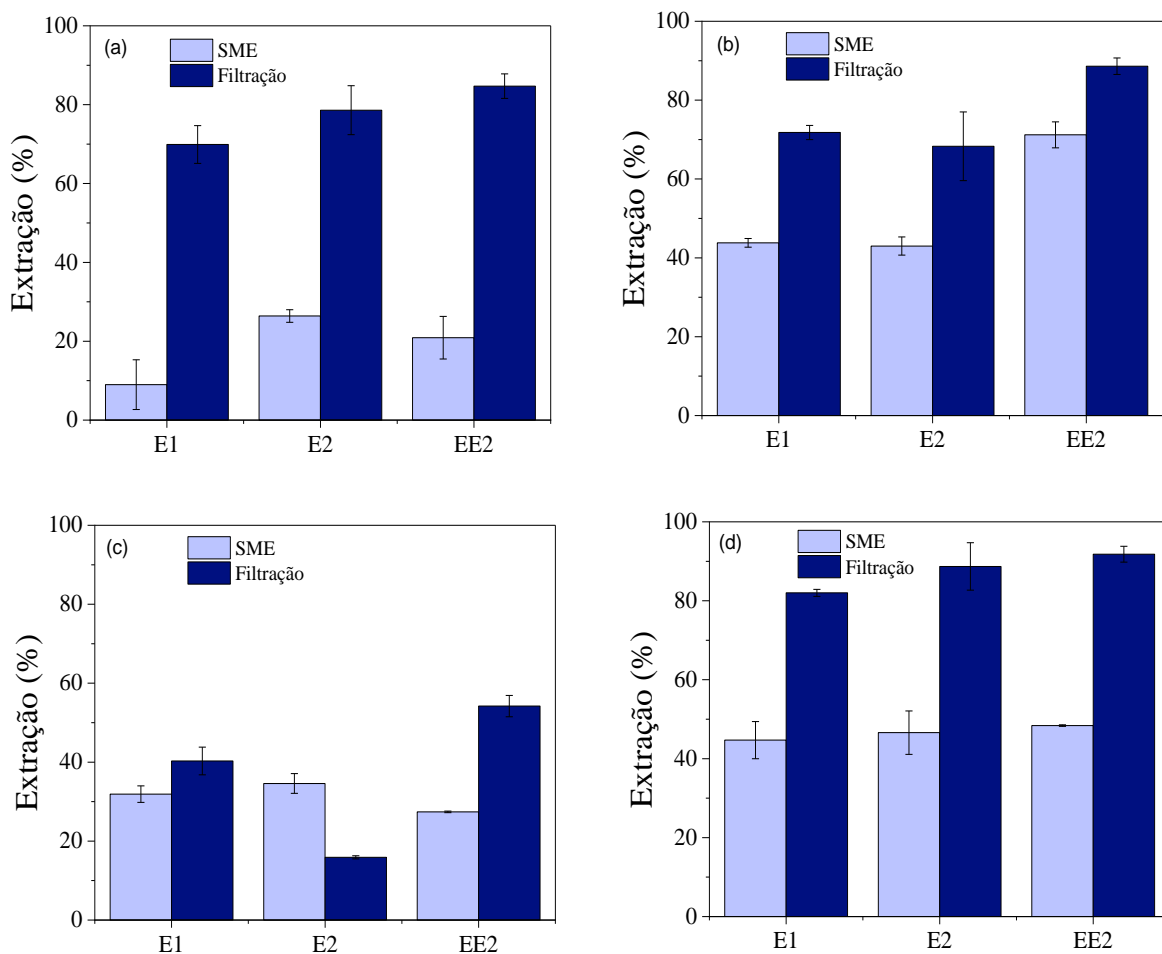


Figura 43. Remoções máximas dos hormônios E1, E2 e EE2, obtidas através das técnicas de SME e filtração por membrana com percolação de 5 mL de solução padrão $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, utilizando-se as membranas poliméricas de PA6 (a), PCL (b), PLA (c) e PBAT (d).

Conforme mencionado, para a remoção de compostos, a técnica de filtração por membrana envolve, principalmente, a exclusão estérea (peneiramento), a interação entre as cargas e a afinidade membrana-soluto (interações hidrofóbicas ou hidrofílicas, ligações de hidrogênio, efeitos dielétricos, etc.). As membranas poliméricas mais

eficientes apresentam características superficiais opostas, ou seja, a membrana de PCL é hidrofóbica e a membrana de PBAT é superhidrofílica, enquanto os hormônios apresentam propriedades hidrofóbicas. Assim, esse tipo de afinidade membrana-soluto, com interações hidrofóbicas-hidrofóbicas, como processo principal de remoção, é descartado. Provavelmente, o principal processo de remoção envolvido na técnica de filtração em membrana seja o processo de exclusão estérica, onde o tamanho dos poros das membranas seja determinante para a sua eficácia. No entanto, estas interações são bastante complexas e podem ser uma somatória de contribuições dos diferentes processos, conforme já apontado por Koyuncu e colaboradores¹²³.

5.6. Otimização do Método de Filtração por Membrana

Após a definição das melhores membranas (PCL e PBAT) e da técnica de remoção dos hormônios (filtração por membrana), alguns estudos foram realizados para otimização do método e para avaliar a potencialidade de utilização das membranas poliméricas em uma amostra real.

5.6.1. Estudo da Reutilização

Após dez ciclos de reutilização, seguindo-se as etapas de percolação da solução padrão $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ dos hormônios E1, E2 e EE2, acetonitrila grau HPLC, água ultrapura e aplicação de vácuo para secagem da membrana, nesta ordem, pode ser observado através da **Figura 44** que, independente da membrana utilizada, foram obtidos valores de remoção acima de 80% para a membrana de PCL e acima de 75% para a membrana de PBAT. Além disso, estes valores mantiveram-se constantes após os dez ciclos de reutilização para todos os hormônios estudados. A média da remoção obtida para a membrana de PCL foi de $88,1 \pm 2,5\%$ para o hormônio E1; $92,2 \pm 2,8\%$ para o hormônio E2 e $88,3 \pm 2,6\%$ para o hormônio EE2. Para a membrana de PBAT, a remoção média para o hormônio E1 foi de $74,2 \pm 3,4\%$; para o hormônio E2 foi de $83,8 \pm 3,2\%$ e para o hormônio EE2 foi de $78,7 \pm 2,3\%$.

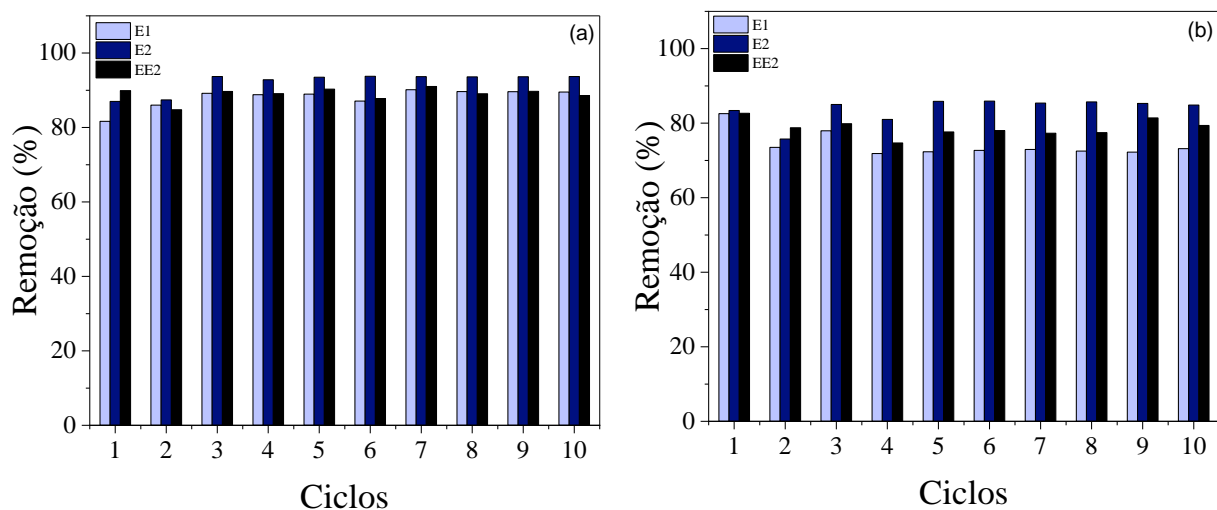


Figura 44. Remoções dos hormônios E1, E2 e EE2 através da técnica de filtração por membrana com percolação de 5 mL de solução padrão 1,5 mg L⁻¹, utilizando-se as membranas poliméricas de PCL (a) e PBAT (b), após 10 ciclos de reutilização.

Também se verificou a possibilidade de reutilização das membranas poliméricas testadas anteriormente, após uma semana guardadas em dessecador. A membrana polimérica de PCL apresentou modificação visual na sua estrutura, tornando-se mais frágil e rompendo, inviabilizando sua reutilização. Por outro lado, a membrana de PBAT permaneceu intacta visualmente podendo ser ainda reutilizada. A remoção obtida para a membrana de PBAT, após os dez ciclos de reutilização e após uma semana guardada em dessecador, foi de 70,7% para o hormônio E1; 77,8% para o hormônio E2 e 72,1% para o hormônio EE2. Comparando-se aos resultados médios obtidos na semana anterior, pode-se perceber que houve apenas uma pequena redução nos valores de remoção dos hormônios. Assim, quando se utiliza a membrana polimérica de PBAT através da técnica de filtração, além de ser eficaz na remoção simultânea dos compostos estudados, pode ser considerada estável e reutilizável. Diante destes aspectos, os demais testes foram realizados somente com a membrana de PBAT, sem lavagem e sem condicionamento, através da técnica de filtração por membrana.

5.6.2. Estudo de Dessorção

Para os testes de dessorção foram avaliadas diferentes proporções de acetonitrila e água para recuperação dos hormônios E1, E2 e EE2. Conforme pode ser observado na **Figura 45**, quando se utiliza 100% de acetonitrila, há uma leve dissolução da membrana, tendo em vista que foram obtidas recuperações acima de 100% ($132,7 \pm 2,8$ para o hormônio E1; $120,5 \pm 9,6\%$ para o hormônio E2 e $121,6 \pm 56,6\%$ para o hormônio EE2). No entanto essa dissolução não é capaz de provocar a inutilização da membrana, tendo em vista que após os testes, elas apresentavam-se intactas. Quando os testes de dessorção são realizados utilizando-se 15% de acetonitrila e 85% de água, baixas porcentagens de recuperação dos hormônios são obtidas ($27,9 \pm 2,8\%$ para o hormônio E1; $27,9 \pm 2,4$ para o hormônio E2 e $21,59 \pm 3,6\%$ para o hormônio EE2). Porém, pode-se notar que os testes de dessorção realizados com 45% de acetonitrila e 55% de água apresentaram altas porcentagens de recuperação ($83,4 \pm 1,4\%$ para o hormônio E1; $100,0 \pm 7,4\%$ para o hormônio E2 e $91,8 \pm 6,1\%$ para o hormônio EE2), indicando que esta é a melhor proporção para recuperação dos hormônios E1, E2 e EE2. Conforme Ribani, os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ ²³⁶.

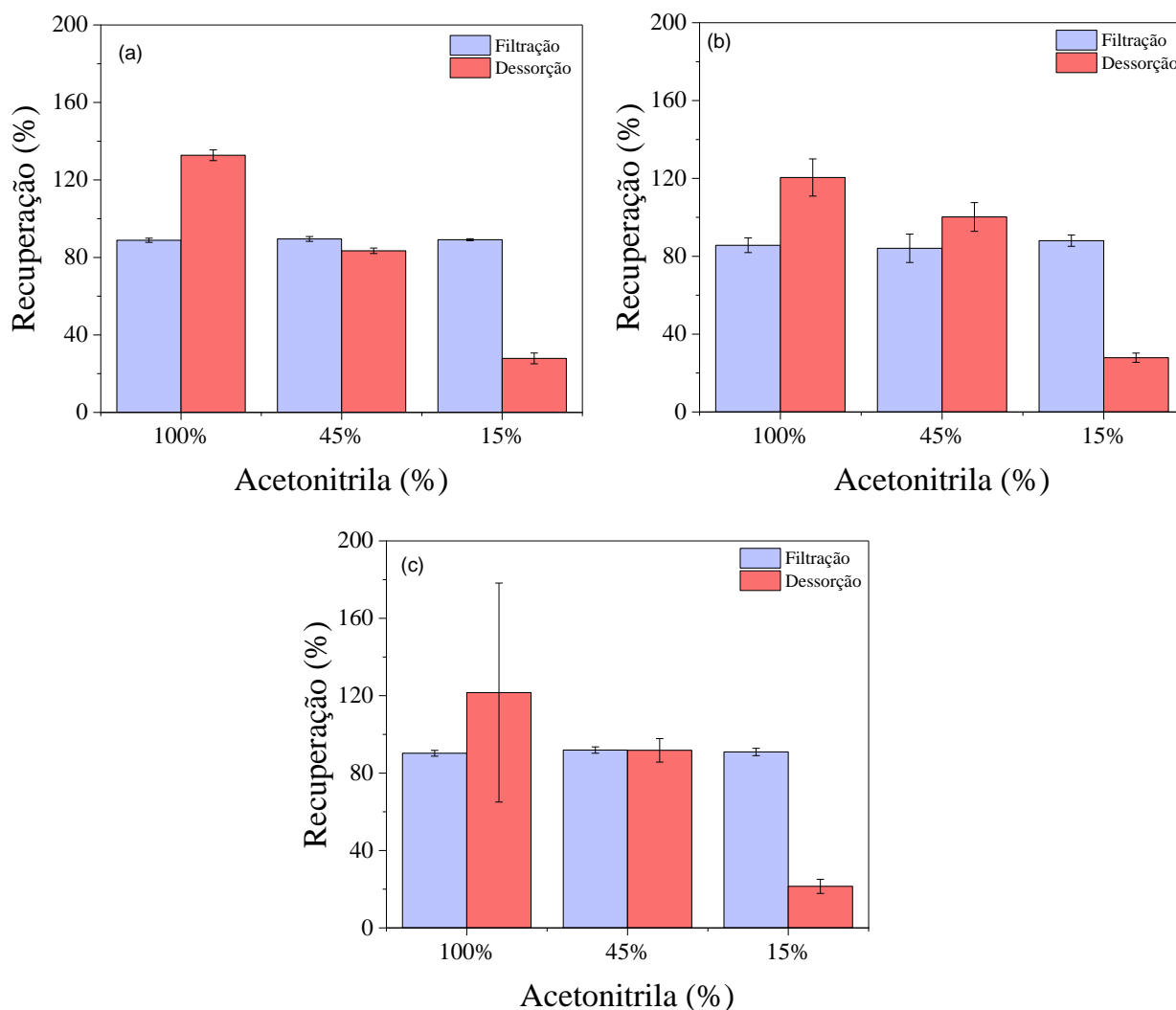


Figura 45. Estudo de dessorção dos hormônios E1 (a), E2 (b) e EE2 (c) de uma solução padrão $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ realizadas pela técnica de filtração por membrana de PBAT e empregando-se diferentes proporções de acetonitrila/água ultrapura.

5.6.3. Estudo do Volume de Quebra

A capacidade da membrana de PBAT na remoção dos analitos quando são utilizados maiores volumes de amostra foi avaliada empregando quatro diferentes volumes contendo $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2. Foram testados os seguintes volumes de quebra: 5, 50, 250 e 500 mL. De acordo com os dados apresentados na **Figura 46**, conforme se aumenta o volume de quebra há uma diminuição da remoção dos hormônios E1, E2 e EE2. Isso ocorre devido à saturação dos poros da membrana, impedindo um efetivo processo de filtração, causando então

uma diminuição do percentual de remoção dos compostos estudados. Quando são utilizados 5 mL da solução contendo $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2, as remoções obtidas foram: $88,9 \pm 1,0\%$ (E1), $85,6 \pm 3,8\%$ (E2) e $90,3 \pm 1,5\%$ (EE2). Aumentando o volume de quebra para 50 mL, nota-se uma diminuição na remoção dos hormônios, principalmente em relação ao hormônio E1 que apresentou uma redução mais acentuada quando comparada aos demais compostos ($46,6 \pm 0,7\%$ para E1; $79,2 \pm 2,5\%$ para E2 e $65,2 \pm 3,7\%$ para EE2). Percolando 250 mL de amostra se tem novamente uma redução na remoção dos três hormônios estudados, mas ainda mais perceptível ($11,1 \pm 1,2\%$ para E1; $49,4 \pm 2,3\%$ para E2 e $38,4 \pm 1,8\%$ para EE2). Por fim, utilizando-se 500 mL de amostra, há mais uma diminuição no percentual de remoção dos analitos, especialmente para E2 e EE2 que apresentam reduções de aproximadamente 50% dos valores obtidos quando se utiliza 250 mL de amostra. Para o hormônio E1 nota-se certa tendência à estabilização no percentual de redução, com diminuição de apenas 9% em relação ao percentual obtido quando se utiliza 250 mL de amostra ($10,1 \pm 2,9\%$ para E1; $22,6 \pm 1,8\%$ para E2 e $17,2 \pm 1,1\%$ para EE2). Embora haja esta diminuição na remoção dos hormônios, fica evidente que mesmo com a utilização de maiores volumes de amostra percolados através da membrana, ainda é possível obter certa porcentagem de remoção.

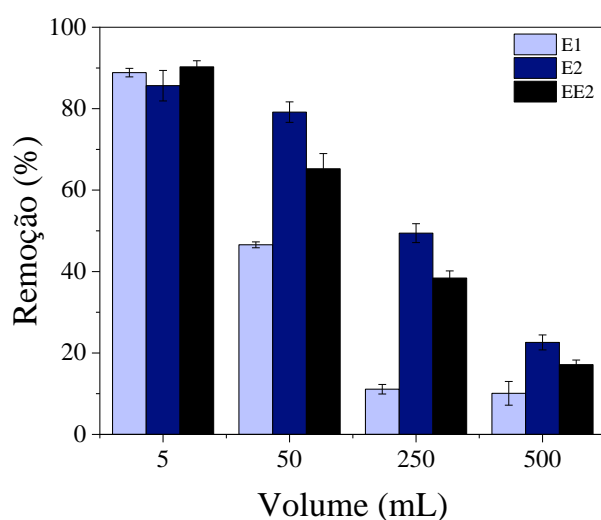


Figura 46. Remoções dos hormônios E1, E2 e EE2 obtidas através da técnica de filtração por membrana após a percolação de 5, 50, 250 e 500 mL de solução padrão $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, utilizando-se a membrana polimérica de PBAT, variando-se o volume de amostra percolado.

5.7. Aplicação da Membrana de PBAT em Amostra Real

A membrana de PBAT preparada foi testada em sistema de filtração em uma amostra de água superficial coletada no Lago Guaíba. Foram feitos testes de adição e recuperação de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2 a um volume de amostra de 5 mL. Um branco da amostra de água superficial foi realizado e os analitos E1, E2 e EE2 não foram detectados na amostra, ou seja, apresentaram-se abaixo do limite de detecção obtido pelo método por HPLC-DAD.

De acordo com os resultados obtidos (**Figura 47**), constata-se que a remoção dos hormônios foi efetiva ($86,2 \pm 4,5\%$ para o hormônio E1; $87,4 \pm 7,9\%$ para o hormônio E2 e $88,3 \pm 5,4\%$ para o hormônio EE2), mesmo em água superficial. Comparando estes valores de remoção com os dados obtidos nos testes anteriores, em que foram utilizadas apenas soluções padrão dos hormônios na concentração de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, a eficiência de remoção da membrana manteve-se constante, mesmo na presença de interferentes da matriz. Os resultados de dessorção foram considerados satisfatórios, uma vez que o valor médio de cada hormônio foi de $105,1 \pm 4,5\%$ (E1), $110,7 \pm 3,2\%$ (E2) e $112,3 \pm 6,2\%$ (EE2).

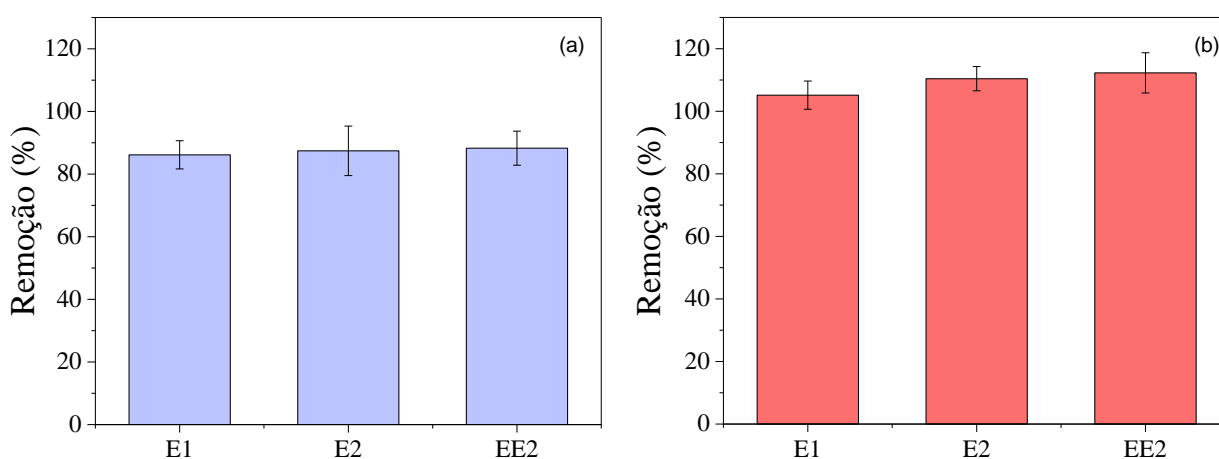


Figura 47. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 após percolação de 5 mL de amostra de água superficial (a) e dessorção dos hormônios E1, E2 e EE2 em amostra de água superficial com adição de padrão $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ (b), empregando-se a membrana polimérica de PBAT.

A **Figura 48** apresenta um exemplo de cromatograma obtido após a adição de 1,5 mg L⁻¹ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2 em uma amostra de água superficial. Percebe-se que, embora existam alguns interferentes na matriz da amostra que não ficam retidos na membrana, é possível a identificação dos analitos estudados. O mesmo pode ser observado no cromatograma obtido através do processo de dessorção. Embora exista uma diminuição da resolução dos compostos e piora da linha de base, ainda é possível a identificação do pico de cada hormônio estudado (**Figura 49**).

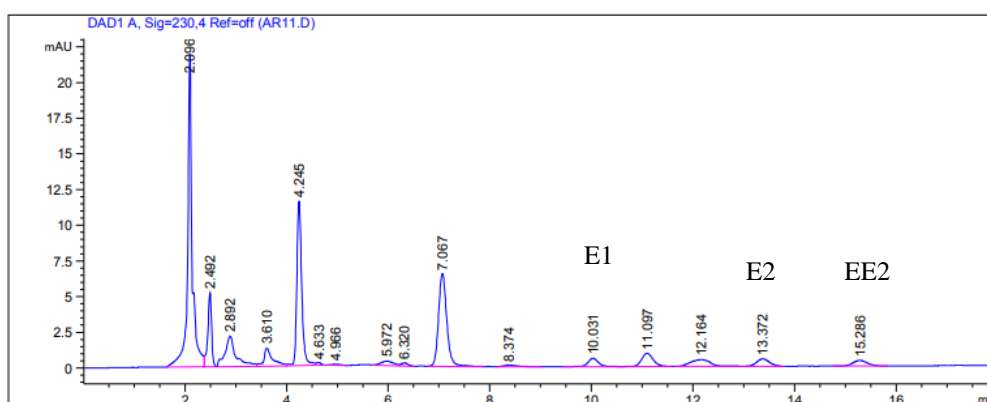


Figura 48. Cromatograma dos hormônios E1, E2 e EE2 em amostra de água superficial com adição de padrão 1,5 mg L⁻¹, após processo de filtração por membrana.

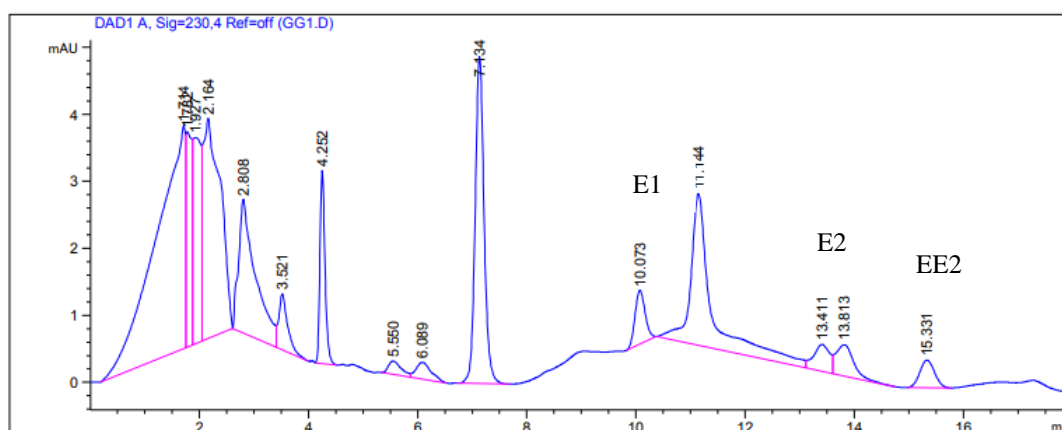


Figura 49. Cromatograma dos hormônios E1, E2 e EE2 em amostra de água superficial com adição de padrão 1,5 mg L⁻¹, após processo de dessorção.

5.8. Comparação da Membrana Preparada com Membrana Comercial

A eficiência da membrana de PBAT preparada foi comparada com uma membrana comercial de ésteres de celulose, a qual é muito utilizada em purificação de água, bebidas e alimentos, em pesquisas médicas e biológicas²³⁷. Engloba toda gama de filtração, desde a remoção de partículas, micropartículas, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa²³⁸. Esta membrana possui propriedades hidrofílicas e 79% de porosidade, de acordo com dados obtidos na embalagem do produto. Inicialmente, verificou-se a capacidade da membrana comercial na remoção hormônios E1, E2 e EE2 em uma amostra padrão e uma amostra de água superficial (**Figura 50**). Foram utilizadas as mesmas condições experimentais empregadas para os testes com a membrana de PBAT. Conforme pode ser observado, a membrana de celulose foi eficaz na remoção dos hormônios, com valores de $62,5 \pm 1,3\%$ (E1), $80,3 \pm 2,2\%$ (E2) e $93,2 \pm 0,7\%$ (EE2), para o teste com a solução padrão. A aplicação em amostra real resultou em valores de remoções de $69,4 \pm 2,1\%$ (E1), $86,2 \pm 2,5\%$ (E2) e $94,2 \pm 0,3\%$ (EE2). Além disso, após os testes a membrana de celulose manteve-se aparentemente intacta.

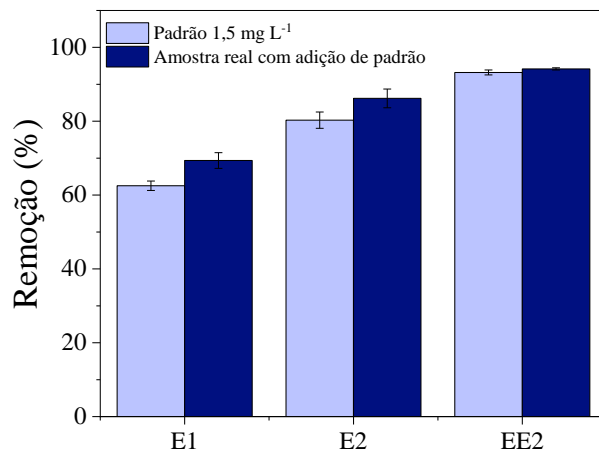


Figura 50. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando-se membrana comercial de ésteres de celulose, após percolação de 5 mL de amostra padrão $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ e amostra real através da membrana PBAT.

Os resultados obtidos, tanto em solução padrão quanto para a amostra de água superficial empregando-se as membranas de PBAT e celulose, foram representados na **Figura 51** e **Tabela 10**. De acordo com o teste de Tukey, a um nível de significância de 10%, tem-se que os resultados obtidos para remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 tanto

para a amostra padrão quanto para a amostra de água superficial, são considerados significativamente diferentes para o hormônio E1 e são considerados iguais para os hormônios E2 e EE2. Isso indica que as membranas de PBAT e celulose possuem a mesma capacidade de remover os hormônios E2 e EE2, enquanto a membrana de PBAT é mais eficiente do que a membrana de celulose na remoção do hormônio E1.

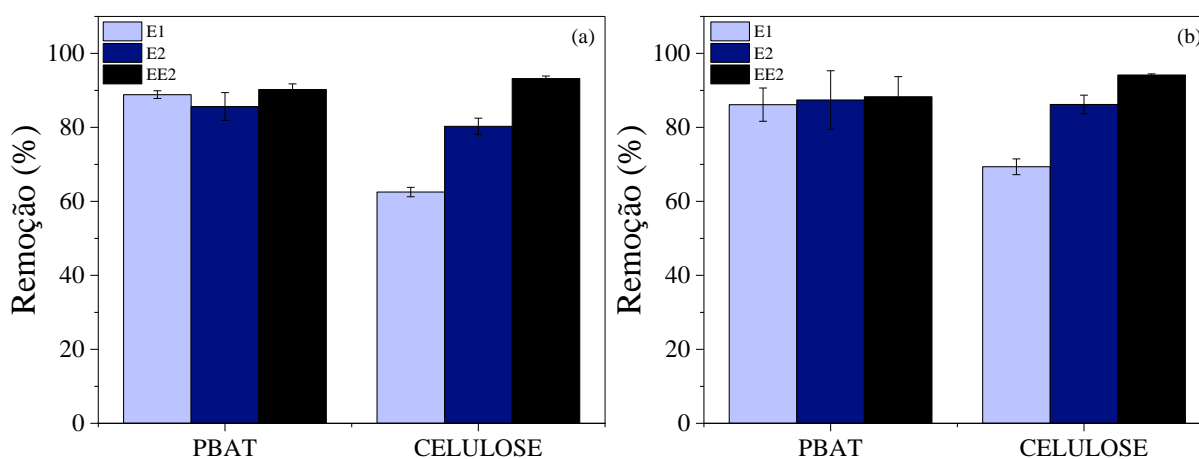


Figura 51. Remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 utilizando-se a membrana de PBAT e a membrana comercial de ésteres de celulose, em amostra padrão (a) e amostra real (b).

Tabela 10. Remoções máximas obtidas para os hormônios E1, E2 e EE2 utilizando as membranas poliméricas de PBAT e celulose, através da técnica de filtração, em amostra padrão e amostra de água superficial.

	Solução Padrão		Água superficial	
	PBAT	Celulose	PBAT	Celulose
E1	88,9 ± 1,0%	62,5 ± 1,3%	86,2 ± 4,5%	69,4 ± 2,1%
E2	85,6 ± 3,8%	80,3 ± 2,2%	87,4 ± 7,9%	86,2 ± 2,5%
EE2	90,3 ± 1,5%	93,2 ± 0,7%	88,3 ± 5,4%	94,2 ± 0,3%

Na literatura não foram encontradas aplicações da membrana comercial de ésteres mistos de celulose (nitrato/acetato) nem aplicações da membrana de PBAT produzida por eletrofiliação como membranas filtrantes para remoção de hormônios em amostras aquosas. Outros tipos de membranas de celulose foram estudados para remoção de desreguladores endócrinos, como pode ser observado na **Tabela 11**.

Tabela 11. Remoção de desreguladores endócrinos por membranas comerciais.

Membrana	Tipo	Desregulador Endócrino	Remoção (%)	Referências
CE-BWRO	Osiose reversa	Bisfenol A	10-40	238
CK-Osmonics	Nanofiltração	Estrona	< 48	239
PL-1	Ultrafiltração	Bisfenol A	20	21

No trabalho de Magro²¹, foi constatado que a remoção inicial do desregulador endócrino bisfenol A foi de 20%, no entanto, após o aumento do volume de amostra a remoção torna-se nula em 50 mL²¹. Embora não seja possível a comparação das membranas comerciais com a membrana de PBAT produzida neste trabalho, tendo em vista que os analitos estudados são diferentes, nota-se que, considerando os desreguladores endócrinos em geral, a membrana de PBAT pode ser considerada eficaz quando comparada a membranas comerciais. Deve-se levar em consideração o fato de que o custo da produção industrial de membranas comerciais é mais que o dobro do custo de produção para as membranas poliméricas produzidas por eletrofiliação, conforme constatado por Decostere²⁴⁰. Além disso, a membrana de PBAT é completamente biodegradável, portanto atende às necessidades de evitar a geração de resíduos e contaminação do meio ambiente²⁴¹. Diante disso, é possível observar que a membrana de PBAT, obtida neste trabalho, apresentou alta eficiência de remoção podendo ser utilizada como membrana de filtração na técnica de filtração por membrana para remoção dos hormônios estrona, 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol de soluções aquosas.

6. CONCLUSÃO

A caracterização das membranas poliméricas está de acordo com os resultados encontrados na literatura, onde a membrana de PA6 apresentou a formação de teias entre as fibras da membrana, característica hidrofílica, degradação completa em 473,3°C, picos característicos dos grupos amida na técnica de infravermelho e porosidade de 86,1%. A membrana de PCL apresentou a formação de *beads* e gotas, característica hidrofóbica, degradação completa em 392,6°C, a presença marcante da carbonila na técnica de infravermelho e porosidade de 17,7%. Por outro lado, a membrana de PLA também apresentou formação de *beads* e gotas, propriedade hidrofóbica, degradação completa em 342,2°C, picos característicos do grupo éster e porosidade de 11,4%. Por fim, a membrana de PBAT apresentou fibras mais uniformes e formação de poucos *beads*, degradação completa em 390,0°C, picos característicos do grupo éster e porosidade de 6,5%.

As membranas de PCL e PBAT foram consideradas como as mais eficazes na técnica de SME, com remoções de 44-71%. Para a técnica de filtração por membrana, os maiores valores de remoção foram obtidos para a membrana de PBAT (82-91%). Diante disso, foi possível constatar que a técnica de filtração por membrana foi mais eficaz para a remoção de hormônios presentes em soluções aquosas. Para a otimização da técnica de filtração por membrana, obteve-se que a proporção 45% ACN e 55% água foi a mais eficaz para recuperação dos hormônios E1, E2 e EE2. A membrana de PBAT mostrou alta eficácia como membrana de filtração em uma amostra de água superficial do Lago Guaíba com adição de padrão contendo 1,5 mg L⁻¹ de cada um dos hormônios E1, E2 e EE2, bem como no processo de dessorção.

Comparando-se a membrana de PBAT produzida neste trabalho com uma membrana comercial de acetato de celulose, foi possível constatar que as duas membranas apresentaram a mesma eficácia de remoção dos hormônios E2 e EE2. No entanto, para o hormônio E1, a membrana de PBAT foi considerada mais eficaz do que a membrana de celulose, quando submetidas ao processo de filtração por membrana. No entanto, a membrana de PBAT possui algumas vantagens como o fato de poder ser reutilizada, ser completamente biodegradável e o custo da sua produção ser menor do que o custo de produção das membranas comerciais. A técnica de filtração por membrana, empregada neste trabalho mostrou-se eficaz para remoção dos hormônios de amostras aquosas, sendo realizada de uma forma rápida e simples. Diante destes

aspectos, a membrana de PBAT produzida neste trabalho apresentou excelente capacidade de remoção dos hormônios estudados em soluções aquosas, podendo ser aplicada para remoção dos hormônios E1, E2 e EE2 em amostras de reais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PETROVIC, M.; HERNANDO, M.D.; DÍAZ-CRUZ, M.S.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *J. Chromatogr. A*, **2005**, *1067*, 1-14.
2. WELLS, M.J.M.; FONON, L.J.; PELLEGRIN, M.L.; MORSE, A. Emerging Pollutants. *Water Environ. Res.*, **2007**, *79*, 2192-2209.
3. GAFFNEY, V.J.; CARDOSO, V.V.; RODRIGUES, A.; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M.J.; ALMEIDA, C.M.M. Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS. *Quím. Nova*, **2014**, *37*, 138-149.
4. DAUGHTON, C. G.; TERNES, T. A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.*, **1999**, *107*, 907-938.
5. WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals, **2012**, Suíça, 30 p.
6. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. e NIEMAN, T. A. Princípios de análise instrumental, **2002**, 5ª Ed, Porto Alegre: Bookman, 836 p.
7. SHISHOV, A.; SVIRIDOV, I.; TIMOFEEVA, I.; CHIBISOVA, N.; MOSKVIN, L.; BULATOV, A. An effervescence tablet-assisted switchable solvent-based microextraction: On-site preconcentration of steroid hormones in water samples followed by HPLC-UV determination. *J. Mol. Liq.*, **2017**, *247*, 246-253.
8. ALMEIDA, C.; NOGUEIRA, J.M.F. Determination of steroid sex hormones in real matrices by bar adsorptive microextraction (BA μ E). *Talanta*, **2015**, *136*, 145-154.
9. ROZAINI, M.N.H.; YAHAYA, N.; SAAD, B.; KAMARUZAMAN, S.; HANAPI, N.S.M. Rapid ultrasound assisted emulsification micro-solid phase extraction based on molecularly imprinted polymer for HPLC-DAD determination of bisphenol A in aqueous matrices. *Talanta*, **2017**, *171*, 242-249.
10. WANG, L.; ZHANG, Z.; XU, X.; ZHANG, D.; WANG, F.; ZHANG, L. Simultaneous determination of four trace level endocrine disrupting compounds in environmental samples by solid-phase microextraction coupled with HPLC. *Talanta*, **2015**, *142*, 97–103.

11. WIRASNITA, R.; MORI, K.; TOYAMA, T. Effect of activated carbon on removal of four phenolic endocrine-disrupting compounds, bisphenol A, bisphenol F, bisphenol S, and 4-tert-butylphenol in constructed wetlands. *Chemosphere*, **2018**, *210*, 717-725.
12. ZHU, Y.; WEI, J.; ZHANG, H.; LIU, K.; KONG, Z.; DONG, Y.; JIN, G.; TIAN, J.; QIN, Z. Fabrication of composite membrane with adsorption property and its application to the removal of endocrine disrupting compounds during filtration process. *Chem. Engin. J.*, **2018**, *352*, 53-63.
13. SI, X.; HU, Z.; DING, D.; FU, X. Effects of effluent organic matters on endocrine disrupting chemical removal by ultrafiltration and ozonation in synthetic secondary effluent. *J. Environ Sci.*, **2019**, *76*, 57-64.
14. LEECH, D.M.; SNYDER, M.T.; WETZEL, R.G. Natural organic matter and sunlight accelerate the degradation of 17 α -estradiol in water. *Sci. Total Environ.*, **2009**, *407*, 2087-2092.
15. BOUTAMINE, Z.; HAMDAOUI, O.; MEROUANI, S. Sonochemical and Photosonochemical Degradation of Endocrine Disruptor 2-phenoxyethanol in Aqueous Media. *Sep. Purif. Technol.*, **2018**, *206*, 356-364.
16. BOUTAMINE, Z.; HAMDAOUI, O.; MEROUANI, S. Probing the radical chemistry and the reaction zone during the sono-degradation of endocrine disruptor 2-phenoxyethanol in water. *Ultrason. Sonochem.*, **2018**, *41*, 521-526.
17. QUEIROZ, S.C.N.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluídos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Quím. Nova*, **2001**, *24*, 68-76.
18. GELLER, A.M. Preparação de sílica funcionalizada a base de zircônia e estudos de adsorção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e pesticidas. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, **2003**, 107 p.
19. ROVANI, S.; CENSI, M.T.; JUNIOR, S.L.P.; LIMA, E.C.; CATALUÑA, R.; FERNANDES, A.N. Development of a new adsorbent from agro-industrial waste and its potential use in endocrine disruptor compound removal. *J. Hazard. Mater.*, **2014**, *271*, 311-320.
20. XU, Q.; WU, S.; WANG, M.; YIN, X.Y.; WEN, Z.Y.; GE, W.N.; GU, Z.Z. Electrospun nylon 6 nanofibrous membrane as SPE adsorbent for the enrichment

- and determination of three estrogens in environmental water samples. *Chromatographia*, **2010**, *71*, 487-492.
21. MAGRO, R.D. Remoção de bisfenol A de águas contaminadas através de processos de separação por membranas e de sorção. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, **2013**, 132 p.
 22. DEITZEL, J.M.; LEINMEYER, J.; HARRIS, D.; TAN, N.C.B. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, **2001**, *42*, 261-272.
 23. DOSHI, J.; RENEKER, D.H. Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *J. Electrostat.*, **1995**, *35*, 151-160.
 24. CHIGOME, S.; TORTO, N. Electrospun nanofiber-based solid-phase extraction. *Trends Anal. Chem.*, **2012**, *38*, 21-31.
 25. THAVASI, V.; SINGH, G.; RAMAKRISHNA, S. Electrospun nanofibers in energy and environmental applications. *Energy Environ. Sci.*, **2008**, *1*, 205-221.
 26. WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Progress on sanitation and drinking-water, **2013**, Suíça, 78 p.
 27. SNIS (Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento). Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos, **2015**, Brasília: SNSA/MCIDADES, 212 p.
 28. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/27032002pnsb.shtml>>. Acesso em Agosto de 2017.
 29. FILHO, M.A. Potável, porém contaminada, *Jornal da Unicamp*, 3, **2012**. Disponível em <<http://www.unicamp.br/unicamp/ju/527/pot%C3%A1vel-por%C3%A9m-contaminada>>. Acesso em Agosto de 2017.
 30. ONTARIO – MINISTRY OF LABOUR – Disponível em <https://www.labour.gov.on.ca/english/hs/pubs/oel_table.php>. Acesso em 07 de Agosto de 2017.
 31. USGS – UNITED STATES GEOLOGICAL SURVEY – Disponível em <<https://toxics.usgs.gov>>. Acesso em 07 de Agosto de 2017.
 32. CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J.M.; LLOMPART, M.; GARCÍA-JARES, C.; RODRÍGUEZ, I.; GÓMEZ, M.; TERNES, T. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research*, **2004**, *38*, 2918-2926.

33. NORMAN (Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances). Emerging substances - List of Emerging Substances latest update February 2016, **2016**. Disponível em <<http://www.norman-network.net>>. Acesso em Julho de 2017.
34. GHISELLI, G.; JARDIM, W.F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Quím. Nova*, **2007**, *30*, 695-706.
35. HOENICKE, R.; OROS, D.R.; ORAM, J.J.; TABERSKI, K.M. Adapting an ambient monitoring program to the challenge of managing emerging pollutants in the San Francisco Estuary. *Environ. Res.*, **2007**, *105*, 132-144.
36. POYNTON, H.C.; VULPE, C.D. Ecotoxicogenomics: emerging technologies for emerging contaminants. *J. Am. Water Resour. Assoc.*, **2009**, *45*, 83-96.
37. JANNA, H. Occurrence and Removal of Emerging Contaminants in Wastewaters. Tese (Doutorado em Filosofia em Engenharia Ambiental). Brunel University London. Londres, **2011**, 194 p.
38. SAKAN, S.; OSTOJIĆ, B.; ĐORĐEVIĆ, D. Persistent organic pollutants (POPs) in sediments from river and artificial lakes in Serbia. *J. Geochem. Explor.*, **2017**, *180*, 91-100.
39. HAN, D.; CURRELL, M.J. Persistent organic pollutants in China's surface water systems. *Sci. Total Environ.*, **2017**, *580*, 602-625.
40. HUNG, H., KATSOYIANNIS, A.A., GUARDANS, R. Ten years of global monitoring under the Stockholm convention on persistent organic pollutants (POPs): trends, sources and transport modelling. *Environ. Pollut.*, **2016**, *217*, 1-3.
41. NANES, J.A.; XIA, Y.; DASSANAYAKE, R.M.A.P.S.; JONES, R.M.; LI, A.; STODGELL, C.J.; WALKER, C.K.; SZABO, S.; LEUTHNER, S.; DURKIN, M.S.; MOYE, J.; MILLER, R.K. Selected persistent organic pollutants in human placental tissue from the United States. *Chemosphere*, **2014**, *106*, 20-27.
42. POLDER, A., THOMSEN, C., LINDSTRÖM, G., LØKEN, K.B., SKAARE, J.U. Levels and temporal trends of chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in individual human breast milk samples from Northern and Southern Norway. *Chemosphere*, **2008**, *73*, 14-23.
43. HAINES, D.A.; KHOURY, C.; SARAVANABHAVAN, G.; WERRY, K.; WALKER, M.; MALOWANY, M. Human biomonitoring reference values derived for persistent organic pollutants in blood plasma from the Canadian

- Health Measures Survey 2007–2011. *Int. J. Hygiene Environ. Health*, **2017**, *220*, 744-756.
44. TORRES, E.M.; Hessa, D.; McNeila, B.T., Guyb, T.; Quinn, J.C. Impact of inorganic contaminants on microalgae productivity and bioremediation potential. *Ecotox. Environ. Safe.*, **2017**, *139*, 367-376.
 45. TERNES, T.; MEISENHEIMER, M.; MCDOWELL, D.; SACHER, F.; BRAUCH, H.J.; HAIST-GULDE, B.; PREUSS, G.; WILME, U.; ZULEI-SEIBERT, N. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.*, **2002**, *36*, 3855-3863.
 46. REDDERSEN, K.; HEBERER, T.; DUNNBIER, U. Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground- and drinking water. *Chemosphere*, **2002**, *49*, 539-544.
 47. USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, Endocrine Disruptor Screening Program: second list of chemicals for tier 1 screening. Disponível em: <<https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPPT-2009-0477-0074>>. Acesso em: 23 de Outubro de 2018.
 48. AL-JANDAL, N.; SAEED, T.; AZAD, I.; AL-SUBIAI, S.; AL-ZEKRI, W.; HUSSAIN, S.; AL-HASAN, E., Impact of endocrine disrupting compounds in sewage impacted coastal area on seabream. *Ecotox. Environ. Safe.*, **2018**, *150*, 280-288.
 49. PERES, M.R. Remoção dos interferentes endócrinos 17 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol e 4-nonilfenol por adsorção em carvão ativado em pó em água de abastecimento público. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Civil), Campinas, **2011**, 151 p.
 50. WU, T., HONG, B., WU, X., WU, J., WANG, X., YI, Z., ZHAO, J., ZHAN, M., MAI, B., Persistent halogenated compounds in captive Chinese alligators (*Alligator sinensis*) from China. *Chemosphere*, **2014**, *110*, 23-30.
 51. HAYES, T., HASTON, K., TSUI, M., HOANG, A., HAEFFELE, C., VONK, A., Atrazine induced hermaphroditism at 0.1 ppb in american leopard frogs (*Rana pipiens*): laboratory and field evidence. *Environ. Health Perspect.*, **2003**, *111*, 568-575.
 52. BAUNMANN, L., KNORR, S., KEITER, S., NAGEL, T., REHBERGER, K., VOLZ, S., OBERRAUCH, S., SCHILLER, V., FENSKE, M., HOLBECH, H., SEGNER, H., BRAUNBECK, T. Persistence of endocrine disruption in zebrafish

- (Danio rerio) after discontinued exposure to the androgen 17 β -trenbolone. *Environ. Toxicol. Chem.*, **2014**, *33*, 2488-2496.
53. ÖRN, S., YAMANI, S., NORRGREN, L. Comparison of vitellogenin induction, sex ratio, and gonad morphology between zebrafish and Japanese medaka after exposure to 17 α -ethinylestradiol and 17 β -trenbolone. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **2006**, *51*, 237-243.
54. STANFORD, B.D.; SNYDER, S.A.; TRENHOLM, R.A.; HOLADY, J.C.; VANDERFORD, B.J., Estrogenic activity of U.S. drinking waters: a relative exposure comparison. *J. Am. Water Works Assoc.*, **2010**, *102*, 55-65.
55. BOTTONI, P.; CAROLI, S.; CARACCILOLO, A.B., Pharmaceuticals as priority water contaminants. *Toxicol. Environ. Chem.*, **2010**, *92*, 549-565.
56. AQUINO, S.F.; EMANUEL M. F.; BRANDT, E.M.F.; CARLOS A. L.; CHERNICHARO, C.A.L., Destino e mecanismos de remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, **2013**, *18*, 5-9, 2013.
57. LIMA, D.R.S.; TONUCCI, M.C., LIBÂNIO, M.; DE AQUINO, S.F. Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. *Eng. Sanit. Ambient.*, **2017**, *22*, 1043-1054.
58. RAIMUNDO, C.C.M. Contaminantes Emergentes em água tratada e seus mananciais: sazonalidade, remoção e atividade estrogênica. Tese de Doutorado (Doutorado em Química), Campinas, **2011**, 203 p.
59. MIERZWA, J.C.; AQUINO, S.F.; VERAS, L.R.V. Remoção de Desreguladores Endócrinos. In: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, Edital 5 (PROSAB 5). Remoção de microorganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano, Ed. ABES, Belo Horizonte, **2009**, 251-291.
60. BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Quím.Nova*, **2007**, *30*, 651-666.
61. LIU, Z.H., LU, G.N., YIN, H., DANG, Z., RITTMANN, B., Removal of natural estrogens and their conjugates in municipal wastewater treatment plants: a critical review. *Environ. Sci. Technol.*, **2015**, *49*, 5288-5300.
62. FILHO, R. W. R.; VIEIRA, J. C. DE A. E. M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. *Quím. Nova*, **2006**, *29*, 817-822.

63. MACHADO, K. S. Determinação de hormônios sexuais femininos na Bacia do Alto Iguaçu, região metropolitana de Curitiba-PR. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídrico e Ambientais), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2010**, 116 p.
64. LOPES, L. G., MARCHI, M. R. R, SOUZA, J. B. G. S, MOURA, J. A., Hormônios Estrogênicos no Ambiente e Eficiência das Tecnologias de Tratamento para Remoção em Água e Esgoto. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, **2008**, *13*, 123-131.
65. IKEHATA, K.; NAGHASHKAR, N.J.; EL-DIN, M.G. Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes, A review. *Ozone Sci. Eng.*, **2006**, *28*, 353-414.
66. D'ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; GENTILI, A.; MANCINI, R.; MASTROPASQUA, R.; NAZZARI, M.; SAMPERI, R. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ.*, **2003**, *302*, 199-209.
67. RODRIQUEZ-MOZAZ, S.; DE ALDA, M.J.L.; BARCELÓ, D. Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction–liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **2004**, *1045*, 85-92.
68. RODRIQUEZ-MOZAZ, S.; DE ALDA, M.J.L.; BARCELÓ, D., Picogram per liter level determination of estrogens in natural water and waterworks by a fully automated on-line solid-phase extraction–liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry method. *Anal. Chem.*, **2004**, *76*, 6998-7006.
69. YING, G.-G.; KOOKANA, R.S.; KUMAR, A.; MORTIMER, M. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queensland. *Sci. Total Environ.*, **2009**, *407*, 5147-5155.
70. YING, Y.; KOOKANA, R.S.; RU, Y. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environ. Intern.*, **2002**, *28*, 545-551.
71. BOWMAN, J.C.; READMAN, J.W.; ZHOU, J.L. Sorption of the Natural Endocrine Disruptors, Oestrone and 17 β -Oestradiol in the Aquatic Environment. *Environ. Geochem. Health*, **2003**, *25*, 63-67.
72. HOLTHAUS, K.I.E.; JOHNSON, A.C.; JÜRGENS, M.D.; WILLIAMS, R.J.; SMITH, J.J.L.; CARTER, J.E. The potential for estradiol and ethinylestradiol to

- sorb to suspended and bed sediments in some English rivers. *Environ. Toxicol. Chem.*, **2002**, *21*, 2526-2535.
73. JOHNSON, A.C.; SUMPTER, J.P. Removal of Endocrine-Disrupting Chemicals in Activated Sludge Treatment Works. *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, *35*, 4697-4703.
 74. COLEMAN, H.M.; TROESTER, M.; KHAN, S.J.; MCDONALD, J.A.; WATKINS, G.; STUETZ, R.M. Assessment of trace organic chemical removal by a membrane bioreactor using gas chromatography/mass spectrometry and a yeast screen bioassay. *Environ. Toxicol. Chem.*, **2009**, *28*, 2537-2545.
 75. AURIOL, M.; FILALI-MEKNASSI, Y.; TYAGI, R.D.; ADAMS, C.D. Laccase-catalyzed conversion of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater. *Water Research*, **2007**, *41*, 3281-3288.
 76. BODZEK, M.; DUDZIAK, M. Elimination of steroidal sex hormones by conventional water treatment and membrane processes. *Desalination*, **2006**, *198*, 24-32.
 77. GAO, R; SU, X.; HE, X.; CHEN, L.; ZHANG, Y. Preparation and characterisation of core-shell CNTs@MIPs nanocomposites and selective removal of estrone from water samples. *Talanta*, **2011**, *83*, 757-764.
 78. CHOWDHURY, R.R.; CHARPENTIER, P.; RAY, M.B. Photodegradation of Estrone in Solar Irradiation. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2010**, *49*, 6923-6930.
 79. TERNES, T.A.; STÜBER, J.; HERRMANN, N.; MCDOWELL, D.; RIED, A.; KAMPMANN, M.; TEISER, B. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Research*, **2003**, , 1976-1982.
 80. ADEEL, M.; SONG, X.; WANG, Y.; FRANCIS, D.; YANG, Y. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environ. Intern.*, **2017**, *99*, 107-119.
 81. LOOSE-MITCHELL, D.S.; STANCEL, G.M. Estrogênios e Progestogênios. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. Goodman e Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica, Tradução da 10ª ed. Original, Carla de Mello Vorsatz et al., 10ª ed., Ed. McGraw-Hill, Cap. 58, **2005**, 1201-1229.
 82. ZHAO, J.L.; YING, G.G., WANG, L.; YANG, J.F.; YANG, X.B.; YANG, L.H.; LI, X. Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gas

- chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry. *Sci. Total Environ.*, **2009**, *407*, 962-974.
83. URAIPONG, C.; ALLAN, R.D.; LI, C.; KENNEDY, I.R.; WONG, V.; LEE, N.A. 17 β -Estradiol residues and estrogenic activities in the Hawkesbury River, Australia. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, **2018**, *164*, 363-369.
 84. KOLPIN, D.W.; FURLONG, E.T.; MEYER, M.T.; THURMAN, E.M.; ZAUGG, S.D.; BARBER, L.B.; BUXTON, H.T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, **2002**, *36*, 1202-1211.
 85. HASHIMOTO, S.; HORIUCHI, A.; YOSHIMOTO, T.; NAKAO, M.; OMURA, H.; KATO, Y.; TANAKA, H.; KANNAN, K.; GIESY, J. Horizontal and vertical distribution of estrogenic activities in sediments and waters from Tokyo Bay. *Japan. Arch. Environ. Con. Tox.*, **2005**, *48*, 209-216.
 86. LABADIE, P.; HILL, E.M. Analysis of estrogens in river sediments by liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry: comparison of tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **2007**, *1141*, 174-181.
 87. TEIXEIRA, R.B.; MARQUES, C.A.; DE CARVALHO, N.R.; GOMES, L.E.T.; DA SILVA, F.T.; DE PAIVA, T.C.B. Determinação de hormônios estrogênicos em esgoto bruto e efluente de uma estação descentralizada de tratamento por lodos ativados. *Rev. Ambient. Água*, **2018**, *13*, 1-10.
 88. MAGI, E.; SCAPOLLA, C.; DI CARRO, M.; LISCI, C. Determination of endocrine-disrupting compounds in drinking waters by fast liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **2010**, *45*, 1003-1011.
 89. DUAN, Q.; LI, X.; WU, Z.; ALSAEDI, A.; HAYAT, T.; CHEN, C.; LI, J. Adsorption of 17 β -estradiol from aqueous solutions by a novel hierarchically nitrogen-doped porous carbon. *J. Colloid Interface Sci.*, **2019**, *533*, 700-708.
 90. WANG, S.; WANG, X.; LI, C.; XU, X.; WEI, Z.; WANG, Z.; QU, R. Photodegradation of 17 β -estradiol on silica gel and natural soil by UV treatment. *Environ. Pollut.*, **2018**, *242*, 1236-1244.
 91. SUIDAN, M.T.; ESPERANZA, M.; ZEIN, M.; MCCAULEY, P.; BRENNER, R.C.; VENOSA, A.D. Challenges in biodegradation of trace organic contaminants - Gasoline oxygenates and sex hormones. *Water Environ. Res.*, **2005**, *77*, 4-11.

92. FERNANDES, H.; JUNGLES, M.K.; HOFFMANN, H.; ANTONIO, R.V.; COSTA, R.H.R. Full-scale sequencing batch reactor (SBR) for domestic wastewater: Performance and diversity of microbial communities. *Bioresour. Technol.*, **2013**, *132*, 262-68.
93. VYMAZAL, J.; BŘEZINOVÁ, T.; KOŽELUH, M. Occurrence and removal of estrogens, progesterone and testosterone in three constructed wetlands treating municipal sewage in the Czech Republic. *Sci. Total Environ.*, **2015**, *536*, 625-631.
94. GUEDES, P.; MAGRO, C.; COUTO, N.; MOSCA, A.; MATEUS, E.P.; RIBEIRO, A.B. Potential of the electrodialytic process for emerging organic contaminants remediation and phosphorus separation from sewage sludge. *Electrochim. Acta*, **2015**, *181*, 109-117.
95. AMIN, M.M.; BINA, B.; EBRAHIMI, A.; YAVARI, Z.; MOHAMMADI, F.; RAHIMI, S. The occurrence, fate, and distribution of natural and synthetic hormones in different types of wastewater treatment plants in Iran. *Chin. J. Chem. Engin.*, **2018**, *26*, 1132-1139.
96. FEI, Y-H.; LEUNG, K.M.Y.; LI, X-Y. Adsorption of 17 α -ethyl estradiol with the competition of bisphenol A on the marine sediment of Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*, **2017**, *124*, 753-759.
97. MARTÍNEZ, N.A.; SCHNEIDER, R.J.; MESSINA, G.A.; RABA, J. Modified paramagnetic beads in a microfluidic system for the determination of ethinylestradiol (EE2) in river water samples. *Biosens. Bioelectron.*, **2010**, *25*, 1376-1381.
98. SCALA-BENUZZI, M.L.; TAKARA, E.A.; ALDERETE, M.; SOLER-ILLIA, G.J.A.A.; SCHNEIDER, R.J.; RABA, J.; MESSIN, G.A. Ethinylestradiol quantification in drinking water sources using a fluorescent paper based immunosensor. *Microchem. J.*, **2018**, *141*, 287-293.
99. GRZYBOWSKI, W.; SZYDŁOWSKI, J. The impact of chromophoric dissolved organic matter on the photodegradation of 17 α -ethinylestradiol (EE2) in natural waters. *Chemosphere*, **2014**, *111*, 13-17.
100. CLOUZOT, L.; DOUMENQ, P.; VANLOOT, P.; ROCHE, N.; MARROT, B. Membrane bioreactors for 17-ethinylestradiol removal. *J.Membrane Sci.*, **2010**, *362*, 81-85.

101. WANG, L.; LIU, L.; ZHANG, Z.; ZHAO, B.; LI, J.; DONG, B.; LIU, N. 17 α -Ethinylestradiol removal from water by magnetic ion exchange resin. *Chin. J. Chem. Engin.*, **2018**, *26*, 864-869.
102. LARCHER, S.; YARGEAU, V. Biodegradation of 17 α -ethinylestradiol by heterotrophic bacteria. *Environ. Pollut.*, **2013**, *173*, 17-22.
103. EUROPEAN COMMISSION (EC). Technical Guidance Document (TGD) in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment of New Notified Substances and Commission Regulation (EC) N $^{\circ}$. 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances - Part II. Comissão Europeia, 2 $^{\text{a}}$ Ed., Itália, **2003**, 337 p.
104. WORTH, A.P.; VAN LEEUWEN, C.J.; HARTUNG, T. The prospects for using (Q)SARs in a changing political environment--high expectations and a key role for the european commission's joint research centre. *Environ. Res.*, **2013**, *15*, 331-343.
105. VAN DER JAGT, K.; MUNN, S.; TØRSLØV, J.; DE BRUIJN, J.; 2004. Alternative approaches can reduce the use of test animals under REACH. EC Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection, ECB, Itália, **2004**, 31 p.
106. REUSCHENBACH, P.; SILVANI, M.; DAMMANN, M.; WARNECKE, D.; KNACKER, T. ECOSAR model performance with a large test set of industrial chemicals. *Chemosphere*, **2008**, *71*, 1986-1995.
107. MAYO-BEAN, K.; MORAN, K.; MEYLAN, B.; RANSLOW, P. Methodology Document for the ECOlogical Structure-Activity Relationship Model (ECOSAR) Class Program - Estimating toxicity of industrial chemicals to aquatic organisms using the ECOSAR (Ecological Structure Activity Relationship) class program, **2012**, 46 p.
108. SANDERSON, H.; BRAIN, R.A.; JOHNSON, D.J.; WILSON, C.J.; SOLOMON, K.R. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. *Toxicology*, **2004**, *203*, 27-40.
109. JUDSON, R.S.; FRIEDMAN, K.P.; HOUCK, K.; MANSOURI, K.; BROWNE, P.; KLEINSTREUER, N.C. New Approach Methods for Testing Chemicals for Endocrine Disruption Potential. *Curr. Opin. Toxicol.*, **2018**, *9*, 40-47.

110. YANGALI-QUINTANILLA, V.; SADMANI, A.; MCCONVILLE, M.; KENNEDY, M.; AMY, G. A QSAR model for predicting rejection of emerging contaminants (pharmaceuticals, endocrine disruptors) by nanofiltration membranes. *Water Research*, **2010**, *44*, 373-384, 2010.
111. JARDIM, I.C.S.F. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. *Sci. Chromatogr.*, **2010**, *2*, 13-25.
112. CALDAS, S.S.; GONÇALVES, F.F.; PRIMEL, E.G. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. *Quím. Nova*, **2011**, *34*, 1604-1617.
113. KATAOKA, H. New trends in sample preparation for clinical and pharmaceutical analysis. *Trends Anal. Chem.*, **2003**, *22*, 232-244.
114. LANÇAS, F. M. Extração em Fase Sólida (SPE). 4ª Ed, São Carlos: Rima Editora, **2004**, 96 p.
115. SUN, S.; CHEN, Y.; LIN, Y.; AN, D. Occurrence, spatial distribution, and seasonal variation of emerging trace organic pollutants in source water for Shanghai, China. *Sci. Total Environ.*, **2018**, *639*, 1-7.
116. TIZAOUI, C.; FREDJ, S.B.; MONSER, L. Polyamide-6 for the removal and recovery of the estrogenic endocrine disruptors estrone, 17 β -estradiol, 17 α -ethinylestradiol and the oxidation product 2-hydroxyestradiol in water. *Chem. Engin. J.*, **2017**, *328*, 98-105.
117. SHAMMALA, F.A. Effect of surfactant loading on the extraction properties of C-18 bonded silica used for solid-phase extraction of phenols. *Anal. Lett.*, 1999, *32*, 3083-3110.
118. PŁOTKA-WASYLKA, J.; OWCZAREK, K.; NAMIESNIK, J. Modern solutions in the field of microextraction using liquid as a medium of extraction. *Trends Anal. Chem.*, **2016**, *85*, 46-64.
119. CHIGOME, S.; DARKO, G.; BUTTNER, G.; TORTO, N. Semi-micro solid phase extraction with electrospun polystyrene fiber disks, *Anal. Methods*, **2010**, *2*, 623–626.
120. CLEMENTE, A.R.; ARRIETA, E.L.C.; MESA, G.A.P. Procesos de tratamiento de aguas residuales para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes. *Rev. Ambient. Água*, **2013**, *8*, 93-103.

121. SCHENEIDER, R.P.; TSUTIYA, M.T. Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reuso. 1º Ed. São Paulo: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária Ambiental, **2001**, 324 p.
122. YAMAMOTO, K.; URASE, T. Membrane Technology in Environmental Management, *Water Science and Technology*, **2000**, 41, 383.
123. KOYUNCU, I.; ARIKAN, O.A.; WIESNER, M.R.; RICE, C. Removal of hormones and antibiotics by nanofiltration membranes. *J. Membrane Sci.*, **2008**, 309, 94-101.
124. AHMAD, A.L.; TAN, L.S.; SHUKOR, S.R. The role of pH in nanofiltration of atrazine and dimethoate from aqueous solution. *J. Hazard. Mater.*, **2008**, 154, 633-638.
125. ZHANG, Y.; BRUGGEN, V.; CHEN, X.; BRAEKEN, L.; VANDECASTEELE, C. Removal of pesticides by nanofiltration: effect of the water matrix. *Sep. Purif. Technol.*, **2004**, 38, 163-172.
126. GALLENKEMPER, M.; WINTGENS, T.; MELIN, T. Nanofiltration of endocrine disrupting compounds. *Water Science and Technology*, **2003**, 321-327.
127. WEBER, S.; GALLENKEMPER, M.; MELIN, T. DOTT, W.; HOLLENDER, J. Efficiency of nanofiltration for the elimination of steroids from water. *Water Science and Technology*, **2004**, 50, 9-14.
128. HUANG, Z.M.; ZHANG, Y.Z.; KOTAKI, M.; RAMAKRISHNA, S. A Review On Polymer Nanofibers by Electrospinning And Their Applications In Nanocomposites. *Compos. Sci. Technol.*, **2003**, 63, 2223-2253.
129. SATO, J.A.P. Fabricação e Caracterização de Sistemas Poliméricos Nanoestruturados Obtidos por Meio do Uso da Técnica De Eletrofiação. Dissertação (Mestrado em Nanociências e Materiais Avançados), Universidade Federal do ABC, Santo André, **2011**, 109p.
130. COLLINS, G.; FEDERICI, j.; IMURA, Y.; CATALANI, L.H. Charge generation, charge transport, and residual charge in the electrospinning of polymers: A review of issues and complications. *J. Appl. Phys.*, **2012**, 111, 1 -18.
131. RAGHAVAN, P.; LIM, D-H.; AHN, J-H.; NAH, C.; SHERRINGTON, D.C.; RYU, H-S.; AHN, H-J. Electrospun polymer nanofibers: The booming cutting edge technology. *React. Funct. Polym.*, **2012**, 72, 915-930.

132. PANTHI, G.; Barakat, N.A.M.; Park, M.; Kim, H-Y.; Park, S-J. Fabrication of PdS/ZnS NPs doped PVAc hybrid electrospun nanofibers: Effective and reusable catalyst for dye photodegradation. *J. Ind. Eng. Chem.*, **2015**, *21*, 298-302.
133. WANNATONG, L.; SIRIVAT, A.; SUPAPHOL, P. Effects of Solvents on Electrospun Polymeric fibers: Preliminary Study On Polystyrene. *Polymer International*, **2004**, *53*, 1851-1859.
134. COSTA, R. G. F.; OLIVEIRA, J. E.; PAULA, G. F.; PICCIANI, P. H. S.; MEDEIROS, E. S.; MATTOSO, L. H. C.; RIBEIRO, C. Eletrofição de Polímeros em Solução - Parte I: Fundamentação Teórica. *Polímeros*, **2012**, *22*, 170-177.
135. BAJI, A.; MAI, Y.W.; WONG, S.C.; ABTAHI, M.; CHEN, P. Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties. *Compos. Sci. Technol.*, **2010**, *70*, 703-718.
136. WANG, M.; JIN, H.J.; KAPLAN, D.L.; RUTLEDGE, G.C. Mechanical Properties of Electrospun Silk Fibers. *Macromolecules*, **2004**, *37*, 6856-6864.
137. SILL, T.J.; RECUM, H.A. Electrospinning: Applications In Drug Delivery And Tissue Engineering. *Biomaterials*, **2008**, *29*, 1989-2006.
138. KULKARNI, A.; BAMBOLE, V.A.; MAHANWAR, P.A. Electrospinning of Polymers, Their Modeling and Applications. *Polym.-Plast. Technol. Eng.*, 2010, *49*, 427-441.
139. MEDEIROS ES, GLENN GM, KLAMCZYNSKI AP, ORTS WJ, MATTOSO LHC. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2009, *113*, 2322-2330.
140. FRENOT, A.; CHRONAKIS, I. Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.*, **2003**, *8*, 64-75.
141. NAYAK, N.; PADHYE, R.; KYRATZIS, I.L.; TRUONG, Y.B.; ARNOLD, L. Recent advances in nanofibre fabrication techniques. *Text. Res. J.*, **2011**, *82*, 129-147.
142. WANG, X.; HSIAO, B.S. Electrospun nanofiber membranes. *Curr. Opin. Chem. Eng.*, **2016**, *12*, 62-81.
143. VANRAES, P.; WILLEMS, G.; DAELS, N.; VAN HULLE, S.W.H.; DE CLERCK, K.; SURMONT, P.; LYNEN, F.; VANDAMME, J.; DURME, J.V.; NIKIFOROV, A.; LEYS, C. Decomposition of atrazine traces in water by

- combination of non-thermal electrical discharge and adsorption on nanofiber membrane, *Water Res.*, **2015**, *72*, 361-371.
144. PETER, K.T.; VARGO, J.D.; RUPASINGHE, T.P.; DE JESUS, A.; TIVANSKI, A.V.; SANDER, E.A.; MYUNG, N.V.; CWIERTNY, D.M. Synthesis, optimization, and performance demonstration of electrospun carbon nanofiber-carbon nanotube composite sorbents for point-of-use water treatment. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, *8*, 11431-11440.
 145. RAMALINGAM, M.; RAMAKRISHNA, S. Nanofiber Composites for Biomedical Applications, Ed. Woodhead Publishing, 1^a Ed., **2017**, 564 p.
 146. PRABHAKARAN, M.P.; VENUGOPAL, J.R.; CHYAN, T.T.; HAI, L.B.; CHAN, C.K.; LIM, A.Y.; RAMAKRISHNA, S. Electrospun Biocomposite Nanofibrous Scaffolds for Neural Tissue Engineering. *Tissue Eng.: Part A*, **2008**, *14*, 1787-1797.
 147. PAGE, I.B. Polyamides as Engineering Thermoplastic Materials, 11, Ed. Rapra Technology LTDA, Shawbury, **2000**, 129 p.
 148. KARAMI, P.; SHOJAEI, A. Improvement of dry sliding tribological properties of polyamide 6 using diamond nanoparticles. *Tribol. Int.*, **2017**, *115*, 370-377.
 149. MEDEIROS, K.M.; ARAÚJO, E.M.; LIRA, H.L.; LIMA, D.F.; DE LIMA, C.A.P. Hybrid Membranes of Polyamide Applied in Treatment of Waste Water. *Mater. Res.*, **2017**, *20*, 308-316.
 150. XUE, W.; XIAO, K.; LIANG, P.; HUANG, X. Roles of membrane and organic fouling layers on the removal of endocrine disrupting chemicals in microfiltration. *J. Environ. Sci.*, 2018, *xx*, xxx-xxx.
 151. HAN, J.; QIU, W.; HU, J.; GAO, W. Chemisorption of estrone in nylon microfiltration membranes: Adsorption mechanism and potential use for estrone removal from water. *Water Res.*, **2012**, *46*, 873-881.
 152. SONG, L.; YOU, Q.; LI, J.; CHENG, Q.; LIAO, G.; XIA, H.; WANG, D. Electrospun core-shell polyamide 6/chitosan-Fe₃O₄ composite fibers: An efficient and recyclable adsorbent for removal of antibiotic. *Mater. Lett.*, **2016**, *185*, 286-289.
 153. MARYŠKOVÁ, M.; ARDAO, I.; GARCÍA-GONZÁLEZ, C.A.; MARTINOVÁ, L.; ROTKOVÁ, J.; ALENA ŠEVCŮ. Polyamide 6/chitosan nanofibers as support for the immobilization of *Trametes versicolor* laccase for the elimination of endocrine disrupting chemicals. *Enzyme Microb. Technol.*, **2016**, *89*, 31-38.

154. DOTTO, G.L.; SANTOS, J.M.N.; TANABE, E.H.; BERTUOL, D.A.; FOLETTTO, E.L.; LIMA, E.C.; PAVAN, F.A. Chitosan/polyamide nanofibers prepared by Forcespinning® technology: A new adsorbent to remove anionic dyes from aqueous solutions. *J. Clean. Product.*, **2017**, *144*, 120-129.
155. GHASEMI-MOBARAKEH, L.; PRABHAKARAN, M.P.; MORSHED, M.; NASR-ESFAHANI, M.H.; RAMAKRISHNA, S. Bio-functionalized PCL nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C*, **2010**, *30*, 1129-1136.
156. CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*, **1998**, *23*, 1273-1335.
157. CUNHA, T.F. Aplicação do poli(ϵ -caprolactona) com estrutura estrelada para obtenção de microesferas biorreabsorvíveis. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, **2012**, 91 p.
158. MIDDLETON, J.C.; TIPTON, A.J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, **2000**, *21*, 2335-2346.
159. NG, K.W.; ACHUTH, H.N.; MOOCHHALA, S.; LIM, T.C.; HUTMACHE, D.W. In vivo evaluation of an ultra-thin polycaprolactone film as a wound dressing. *J. Biomat. Sci.*, **2007**, *18*, 925-938.
160. DHANARAJU, M.D.; GOPINATH, D.; AHMED, M.R.; JAYAKUMAR, R.; VAMSADHARA, C. Characterization of polymeric poly(ϵ -caprolactone) injectable implant delivery system for the controlled delivery of contraceptive steroids. *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **2006**, *76*, 63-72.
161. PINTO, M.R.F.; MARIANO, E.C.; ALBERTO-RINCON, M.C.; DUEK, E.A.R. Análise histológica da Blenda PLLA/PCL como prótese de menisco. *Ver. Matéria*, **2009**, *14*, 1162-1171.
162. ALANI, A.; KNOWLES, J.C.; CHRZANOWSKI, W.; NG, Y.L.; GULABIVALA, K. Ion release characteristics, precipitate formation and sealing ability of a phosphate glass-polycaprolactone-based composite for use as a root canal obturation material. *Dent. Mater.*, **2009**, *25*, 400-410.
163. WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer- Polycaprolactone in the 21st century. *Prog. Polym. Sci.*, **2010**, *35*, 1217-1256.
164. DA SILVA, L.G. Caracterização físico química e avaliação da liberação in-vitro dos conjugados poli(ϵ -caprolactona)/tetraciclina e poli(ϵ -caprolactona)/ácido

- etilsalicílico. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia), Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, **2012**, 87 p.
165. LI, P.; ZUO, J.; WANG, Y.; ZHAO, J.; TANG, L.; LI, Z. Tertiary nitrogen removal for municipal wastewater using a solidphase denitrifying biofilter with polycaprolactone as the carbon source and filtration médium. *Water Res.*, **2016**, *93*, 74-83.
 166. SEEMA, K.M.; MAMBA, B.B.; NJUGUNA, J.; BAKHTIZIN, R.Z.; MISHRA, A.K. Removal of lead (II) from aqueous waste using (CD-PCL-TiO₂) bio-nanocomposites. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2018**, *109*, 136-142.
 167. SARIOGLU, O.F.; SAN KESKIN, N.O.; CELEBIOGLU, A.; TEKINAY, T.; UYAR, T. Bacteria immobilized electrospun polycaprolactone and polylactic acid fibrous webs for remediation of textile dyes in water. *Chemosphere*, **2017**, *184*, 393-399.
 168. SAN MIGUEL, V.; PEINADO, C.; CATALINA, F.; ABRUSCI, C. Bioremediation of naphthalene in water by *Sphingomonas paucimobilis* using new biodegradable surfactants based on poly (3-caprolactone). *Intern. Biodet. Biodeg.*, **2009**, *63*, 217-223.
 169. SHEN, Z.; ZHOU, Y.; LIU, J.; XIAO, Y.; CAO, R.; WU, F. Enhanced removal of nitrate using starch/PCL blends as solid carbon source in a constructed wetland. *Bioresour. Technol.*, **2015**, *175*, 239-244.
 170. SCAFFARO, R.; LOPRESTI, F.; CATANIA, V.; SANTISI, S.; CAPPELLO, S.; BOTTA, L.; QUATRINI, P. Polycaprolactone-based scaffold for oil-selective sorption and improvement of bacteria activity for bioremediation of polluted water - Porous PCL system obtained by leaching melt mixed PCL/PEG/NaCl composites: Oil uptake performance and bioremediation efficiency. *Eur. Polym. J.*, **2017**, *91*, 260-273.
 171. PRETULA, J.; SLOMKOWSKI, S.; PENCZEK, S. Polylactides - Methods of synthesis and characterization. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2016**, *107*, 3-16.
 172. CASTRO-AGUIRRE, E.; IÑIGUEZ-FRANCO, F.; SAMSUDIN, H.; FANG, X.; AURAS, R. Poly(lactic acid) - Mass production, processing, industrial applications, and end of life. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2016**, *107*, 333-366.
 173. ZHOU, L.Y., ZHAO, G.Y., JIANG, W. Mechanical properties of biodegradable polylactide/poly(ether-block-amide)/thermoplastic starch blends: effect of the crosslinking of starch. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2016**, *133*, 42297- 42297.

174. SODERGARD, A.; STOLT, M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Prog. Polym. Sci.*, **2002**, *27*, 1123-1163.
175. JAHNO, V.D. Síntese e caracterização do poli(L-ácido láctico) para uso como biomaterial. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, **2005**, 94 p.
176. TYLER, B.; GULLOTTI, D.; MANGRAVITI, A.; UTSUKI, T.; BREM, H. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2016**, *107*, 163-175.
177. ADEOSUN, S.O.; LAWAL, G.I.; GBENEBOR, O.P. Characteristics of Biodegradable Implants. *J. Min. Mater. Charact. Eng.*, **2014**, *2*, 88-106.
178. SAINI, P.; ARORA, M.; KUMAR, M.N.V.R. Poly(lactic acid) blends in biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2016**, *107*, 47-59.
179. MANAVITEHRANI, I.; FATHI, A.; WANG, Y.; MAITZ, P.K.; DEGHANI, F. Reinforced Poly(Propylene Carbonate) Composite with Enhanced and Tunable Characteristics, an Alternative for Poly(lactic Acid). *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2015**, *7*, 22421-22430.
180. SIRACUSA, V.; INGRAO, C. The Use of Polylactic Acid in Food Packaging, In: Reference Module in Food Sciences, Elsevier, **2016**. doi: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03208-X>>
181. SATTAR, M.; HAYEYE, F.; CHINPA, W.; SIRICHOT, O. Preparation and characterization of poly (lactic acid)/activated carbon composite bead via phase inversion method and its use as adsorbent for Rhodamine B in aqueous solution. *J. Environ. Chem. Eng.*, **2017**, *5*, 3780-3791.
182. SAHITHYA, K.; DAS, D.; DAS, N. Adsorptive removal of monocrotophos from aqueous solution using biopolymer modified montmorillonite–CuO composites: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Process Saf. Environ. Prot.*, **2016**, *99*, 43-54.
183. ARSLAN, A.; ÇAKMAK, S.; CENGİZ, A.; GÜMÜŞDERELIOĞLU, M. Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Scaffolds: Processing, Structural Characteristics and Cellular Responses. *J. Biomater. Sci.*, **2016**, *27*, 1841-1859.
184. WALLACE, P.W.; HAERNVALL, K.; RIBITSCH, D.; ZITZENBACHER, S.; SCHITTMAYER, M.; STEINKELLNER, G.; GRUBER, K.; GUEBITZ, G.M.; BIRNER-GRUENBERGER, R. PpEst is a novel PBAT degrading polyesterase

- identified by proteomic screening of *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2017**, *101*, 2291-2303.
185. JIANG, L.; LI, B.; ZHANG, J. Properties of Poly(lactic acid)/Poly(butylene adipate-co-terephthalate)/Nanoparticle Ternary Composites. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2009**, *48*, 7594-7602.
186. YEH, J.-T.; TSOU, C.-H.; HUANG, C.-Y.; CHEN, K.-N.; WU, C.-S.; CHAI, W.-L. Compatible and crystallization properties of poly(lactic acid)/poly(butylene adipate-coterephthalate) blends. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2010**, *116*, 680-687.
187. JIANG, L.; WOLCOTT, M.P.; ZHANG, J. Study of Biodegradable Polylactide/Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Blends. *Biomacromolecules*, **2006**, *7*, 199-207.
188. NETO, W.A.R.; DE PAULA, A.C.C.; MARTINS, T.M.M.; GOES, A.M.; AVEROUS, L.; SCHLATTER, G.; BRETAS, R.E.S. Poly (butylene adipate-co-terephthalate)/hydroxyapatite composite structures for bone tissue recovery. *Polym. Degrad. and Stab.*, **2015**, *120*, 61-69.
189. VARSHOSAZ, J.; JAJANIAN-NAJAFABADI, A.; SOLEYMANI, A.; AMIR KHAJAVINIA, A. Poly (butylene adipate-co-terephthalate) electrospun nanofibers loaded with 5-fluorouracil and curcumin in treatment of colorectal cancer cells. *Polym. Test.*, **2018**, *65*, 217-230.
190. WU, C.-S. Antibacterial and static dissipating composites of poly(butylene adipateco-terephthalate) and multi-walled carbon nanotubes. *Carbon*, **2009**, *47*, 3091-3098.
191. SIAFAKA, P.I.; BARMBALEXIS, P.; BIKIARIS, D.N. Novel electrospun nanofibrous matrices prepared from poly(lactic acid)/poly(butylene adipate) blends for controlled release formulations of an anti-rheumatoid agente. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2016**, *88*, 12-25.
192. MUROI, F.; TACHIBANA, Y.; KOBAYASHI, Y.; SAKURAI, T.; KASUYA, K.-I. Influences of poly(butylene adipate-co-terephthalate) on soil microbiota and plant growth. *Polym. Degrad. Stab.*, **2016**, *129*, 338-346.
193. BRANDELERO, R.P.H.; GROSSMANN, M.V.; YAMASHITA, F. Hidrofilicidade de Filmes de Amido/Poli(Butileno Adipato Co-Tereftalato) (Pbat) Adicionados de Tween 80 e Óleo de Soja. *Polímeros*, **2013**, *23*, 270-275.
194. PERES, T.B. Noções básicas de cromatografia, *Biológico*, **2002**, *63*, 227-229.

195. COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de Cromatografia, Campinas: Editora Unicamp, **2006**, 453 p.
196. AQUINO-NETO, F.R e NUNES, D.S.S. Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins. Rio de Janeiro: Interciência, **2003**, 187 p.
197. COLLINS, C.H. Introdução a métodos cromatográficos, 7ª Ed., Campinas: Editora da UNICAMP, **1997**, 279 p.
198. LANÇAS, F. M., Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE, 1ª Ed., Campinas: Átomo, **2009**, 354 p.
199. CIOLA, R. Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho. 1ª Ed., São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, **2000**, 179 p.
200. SHAHBAZI, Y.; MALEKINEJAD, H.; TAJIK, H. Determination of naturally occurring estrogenic hormones in cow's and river buffalo's meat by HPLC-FLD method. *J. Food Drug Analysis*, **2016**, *24*, 457-463.
201. NUR, M.; ROZAINI, H.; YAHAYA, N.; SAAD, B.; KAMARUZAMAN, S.; HANAPI, N.S.M. Rapid ultrasound assisted emulsification micro-solid phase extraction based on molecularly imprinted polymer for HPLC-DAD determination of bisphenol A in aqueous matrices. *Talanta*, **2017**, *171*, 242-249.
202. GAÑÁN, J.; PÉREZ-QUINTANILLA, D.; MORANTE-ZARCERO, S.; SIERRA, I. Comparison of different mesoporous silicas for off-line solid phase extraction of 17 β -estradiol from waters and its determination by HPLC-DAD. *J. Hazard. Mater.*, **2013**, *260*, 609-617.
203. LAVIELLE, N.; POPA, A. M.; GEUS, M.; HÉBRAUD, A.; SCHLATTER, G.; THÖNY-MEYER, L.; ROSSI, R. M. Controlled formation of poly(ϵ -caprolactone) ultrathin electrospun nanofibers in a hydrolytic degradation-assisted process. *Eur. Polym. J.*, **2013**, *49*, 1331-1336.
204. LI, Y.; LIM, C.T.; KOTAKI, M. Study on structural and mechanical properties of porous PLA nanofibers electrospun by channel-based electrospinning system. *Polymer*, **2015**, *56*, 572-580.
205. ZEHETMEYER, G. Desenvolvimento e caracterização de embalagens ativas compostas de PBAT com incorporação de nisina. Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, **2016**, 200 p.
206. ZAHARI, A.M.; CHUO, C.W.; SATHISHKUMAR, P.; YUSOFF, A.R.M.; GU, F.L.; BUANG, N.A.; WOEI-JYE, L.; GOHARI, R.J.; YUSOP, Z. A reusable

- electrospun PVDF-PVP-MnO₂ nanocomposite membrane for bisphenol A removal from drinking water. *J. Environ. Chem. Engin.*, **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.08.073>
207. CAMPOS, M.L.A.M.; BENDO, A.; VIEL, F.C. Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais. *Quím. Nova*, **2002**, 25, 808-813.
 208. INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos. Revisão 5, **2016**, 31p.
 209. PORTE, C.; JANER, G.; LORUSSO, L.C.; ORTIZ-ZARRAGOITIA, M.; CAJARAVILLE, M.P.; FOSSI, M.C.; CANESI, L. Endocrine disruptors in marine organisms: approaches and perspectives. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, **2006**, 143, 303-315.
 210. FRÉDÉRIC, O.; YVES, P. Pharmaceuticals in hospital wastewater: Their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluente. *Chemosphere*, **2014**, 115, 31-39.
 211. YUAN, X.; LI, T.; ZHOU, L.; ZHAO, X. Characteristics and Risk Assessment of Estrogenic Compounds in Rivers of Southern Jiangsu Province, China. *IERI Procedia*, **2014**, 9, 176-184, 2014.
 212. LAURENSEN, J.P.; BLOOM, R.A.; PAGE, S.; SADRIEH, N. Ethinyl Estradiol and Other Human Pharmaceutical Estrogens in the Aquatic Environment: A Review of Recent Risk Assessment Data. *The AAPS Journal*, **2014**, 16, 299-310.
 213. AHMED, F. E.; LALIA, B. S.; HASHAIKEH, R. A review on electrospinning for membrane fabrication: Challenges and applications. *Desalination*, **2015**, 356, 15-30.
 214. PANT, H.R.; BAJGAI, M.P.; YI, C.; NIRMALA, R.; NAM, K.T.; BAEK, W.; KIM, H.Y. Effect of successive electrospinning and the strength of hydrogen bond on thermorphology of electrospun nylon-6 nanofibers. *Colloids Surf. A*, **2010**, 370, 87-94.
 215. LIU, H.; CHEN, F.; LIU, B.; ESTEP, G.; ZHANG, J. Super Toughened Poly (Lactic Acid) Ternary Blends by Simultaneous Dynamic Vulcanization and Interfacial Compatibilization. *Macromolecules*, **2010**, 43, 6058-6066.
 216. KOMALAN, C.; GEORGE, K. E.; VARUGHESE, K. T.; MATHEW, V. S.; THOMAS, S. Thermogravimetric and wide angle X-ray diffraction analysis of

- thermoplastic elastomers from nylon copolymer and EPDM rubber. *Polym. Degrad. Stab.*, **2008**, *93*, 2104-2112.
217. ZHU, H.; LI, R.; WU, X.; CHEN, K.; CHE, J. Controllable fabrication and characterization of hydrophilic PCL/wool keratin nanonets by electronetting. *Eur. Polym. J.*, **2017**, *86*, 154-161.
218. ZHAO, Y.K.; CHEUNG, H.Y.; LAU, K.T.; XU, C.L.; ZHAO, D.D.; LI, H.L. Silkwormsilk/poly(lactic acid) biocomposites: Dynamic mechanical, thermal and biodegradable properties. *Polymer Degradation and Stability*, **2010**, *95*, 1978-1987.
219. FATARELLA, E.; SPINELLI, D.; RUZZANTEA, M.; POGNIB, R. Nylon 6 film and nanofiber carriers: Preparation and laccase immobilization performance. *J. Mol. Catal. B*, **2012**, *102*, 41-47.
220. CAI, Y.; LI, Q.; WEI, Q.; WU, Y.; SONG, L.; HU, Y. Structures, thermal stability, and crystalline properties of polyamide6/organic-modified Fe-montmorillonite composite nanofibers by electrospinning. *J. Mater. Sci.*, **2008**, *43*, 6132-6138.
221. BASSI, A.; GOUGH, J.; ZAKIKHANI, M.; DOWNES, S. Bone tissue regeneration. *Electrospinning for Tissue Regeneration*, **2011**, 93-110.
222. ELZEIN, T.; NASSER-EDDINE, M.; DELAITE, C.; BISTAC, S.; DUMAS, P. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. *J. Colloid Interf. Sci.*, **2004**, *273*, 381-387.
223. DRUMOND, W.S.; WANG, S.H. Síntese e Caracterização do Copolímero Poli (Ácido Láctico-B-Glicol Etilênico). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, **2004**, *14*, 74-79.
224. KIJCHAVENGKUL, T.; AURAS, R.; RUBINO, M. Measuring gel content of aromatic polyesters using FTIR spectrophotometry and DSC.T. *Polymer Testing*, **2008**, *27*, 55-60.
225. NJOBUNWU, D. O.; OBOHO, E. O.; GUMUS, R. H. Determination of Contact Angle from Contact Area of Liquid Droplet Spreading on Solid Substrate. *Leonardo Elect. J. Pract. Technol.*, **2007**, *10*, 29-38.
226. FADAIE, M.; MIRZAEI, E.; GERAMIZADEH, B.; ASVAR, Z. Incorporation of nanofibrillated chitosan into electrospun PCL nanofibers makes scaffolds with enhanced mechanical and biological properties. *Carbohydrate Polymers*, **2018**, *199*, 628-640.

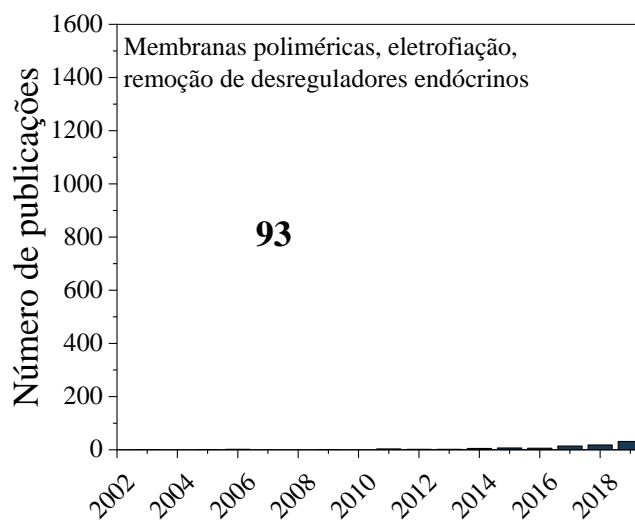
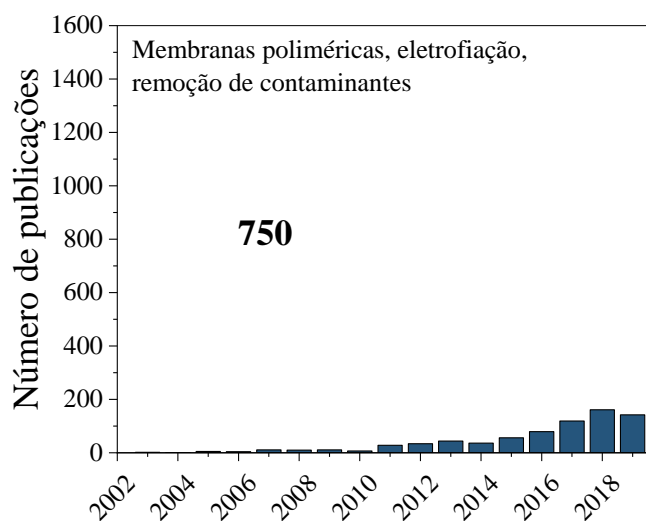
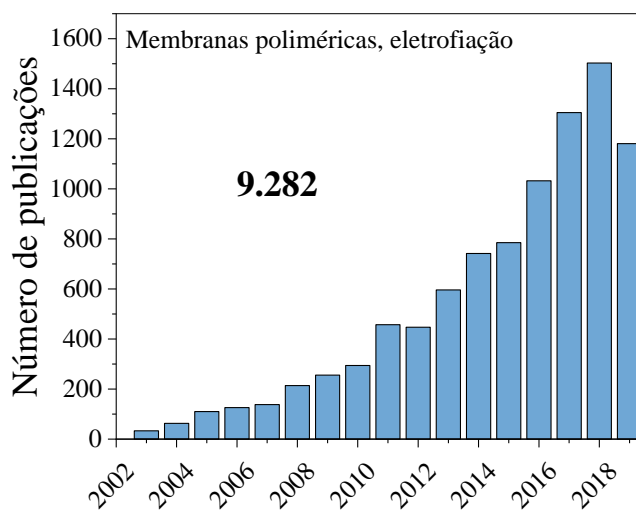
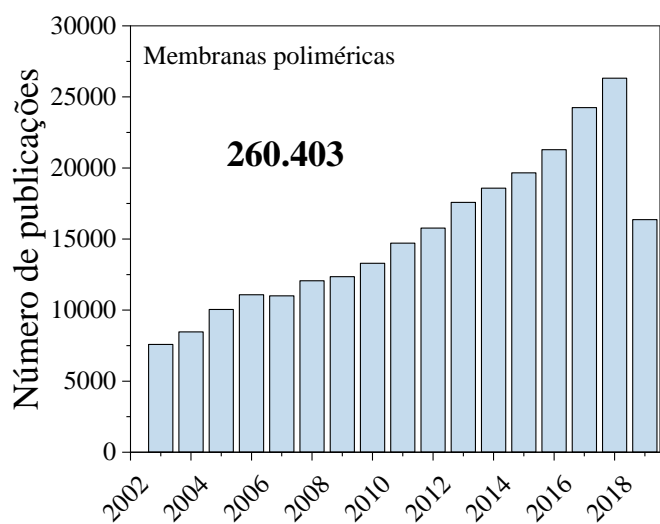
227. GALDORFINI, N.; LOCILENTO, D.A.; CORREA, D.S. Produção de mantas de nanofibras de poli ácido láctico com incorporação de fitoativo pelo método de eletrofição. IX Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio, Embrapa Instrumentação, São Carlos, São Paulo, **2017**, 376-379.
228. BAČOVSKÁ, R.; WISIAN-NEILSON, P.; ALBERTI, M.; PŘÍHODA, J.; ZÁRYBNICKÁ, L.; VORÁČ, Z. Phenyl-methyl phosphazene derivatives for preparation and modification of hydrophobic properties of polymeric nonwoven textiles. *Reactive and Functional Polymers*, **2016**, *100*, 53-63.
229. TRINDADE, R.S. Caracterização de membranas poliméricas aplicadas ao processo de microfiltração. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia de Materiais), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, **2010**, 74 p.
230. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003, Diário Oficial da União, 2003, 20 p.
231. CAIS, T.A. Determinação de hormônios estrogênicos em águas superficiais do lago de Furnas no município de Alfenas-MG. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química), Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, **2016**, 110p.
232. VERBINNEN, R.T. Estabelecimento de condições analíticas para determinação de hormônios estrógenos em água potável distribuída na cidade de São Luís-MA. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química), Universidade Federal do Maranhão, São Luís, **2009**, 95p.
233. KUCH, H.M. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range, *Environ Sci Technol.*, **2001**, *35*, 3201-3206.
234. 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), *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, **2007**, *2*, 187-196.
235. Rodriguez-Mozaz, S.; de Alda, M.J.L.; Barceló, D. Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction–liquid chromatography–mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **2004**, *1045*, 85-92.

236. RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, *Quím. Nova*, **2004**, 27, 771-780.
237. de MELO, J.C.P. Síntese e caracterização de derivados da celulose modificada com anidridos orgânicos – adsorção e termodinâmica de interação com cátions metálicos. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, **2007**, 95p.
238. YÜKSEL, S.; KABAY, N.; YÜKSEL, M. Removal of bisphenol A (BPA) from water by various nanofiltration (NF) and reverse osmosis (RO) membranes, *J. Hazard. Mater.*, 2013, 263, 307-310. JIN, X.; HU, J.; ONG, S.L. Influence of dissolved organic matter on estrone removal by NF membranes and the role of their structures”, *Water Research*, 2007, 41, 3077-3088.
239. JIN, X.; HU, J.; ONG, S.L. Influence of dissolved organic matter on estrone removal by NF membranes and the role of their structures, *Water Research*, **2007**, 41, 3077-3088.
240. DECOSTERE, B.; DAELS, N.; DE VRIEZE, S.; DEJANS, P.; VAN CAMP, T.; AUDENAERT, W.; HOGIE, J.; WESTBROEK, P.; DE CLERCK, K.; VAN HULLE, S. Performance assessment of electrospun nanofibres for filter applications, *Desalination*, **2009**, 249, 942-948.
241. BASTARRACHEA, L.; DHAWAN, S.; SABLANI, S. S.; MAH, J.-H.; KANG, D.-H.; ZHANG, J.; TANG, J.; Biodegradable Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Films Incorporated with Nisin: Characterization and Effectiveness against *Listeria innocua*, *J. Food Sci.*, 2010, 75, 215-224.

ANEXO I

NÚMERO DE PUBLICAÇÕES POR ANO

(SCIENCE DIRECT)



ANEXO II

ARTIGO PUBLICADO



Electrospun nanofibrous membranes for solid-phase extraction of estriol from aqueous solution

Aline da S. Nectoux, Leonardo F. Medeiros, Roberta da S. Bussamara Rodrigues, Rosane M. Duarte Soares, Andreia Neves Fernandes

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul 91501-970, Brazil

Correspondence to: A. N. Fernandes (E-mail: andrea.fernandes@ufrgs.br)

ABSTRACT: Nowadays, efficient, economical, and environmentally friendly materials for the removal of emerging contaminants from the aquatic environment have been sought. Electrospun nanofibrous membranes contain fibers with diameters of submicron or nanometer scale, making them very promising adsorbent materials for use in several areas. In this context, the present study aims to synthesize and apply polymeric nanofiber membranes for solid-phase extraction of estriol from aqueous solution. Nanofiber membranes of poly(ϵ -caprolactone) (PCL) and polyamide-6 (PA-6) were tested as adsorbent materials and characterized by different techniques. The electrospinning time was evaluated, and the highest removal obtained for the PA-6 nanofiber was 76.5%, spun for 100 min, whereas for the PCL nanofiber, 80% time-independent removal was obtained. The thinner nanofibers had a larger contact area, therefore higher removals, except for the PCL nanofiber, which presented exposed beads on smaller thicknesses that impaired their efficiency. Furthermore, the nanofiber membranes have been applied for the determination of 1.0 mg L⁻¹ of E3 in superficial water sample with satisfactory results. These aspects demonstrate that the synthesized nanofibers present an efficient material for the extraction of estriol: of high simplicity, low cost, and using green chemistry. © 2018 Wiley Periodicals, Inc. *J. Appl. Polym. Sci.* 2018, 00, 47189.

KEYWORDS: electrospun; estriol; nanofibrous membranes; SPE

Received 27 June 2018; accepted 5 September 2018

DOI: 10.1002/app.47189

INTRODUCTION

Recently, worldwide concern has increased about emerging contaminants in the aquatic environment.¹ The term “emerging contaminants” refers to compounds of synthetic or natural occurrence that are not currently covered by existing water-quality regulations. Nowadays, more than 1000 emerging contaminants, their metabolites and transformation products are listed as being present in the European aquatic environment.² These contaminants have not been well studied, being ignored but considered potential threats to environmental ecosystems and human health and safety.^{3,4} It is believed that many of these contaminants can be endocrine-disrupting chemicals (EDCs), because of their ability to mimic hormones and block receptor sites, disrupting the proper function of the endocrine system.⁵ Among this large group are natural or synthetic hormones and their metabolites, nonsteroidal synthetic compounds, plasticizers, flame-retardants, surfactants, pesticides, and pharmaceutical and personal care products.^{6–8} Although present in low concentrations, in the ng L⁻¹ range, there are still few studies about the long-term exposure risks of EDC to nontarget organisms, as well as to human health.^{9,10}

Several methods have been used for the removal or degradation of estriol from the aquatic environment, such as direct and indirect photodegradation,¹¹ adsorption,¹² advanced oxidative processes,¹³ biodegradation,¹⁴ ozonation,¹⁵ and reverse osmosis.¹⁶ However, many of these methods generate matrixes of unknown byproducts with toxicities equal to or greater than the original compound. The use of membranes for nanofiltration, ultrafiltration, and microfiltration^{17,18} has been widely used for the control of micropollutants such as pesticides,¹⁹ phthalates,²⁰ and hormones.²¹

Ultrafiltration and microfiltration involve only the screening process, while nanofiltration uses as barrier membranes, allowing the water molecules to pass through while the dissolved solids are retained.²² Membranes formed by polymeric nanofibers are being explored for their application in filtration and adsorption due to their large surface area and high porosity.^{23–27} One way of producing polymeric nanofiber membranes is by the electrospinning technique.

Electrospinning is an effective route to produce polymer fibers with diameters of submicron or nanometer scale.^{28,29} According to Ghorani and Tucker,³⁰ by controlling the process conditions and using different polymers, it is possible to obtain a variety of fiber cross-sectional shapes and sizes, allowing their use in several materials, such

ANEXO III

SOFTWARE ECOSAR

O *software* ECOSAR (do inglês, *Ecological Structure-Activity Relationship Model*) é uma ferramenta computacional do tipo QSAR (do inglês, *Quantitative Structure-Activity Relationships*) que tem sido utilizada desde 1981 pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) para prever a toxicidade aquática de novos compostos químicos industriais na ausência de dados de teste. Os dados apresentados pelo software foram desenvolvidos pela classificação/subclassificação de produtos químicos baseados na similaridade química estrutural com outro composto que tenha sua toxicidade aquática conhecida. A toxicidade aquática é definida como o estudo dos efeitos de uma substância química em espécies aquáticas que é geralmente determinada em organismos que representam os três níveis tróficos, ou seja, vertebrados (peixes), invertebrados (crustáceos como *daphnia*) e plantas (algas).

A toxicidade aguda e crônica de compostos químicos vem sendo estudada para peixes (água doce e salgada), invertebrados aquáticos (*daphnias* de água doce e de água salgada) e algas (algas verdes de água doce e algas de água salgada), porém a toxicidade aquática de outras classes químicas estão sendo investigadas para outros organismos, como minhocas, ouriços do mar e *Lemna gibba*). Aproximadamente 709 QSARs foram desenvolvidos para mais de 111 classes de compostos químicos orgânicos, juntamente com QSAR adicionais para surfactantes, polímeros e corantes.

O download do ECOSAR pode ser feito através do site da USEPA (<http://www.epa.gov/oppt/newchems/tools/21ecosar.htm>) e após instalação e inicialização, a seguinte tela será apresentada (**Figura 1**):

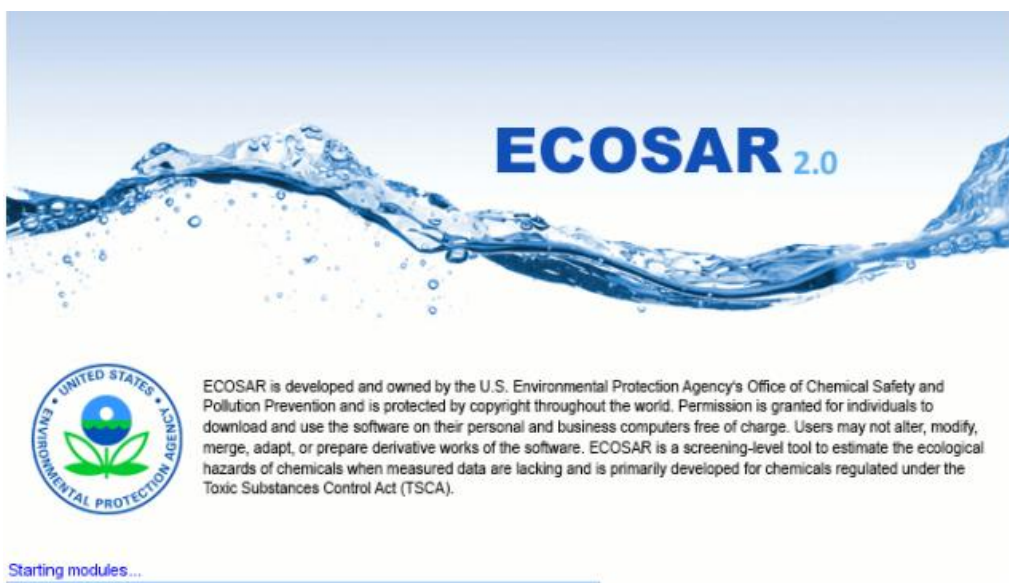


Figura 1. Tela de inicialização do software ECOSAR.

Depois de clicar em "Aceitar" na tela de introdução, a tela de entrada de dados do módulo orgânico é exibido, conforme observa-se na **Figura 2**. O usuário pode inserir um número CAS (do inglês, Chemical Abstracts Service), SMILES (do inglês, Simplified Molecular Input Line Entry System. Campo para notação da estrutura a ser estimada. Um máximo de 360 caracteres é permitido) ou nome químico (campo para o nome e/ou descrição da estrutura. Um máximo de 120 caracteres são permitidos) no campo de entrada de produtos químicos, a fim de gerar a previsão ECOSAR baseada em QSARs. O usuário também poderá desenhar a estrutura química clicando no botão "Desenhar" ou digitar produtos químicos através do modo batch, clicando no botão 'Batch'.



Figura 2. Exemplo de tela de entrada de dados.

Depois de inserir as informações acima e clicar no botão "calcular", serão obtidos os resultados de saída do ECOSAR. O resultado inclui propriedades químicas, se os dados medidos estão disponíveis, classe ECOSAR escolhida, valores estimados de toxicidade aquática, valores de toxicidade de linha de base e informações específicas para a interpretação dos resultados do QSAR. Geralmente, a janela de resultados fornece a estrutura química e as propriedades químicas em uma janela separada (**Figura 3**).

The screenshot shows the ECOSAR software interface. The 'Chemical Input' section contains a text box for 'Please enter CAS Number or SMILES' and buttons for 'Draw', 'Submit', and 'Batch'. Below this, the 'Organic Module Result' section is active, displaying a table of toxicity data for 'Phenols'. The table includes columns for Organism, Duration, End Point, Concentration (mg/L), Max Log Kow, and Flags. The chemical name 'Estra-1,3,5(10)-trien-17-one, 3-hydroxy-' is visible in the left sidebar, along with its CAS number (53167) and a chemical structure diagram.

Organism	Duration	End Point	Concentration (mg/L)	Max Log Kow	Flags
Fish	96h	LC50	3.82	7.0	
Daphnid	48h	LC50	3.16	7.0	
Green Algae	96h	EC50	0.355	6.4	
Fish		ChV	0.438	8.0	
Daphnid		ChV	0.444	8.0	
Green Algae		ChV	1.06	8.0	
Fish (SW)	96h	LC50	2.53	7.0	
Myxid (SW)	48h	LC50	0.821	7.0	
Green Algae (SW)	96h	LC50	0.540	6.4	
Lenna gibba	7d	EC50	1.92	6.4	

Figura 3. Janela de resultados do *software* ECOSAR.

A estimativa de toxicidade aquática aguda é dada em LC50 ou EC50 (mg L^{-1}) dependendo da espécie (peixe, *daphnia* ou algas). Quanto menor os valores obtidos, maior a toxicidade. A estimativa da toxicidade crônica aquática é expressa em ChV (em mg L^{-1}). O ChV, ou Valor Crônico, é definido como a média geométrica da concentração do efeito não observado (NOEC) e a menor concentração do efeito observado (LOEC). A Concentração de Preocupação (COC) é o menor ChV dividido por um fator de incerteza (avaliação ou fator de segurança) de 10. LC50 corresponde a concentração em água de um composto capaz de provocar mortalidade em 50% de um lote de animais teste dentro de um período contínuo de exposição, que geralmente é de 96 horas. EC50 corresponde à concentração capaz de provocar alguma resposta em 50% da população. Para *daphnia*, EC50 representa a concentração capaz de imobilizar metade da população em um lote de teste dentro de um período contínuo de exposição

que normalmente é de 48 horas. Enquanto para algas, EC50 corresponde à concentração da substância teste que resulta em 50% de redução no crescimento ou taxa de crescimento em relação ao controle dentro da exposição de 72h.

O programa ECOSAR apresenta algumas limitações, tais como:

1. O ECOSAR só pode ser usado para avaliar substâncias químicas orgânicas com estruturas discretas. Não funciona para produtos químicos inorgânicos ou organometálicos, polímeros e produtos químicos com massa molar acima de 1.000, misturas e nanomateriais.

2. Os valores estimados de toxicidade aquática fornecidos pelo ECOSAR apenas podem ser utilizados para fins de pesquisa e para determinar se é necessário testar a toxicidade aquática adicional. Eles também podem ser usados para determinar espécies mais sensíveis. No entanto, os valores estimados não podem ser usados para avaliação quantitativa do risco ambiental.

3. Existe um valor de corte do *log Kow* para que o ECOSAR funcione. Em geral, quando $\log Kow \leq 5,0$ para peixes e *daphnia*, ou $\log Kow \leq 6,4$ para algas verdes, o ECOSAR fornece estimativas confiáveis para efeitos agudos. Se o *log Kow* exceder esses limites, os dados empíricos indicam que a solubilidade diminuída dessas substâncias químicas lipofílicas resulta em “nenhum efeito na saturação” durante um teste de 48 horas a 96 horas. Para exposições crônicas, o *log Kow* cortado é 8,0 ou mais (indicando um produto químico pouco solúvel) e “sem efeitos na saturação” são esperados em soluções saturadas, mesmo com exposições de longo prazo.

4. Para substâncias químicas sólidas, é importante comparar as estimativas de toxicidade com a solubilidade em água.

Referência: USEPA ECOSAR User Guide (2017).

ANEXO IV

TESTE DE TUKEY

O Teste proposto por *Tukey* (1953) é também conhecido como teste de *Tukey* da diferença honestamente significativa (do inglês, Honestly Significant Difference - HSD) e teste de *Tukey* da diferença totalmente significativa (do inglês, Wholly Significant Difference - WSD). É um teste exato em que, para a família de todas as $c = 1/2k(k-1)$ comparações duas a duas, a taxa de erro da família dos testes (FWER) é exatamente α (e o intervalo de confiança é exatamente $1-\alpha$). Métodos de comparações múltiplas exatos são raros. O teste de *Tukey* tem sido mostrado analiticamente ótimo, no sentido que, entre todos os procedimentos que resultam em intervalos de confiança com mesmo tamanho para todas diferenças duas a duas com coeficiente de confiança da família de pelo menos $1-\alpha$, o teste de *Tukey* resulta em intervalos menores. Isso quer dizer que, se a família consiste em todas as comparações duas a duas e o teste de *Tukey* pode ser usado, ele resultará em intervalos menores que qualquer outro método de comparação múltipla de uma etapa.

A estratégia de *Tukey* consiste em definir a menor diferença significativa. Tal procedimento utiliza a amplitude da distribuição studentizada. Suponhamos que temos k observações independentes, Y_1, \dots, Y_k , de uma distribuição normal com média μ e variância σ^2 . Seja w a amplitude para esse conjunto de observações, assim:

$$w = \max(Y_i) - \min(Y_i)$$

Suponhamos que temos uma estimativa s^2 da variância σ^2 , que é baseada nos $N-k$ graus de liberdade e é independente de Y_i , em que N é o número total de observações. Dessa forma, a razão w/s é chamada amplitude studentizada e é denotada por $q(k, N-k) = w/s$, em que q é um valor tabelado. Para tamanhos de amostras iguais (dados balanceados), o teste de *Tukey* declara duas médias significativamente diferentes se o valor absoluto de suas diferenças amostrais ultrapassarem:

$$TSD = q_{\alpha}(k, N - k) \sqrt{\frac{QME}{n}}$$

em que n é o número de réplicas do nível. Em outras palavras, rejeitamos a igualdade da média de dois níveis se $|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j| > TSD$.

Um intervalo de confiança de $100(1-\alpha)\%$ para a diferença entre todos os pares das médias é dado como:

$$\bar{Y}_i - \bar{Y}_j - q_\alpha(k, N - k) \sqrt{\frac{QME}{n}} \leq \mu_i - \mu_j \leq \bar{Y}_i - \bar{Y}_j + q_\alpha(k, N - k) \sqrt{\frac{QME}{n}}, i \neq j$$

Referência: <http://www.portaaction.com.br/anova/31-teste-de-tukey>.