Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais



Dissertação de Mestrado

Sandra Regina Silva

AVALIAÇÃO DO USO DE ESFERAS DE QUITOSANA COMO ADSORVENTE DE ETINILESTRADIOL EM SOLUÇÕES AQUOSAS

Belo Horizonte

Maio de 2014

Sandra Regina Silva

AVALIAÇÃO DO USO DE ESFERAS DE QUITOSANA COMO ADSORVENTE DE ETINILESTRADIOL EM SOLUÇÕES AQUOSAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), na área de concentração de Ciência e Desenvolvimento de Materiais, na linha de Pesquisa em Biomateriais, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior

Belo Horizonte

Maio de 2014

Silva, Sandra Regina.
S586a Avaliação do uso de esferas de quitosana como adsorvente de etinilestradiol em soluções aquosas / Sandra Regina Silva. – 2014.
86 f. : il. ; tabs. ; grafs. –

Orientador: Ezequiel de Souza Costa Júnior.
Dissertação (mestrado) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Belo Horizonte, 2014.

Bibliografia.
1. Adsorção. 2. Quitosana. 3. Etinilestradiol. I. Costa Júnior, Ezequiel de Souza. II. Título.

CDD: 620.11

AVALIAÇÃO DO USO DE ESFERAS DE QUITOSANA COMO ADSORVENTE DE ETINILESTRADIOL EM SOLUÇÕES AQUOSAS

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET-MG, na área de concentração de Ciência e Desenvolvimento de Materiais, na linha de Pesquisa em Biomateriais, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia de Materiais, avaliada pela banca examinadora constituída pelos professores:

_____

Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Junior - orientador

Doutor em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais

_____

Prof$^{a.}$ Dr^{a}. Eliane Ayres

Doutora em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade do Estado de Minas Gerais

_____

Prof. Dr. Claudinei Rezende Calado

Doutor em Química, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, saúde, disposição e determinação para realização de mais uma etapa de minha vida.

À minha mãe por sua admiração pelo conhecimento, ao meu pai por ter me ensinado a amar a natureza, aos meus irmãos Dora, Paulo, Fernando e Angela companheiros de caminhada sempre presentes.

Ao Toninho parceiro de tantas jornadas, por todo apoio para que eu pudesse realizar esse trabalho. Aos meus filhos Luisa e Vinícius, pelo carinho e pela paciência diante de tantas ausências.

À amiga Thais Novaes pela leitura atenciosa e ajuda na correção do texto.

Ao Prof. Ezequiel de Souza Costa Júnior pela orientação cuidadosa, paciência, incentivo e colaboração para execução do trabalho.

Aos professores do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG, em especial ao Prof. Joel Romano Brandão, por sua constante colaboração para melhor execução do trabalho, aos funcionários Bruno e Paulo pela realização dos ensaios de caracterização.

Ao Prof. Claudinei Rezende Calado e à Prof[a]. Angela Mello Ferreira pela disponibilização de equipamentos para realização de ensaios de caracterização no Departamento de Química do CEFET-MG.

Aos meus colegas de mestrado em especial à Ana, Jacqueline e Helane por fazerem desse trabalho uma tarefa mais leve e divertida, pelos momentos bons que pudemos compartilhar.

Aos órgãos de fomento a pesquisa CNPQ, CAPES, e FAPEMIG pelo auxílio financeiro para participação em eventos que contribuíram no desenvolvimento do trabalho.

“É preciso ter sonho sempre

Quem traz na pele essa marca

Possui a estranha mania de ter fé na vida”.

Milton Nascimento

RESUMO

O presente trabalho trata da avaliação da adsorção de etinilestradiol em solução aquosa por quitosana em pó e em esferas de quitosana produzidas pelo método de coagulação. A caracterização quanto ao comportamento térmico, presença de grupos químicos, estrutura cristalina e ao grau de desacetilação da quitosana foi realizada através de termogravimetria (TG), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DRX) e titulação potenciométrica, respectivamente. O etinilestradiol foi caracterizado quanto ao comportamento térmico e à presença de grupos químicos por TG e FTIR respectivamente. As esferas foram caracterizadas química e morfologicamente por FTIR e microscopia eletrônica de varredura (MEV), e a distribuição granulométrica foi avaliada por peneiramento estratificado. A avaliação dimensional foi efetuada por medição dos diâmetros das esferas em projetor de perfil. O comportamento de adsorção foi observado através do efeito do pH e do tempo de contato da quitosana com a solução de etinilestradiol. A quitosana em pó e esferas carregadas de etinilestradiol foram caracterizadas por FTIR e MEV a fim de se identificar alterações químicas e morfológicas. As soluções de etinilestradiol foram avaliadas durante o processo de adsorção por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS). Os resultados evidenciaram esferas com diâmetro médio de 1,24±0,05mm, superfície com baixa porosidade e estabilidade durante o processo de adsorção. A capacidade de adsorção do pó e das esferas de quitosana foi reduzida com aumento do pH (5,0±0,1) até pH (9,0±0,1). No pH (5,0±0,1), para concentração de etinilestradiol de 3,0mg/L foram obtidas as maiores taxas de adsorção. A quitosana mostrou-se eficiente para adsorção de etinilestradiol em concentrações de 1,6mg/L em pH (7,0±0,1) com taxas de adsorção de 72% para pó e 43% para esferas de quitosana. No pH (7,0±0,1) a partir de aproximadamente 2 horas a taxa de adsorção não se altera significativamente. Observou-se o potencial da quitosana como alternativa de adsorvente de etinilestradiol, devido a sua atoxicidade, biodegradabilidade além da possibilidade de nova destinação desse material originário de resíduos da indústria pesqueira.

Palavras chaves: Adsorção. Esferas de quitosana. Etinilestradiol.

ABSTRACT

This paper deals with the evaluation of the adsorption of ethinylestradiol in aqueous solution by chitosan powder and chitosan beads produced by the method of coagulation. The characterization and thermal behavior, the presence of chemical groups, the crystal and the degree of deacetylation of the chitosan structure was performed by thermogravimetric (TG) absorption spectroscopy in the infrared Fourier transform spectroscopy (FTIR), X - Ray Diffraction-(XRD) and potentiometric titration, respectively. Ethinylestradiol was featured on the thermal behavior and the presence of chemical groups by TG and FTIR respectively. The beads were chemically and morphologically characterized by FTIR and scanning electron microscopy (SEM) , and particle size distribution was evaluated by stratified screening . The dimensional evaluation was done by measuring the diameters of the spheres in a profile projector The adsorption behavior was observed through the effect of pH and contact time with the solution of chitosan ethinylestradiol. Chitosan powder and ethinyl estradiol loaded beads were characterized by FTIR and SEM in order to identify chemical and morphological changes . The solutions were measured for ethinylestradiol adsorption process for absorption spectroscopy in the ultraviolet - visible region (UV- VIS). The results show spheres with an average diameter of 1.24 ± 0.05) mm and a surface with low porosity and stability during the adsorption process. The adsorption capacity of the powder and the chitosan beads was decreased with increased pH=(5.0±0.1) to pH=(9.0±0.1). At pH=(5.0±0.1) to a concentration of ethinyl estradiol 3.0 mg/L higher rates of adsorption were obtained. Chitosan was efficient for adsorption of ethinyl estradiol at concentrations of 1.6mg/L at pH=(7.0±0.1) with rates of adsorption from 72% to 43 % for powder and chitosan beads . A higher adsorption capacity of the powder to the beads chitosan. At pH (7.0± 0.1) from about 2 hours to adsorption rate does not change significantly. We observed the potential of chitosan as alternative adsorbent ethinylestradiol, due to their low toxicity, biodegradability and the possibility of new destination of this waste material originating in the fishing industry.

Keywords: Adsorption. Chitosan beads. Ethinylestradiol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do iclopentanoperidrofenantreno..... 21
Figura 2 – Estrutura química do colesterol..... 21
Figura 3 – Estruturas químicas dos principais ácidos biliares..... 22
Figura 4 – Estruturas químicas dos principais hormônios estrogênios..... 24
Figura 5 – Distribuição de microespécies de etinilestradiol em solução aquosa..... 25
Figura 6 – Estruturas químicas da quitina e da quitosana..... 27
Figura 7 – Gráfico de uma curva termogravimétrica 39
Figura 8 – Estrutura química do di-colastadieno e do ácido di-sulfônico di-colastadieno..... 41
Figura 9 – Reação de Liebemann-Burchard..... 42
Figura 10 – Fluxograma das etapas de trabalho..... 44
Figura 11 – Modelo de difratograma definindo área cristalina e área amorfa..... 46
Figura 12 – Estrutura química da quitosana e seus monômeros 2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose..... 47
Figura 13 – Incubadora refrigerada utilizada no processo de adsorção..... 49
Figura 14 – Curva TG de quitosana sob atmosfera de N_2 (24 a 900°C)..... 52
Figura 15– Curva TG de etinilestradiol sob atmosfera de N_2 (24 a 800°C)..... 53
Figura 16 – Difratograma da quitosana..... 54
Figura 17 – Curva de titulação potenciométrica de quitosana..... 55
Figura 18 – Curva da derivada primeira da titulação potenciométrica da quitosana..... 55
Figura 19 – Espectro de FTIR e estrutura química da quitosana..... 57
Figura 20 – Espectro de FTIR e estrutura química do etinilestradiol..... 58
Figura 21 – Reação de identificação de etinilestradiol..... 59
Figura 22 – Espectro UV-VIS da solução aquosa de etinilestradiol 1,6mg/L..... 60
Figura 23 – Esferas de quitosana em NaOH, em processo de lavagem e após secagem..... 60
Figura 24 – Micrografia eletrônica das esferas de quitosana..... 61
Figura 25 – Espectro FTIR de esferas de quitosana comparativo quitosana esferas e quitosana pó..... 62

Figura 26 – Adsorção de etinilestradiol em quitosana em função do pH..... 63
Figura 27 – Capacidade de adsorção em função do tempo em pH (7,0±0,1)..... 66
Figura 28 – Efeito do tempo de contato na porcentagem de adsorção de quitosana... 67
Figura 29 – Espectros FTIR de quitosana em esferas e em pó após 24h de adsorção..... 68
Figura 30 – Espectro FTIR de quitosana pó antes e após processo de adsorção..... 69
Figura 31 – Espectro de absorção UV para soluções do teste de estabilidade..... 70
Figura 32 – Microscopia eletrônica de varredura de pó e esferas de quitosana antes e após contato com etinilestradiol..... 71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atribuições das principais bandas de absorção na região do infravermelho características da quitosana..... 34
Tabela 2 - Atribuições das principais bandas de absorção na região do infravermelho características do etinilestradiol..... 35
Tabela 3 - Bandas características FTIR encontradas na quitosana..... 57
Tabela 4 - Bandas caracteristicas FTIR encontradas no etinilestradiol..... 58
Tabela 5 - Distribuição granulométrica das esferas de quitosana..... 62

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

A	Absorbância
C	Velocidade da luz
AA	Área amorfa
AC	Área cristalina
ºC	Graus Celsius
CAP	Carvão ativado em pó
CAS	Chemical Abstracts Service
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
cP	Centipoise
d	Espaçamento perpendicular entre os planos da rede atômica
DAD	Detector de arranjos de diodos
DCB	Denominação comum brasileira
DCI	Denominação comum internacional
DRX	Difração de raios X
E	Energia
E1	Estrona
E2	17α-Estradiol
E3	Estriol
EDCs	Disruptores endócrinos
EE2	17-Etinilestradiol
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
FB	Farmacopéia Brasileira
FLD	Detector de fluorescência
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GC	Cromatografia gasosa
GD	Grau de desacetilação
IUPAC	International Union of pure and applied chemistry
LC	Cromatografia líquida

M	Concentração molar
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MM	Massa molar
p/p	Peso por peso
p/v	Peso por volume
pH	Potencial hidrogeniônico
Sen	Seno
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Microextração em fase sólida
SQR	Substância química de referência
SV	Solução volumétrica
USEPA	United States Enviroment Protection agency
UV	Ultra violeta
ε	Absortividade molar
θ	Ângulo de contato
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO……..	14
2	OBJETIVOS……	16
2.1	Objetivo principal……..	16
2.2	Objetivos específicos.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA……	17
3.1	Micropoluentes ambientais……	17
3.2	Etinilestradiol……	20
3.3	Quitosana……	26
3.4	Adsorção……	31
3.5	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	33
3.6	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta.....	35
3.7	Titulação potenciométrica.....	37
3.8	Difração de Raios X.....	37
3.9	Microscopia Eletrônica de Varredura	38
3.10	Análise termogravimétrica.....	39
3.11	Reações de identificação de grupos químicos.....	40
3.12	Granulometria.....	42
4	METODOLOGIA.....	44
4.1	Desenvolvimento experimental.....	44
4.2	Matérias primas.....	45
4.3	Etapa 1 - Caracterização das matérias primas.....	45
4.4	Etapa 2 - Obtenção das esferas de quitosana.....	48
4.5	Etapa 3 - Caracterização das esferas de quitosana.....	48
4.6	Etapa 4 - Estudos de adsorção.....	48
4.6.1	Avaliação do efeito do pH na adsorção de etinilestradiol.....	49
4.6.2	Avaliação cinética da adsorção do etinilestradiol.....	50
4.6.3	Técnicas analíticas.....	50
4.7	Etapa 5 - Caracterização das esferas de quitosana carregadas com etinilestradiol.....	50
4.7.1	Avaliação da estabilidade do pó e das esferas de quitosana carregadas	

	com etinilestradiol	51
4.7.2	Medidas de diâmetro em projetor de perfil	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1	Caracterização das matérias primas	52
5.1.1	Análises termogravimétricas	52
5.1.2	Difração de raio X	53
5.1.3	Grau de desacetilação da quitosana	54
5.1.4	Espectroscopia na região do infravermelho	56
5.1.5	Espectroscopia na região do ultra violeta- visível	59
5.1.6	Reação de identificação de grupos químicos	59
5.2	Produção das esferas de quitosana	60
5.3	Caracterização das esferas de quitosana	61
5.3.1	Microscopia eletrônica de varredura	61
5.3.2	Espectroscopia na região do infravermelho	61
5.3.3	Granulometria	62
5.4	Estudos de adsorção	63
5.4.1	Influência do pH na capacidade de adsorção	63
5.4.2	Estudo da adsorção em função do tempo	66
5.4.3	Identificação de etinilestradiol na superfície de quitosana	67
5.4.4	Avaliação da estabilidade da interação substrato-adsorvato	69
5.4.5	Microscopia Eletrônica de Varredura	70
6	CONCLUSÕES	72
7	PERSPECTIVAS FUTURAS	74
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1 INTRODUÇÃO

A contaminação de águas superficiais com resíduos industriais ou resultantes da ação antropogênica é uma das grandes questões a serem solucionadas pela sociedade contemporânea devidos aos impactos ambientais e à saúde humana advindos das referidas ações (HATJE; COSTA; CUNHA, 2013).

Mais do que somente uma preocupação ecológica, a destinação correta de resíduos e a recuperação de recursos ambientais já afetados pela ação desordenada da sociedade, deve ser analisada pela comunidade científica e pelo poder público com o objetivo de minimizar os impactos ambientais advindos de uma utilização não sustentável dos recursos naturais (CARVALHO et al., 2009).

Entre os segmentos industriais, a indústria farmacêutica se apresenta como produtora de uma grande variedade de resíduos devido à sua diversidade e complexidade de produção, não estando ainda estabelecidos os limites de despejos ambientais para maior parte de seus resíduos (GIL et al., 2007).

As características estruturais e as propriedades físico-químicas dos resíduos farmacêuticos como fotossensibilidade, biodegradabilidade, lipofilicidade, interferem na eficiência do processo de tratamento de seus efluentes. Os fármacos apresentam características físico-químicas que dificultam a sua remoção por processos de tratamentos convencionais, utilizados em estações de tratamentos de efluentes (MELO, et al. 2009).

Na busca por novas tecnologias e utilização de materiais com potencial poder de adsorção, a quitosana se apresenta como alternativa a ser utilizada na redução de concentrações de fármacos em águas de abastecimento (FÁVERE; RIELLA; ROSA, 2010).

Segundo Verbinnen, Nunes.e Vieira (2010), diversos trabalhos têm sido dedicados ao desenvolvimento de métodos para a determinação e quantificação de desreguladores endócrinos e avaliação de sua atividade estrogênica em organismos

aquáticos. Técnicas de preparo de amostras, como por exemplo, extração em fase sólida (SPE), micro extração em fase sólida (SPME), técnicas cromatográficas com destaque para cromatografia líquida (LC) e cromatografia gasosa (GC) com detectores de arranjos de diodo (DAD), detector de fluorescência (FLD) e detector espectrométrico de massa (MS), têm sido desenvolvidas para detecção e quantificação de desreguladores endócrinos no meio ambiente (CASS; DEGANI, 2011; COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; DIAZ-CRUZ et al., 2003; JARDIM; COLLINS; GUIMARAES, 2006).

Dessa forma, é necessário desenvolver metodologias eficientes para a remoção desses contaminantes em águas de abastecimento. Dentre os processos de tratamento mais utilizados, o processo de adsorção se destaca por ser um método de remoção altamente eficaz e economicamente mais viável, principalmente quando são utilizados adsorventes naturais como a quitosana (JANEGITZ,et al., 2007).

O uso de quitina, quitosana e seus derivados para a remoção de vários poluentes de águas residuais apresentam muitas vantagens como o baixo custo, a baixa toxicidade e a excelente capacidade de adsorção, especialmente para íons metálicos e corantes. Seu potencial para outros poluentes, por exemplo, fenóis, ânions, pesticidas e substâncias húmicas têm sido extensivamente pesquisado (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

Produzir e avaliar o potencial de esferas e pó de quitosana como adsorvente para etinilestradiol em meio aquoso e comparar com o desempenho de quitosana em pó.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir esferas de quitosana através do método de coagulação.

- Caracterizar química e morfologicamente quitosana e etinilestradiol empregando as técnicas de termogravimetria, difração de raio x, titulação potenciométrica, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, reação de identificação, espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível e microscopia eletrônica de varredura.

- Avaliar a adsorção de etinilestradiol em meio aquoso, utilizando como adsorvente a quitosana na forma de pó e esferas.

- Estudar o efeito do pH e do tempo de contato do adsorvente com etinilestradiol em solução aquosa na eficiência da adsorção.

- Avaliar o mecanismo de adsorção de etinilestradiol em esferas de quitosana.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Micropoluentes ambientais

Um dos campos mais proeminentes da química ambiental é o estudo de micropoluentes orgânicos em ambientes aquáticos. Micropoluentes orgânicos são substâncias que mesmo estando presentes em pequenas concentrações, são capazes de desencadear efeitos sobre os sistemas em que são introduzidos. O termo vem sendo empregado há muito tempo, tanto que Mackay (1982) já classificava como micropoluentes os compostos químicos usualmente detectados em concentrações abaixo de uma parte por milhão (1mg/L). Porém, dentro deste grande grupo que compreende um universo de milhares de compostos, os chamados disruptores endócrinos (agentes hormonalmente ativos) vêm se destacando em importância (REIS FILHO et al., 2006).

A USEPA (*United States Environmental Protection Agency*) define disruptores endócrinos (EDCs) como agentes exógenos que interferem na síntese, secreção, transporte, recepção, ação, ou eliminação dos hormônios naturais do corpo, que são responsáveis pela manutenção da homeostase (preservação da constância interna), reprodução, desenvolvimento e comportamento (REIS FILHO et al., 2006).

Nos últimos anos, tem aumentado a preocupação sobre a exposição de seres vivos a pequenas quantidades de produtos químicos sintéticos que podem interferir no sistema endócrino de humanos e animais. O debate sobre desreguladores endócrinos deve-se a grande diversidade de produtos químicos implicados, pela complexidade das supostas interações entre produtos e meio ambiente e os níveis muito baixos das doses envolvidas.

As discussões sobre hormônios desreguladores endócrinos só apareceu no âmbito político, por volta de 1996. Um dos aspectos mais controversos do debate em relação aos desreguladores endócrinos é que doses muito baixas podem causar efeitos biológicos significativos. Tradicionalmente, a toxicologia assume que a resposta biológica a um produto químico aumenta sempre com doses crescentes.

Em relação aos desreguladores endócrinos relatou-se que os efeitos de bisfenol e dietilestilbestrol (DES) na próstata de ratos em desenvolvimento foram inibidos por altas doses e para doses 10 mil vezes inferiores. Assim, a curva dose-resposta tem a forma de um U invertido, observando-se dados de resposta a altas doses e respostas a doses muito baixas nas quais não se esperaria ter nenhuma resposta. Outro grande desafio é a dose limiar que é o ponto no qual a toxicidade começa a se manifestar, conhecido também como limite de segurança. Para todos os produtos químicos, a toxicologia clássica assume que há uma dose segura, abaixo da qual os mecanismos naturais de proteção do corpo evitam a ocorrência de danos, entretanto, um crescente conjunto de evidências sugere que, para sistemas hormonais não existe tal dose limiar (U. K. 1998).

A presença de fármacos em águas de abastecimento tem sido alvo de estudos nas áreas de saúde pública e ambiental devido principalmente a sua persistência no meio ambiente e aos efeitos adversos causados à comunidade aquática e à saúde humana, mesmo em concentrações da ordem de microgramas ou nanogramas por litro (ARCAND-HOY,BENSON,1998; RIGOBELLO, 2011).

De acordo com Melo et al. (2009), a maior parte dos fármacos que chega às estações de tratamento de efluentes (ETE) é proveniente de excreção metabólica após prescrição na medicina humana ou veterinária. Os resíduos seguem com o esgoto bruto para as ETE onde são, na maioria dos casos, submetidos a processos convencionais de tratamento. Contudo, os processos convencionais baseados na degradação biológica que se caracteriza pela ação de microorganismos na matéria orgânica do efluente, metabolizando a matéria orgânica dos contaminantes, não são eficientes para a completa remoção de fármacos residuais por possuírem ação biocida ou estruturas químicas complexas não passíveis de degradação por microorganismos, comprovado por diversos estudos que mostram a presença desse tipo de contaminante em efluentes de ETE.

Segundo Ferreira (2008), o principal fator que influencia na remoção de poluentes presentes em amostras aquosas é a habilidade dos poluentes em interagir com partículas sólidas, naturais (lodo, sedimentos ou microorganismos) ou adicionadas ao meio (carvão ativo ou coagulantes), pois isto facilita a remoção por processos

físico–químicos (floculação) ou processos biológicos. Entretanto, compostos com baixos coeficientes de adsorção tendem a permanecer na fase aquosa, o que favorece a mobilidade pelo sistema de tratamento de esgoto e pelas águas receptoras. Deste modo, muitos produtos farmacêuticos permanecem na fase aquosa, como os anti-inflamatórios e os antibióticos, enquanto outros podem ser adsorvidos no lodo, como os estrogênios.

Dessa forma, a preocupação com os resíduos de fármacos presentes no meio aquático é de extrema relevância, uma vez que, chegando a estações de tratamento de água (ETA) podem prejudicar diretamente a população (WILLIAMS et al., 2006). Este fato torna imperativo o controle e remoção desses compostos farmacêuticos do meio aquático (AL-RIFAI et al., 2007; KASPRZYK-HORDERN et al., 2007), principalmente tratando-se de águas para o consumo humano (BELISÁRIO, 2009).

Entre os vários poluentes aquosos geralmente presentes em efluentes encontram-se os fenóis substituídos, grupo químico no qual etinilestradiol se enquadra e que são considerados poluentes prioritários. Fenóis podem conferir sabor e odor desagradáveis à água potável e podem exercer efeitos negativos sobre diferentes processos biológicos. Diante da natureza ubíqua dos fenóis, à sua toxicidade, mesmo quando presentes em quantidades traços, e as normas ambientais mais rigorosas, torna-se necessário desenvolver processos para sua remoção de águas residuais (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2009).

Dentre os hormônios sexuais, os estrógenos vêm recebendo maior atenção por serem compostos extremamente ativos biologicamente e estão relacionados à etiologia de vários tipos de cânceres. Os estrógenos naturais 17α-estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) e o sintético 17-etinilestradiol (EE2), desenvolvido para uso médico em terapias de reposição e métodos contraceptivos, são os que despertam maior preocupação, tanto pela potência como pela quantidade contínua introduzida no ambiente. Esses hormônios possuem a melhor conformação reconhecida pelos receptores e, portanto, resultam em respostas máximas, sendo considerados como responsáveis pela maioria dos efeitos disruptores desencadeados pela disposição de efluentes (REIS FILHO, 2006).

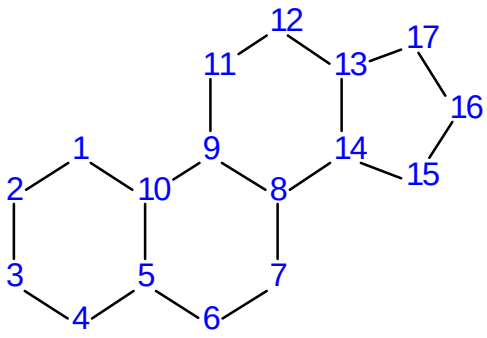
Tanto os estrogênios naturais (estrona e 17-estradiol), como o sintético (17-etinilestradiol) foram detectados em esgoto domésticos e efluentes de ETE em várias investigações. Ternes et al. (2002), identificaram a presença de vários estrogênios no esgoto doméstico e efluentes de ETE na Alemanha, Brasil e Canadá. Concluíram que esses estrogênios são freqüentemente encontrados nos descartes de ETE e águas naturais (BILA; DEZOTTI, 2003). Por exemplo, o etinilestradiol, principal componente das pílulas anticoncepcionais, é comumente eliminado na urina e nas fezes das mulheres usuárias de anticoncepcionais orais em quantidade diária que varia entre 25 a 50 µg/dia (VERAS, 2006).

É necessária avaliação criteriosa dos efeitos desses fármacos no meio aquático. Uma vez conhecidos os efeitos, será necessário estabelecer os limites de concentrações para o descarte seguro de efluentes domésticos tratados em corpos receptores. O monitoramento da eficiência de remoção desses fármacos pelos processos convencionais de tratamento de efluentes das ETE's é de grande importância. No futuro, podem ser necessárias adaptações, ou mesmo implantar outros processos de tratamento que complementem a remoção adequada desses fármacos (BILA; DEZOTTI, 2003). Inúmeros são os efeitos desencadeados pelos hormônios sexuais sobre a biota (MANAHAN, 2003): alterações nas taxas de fecundidade, fertilização, eclosão, modificações comportamentais, agressividade, histopatologias (fígado, gônadas, rins), imunodepressão, imposex, que é o desenvolvimento de características sexuais femininas em machos ou o oposto, através de mutação, e inibição do desenvolvimento dos órgãos sexuais e reversão sexual. Os vários efeitos manifestam-se após interação entre agentes e receptores bioquímicos. Portanto, as respostas bioquímicas são perceptíveis antes que os efeitos sejam observáveis em níveis de organização superior, como em populações, comunidades e ecossistemas (PIRES, 2009).

3.2 Etinilestradiol

Os compostos esteróides fazem parte de um grupo químico com características lipossolúveis e apresentam em comum em suas moléculas o núcleo cíclico similar ao fenantreno, ciclopentanoperidrofenantreno, cuja estrutura química está representada na Figura 1.

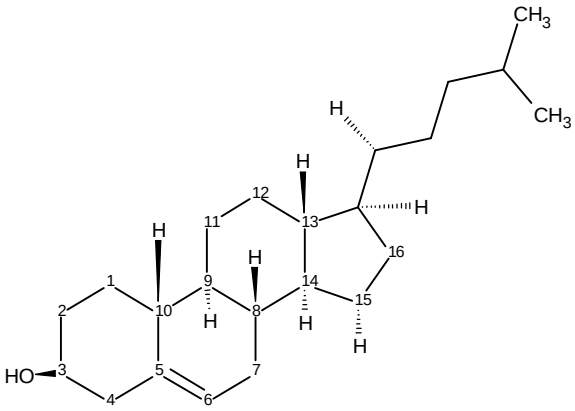
Figura 1 - Estrutura química do ciclopentanoperidrofenantreno



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software ACD/ChemSketch freeware

Na Figura 2 está representada a estrutura química do colesterol, o precursor da maioria dos esteróides, que é sintetizado pelo fígado e convertido em ácidos biliares utilizados na digestão ou esterificados para transporte pelo sangue.

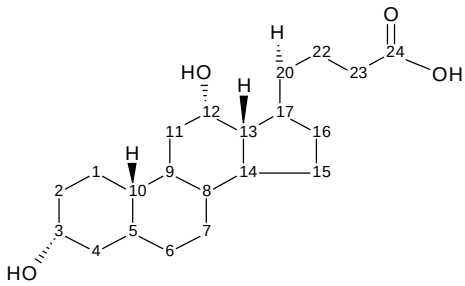
Figura 2 – Estrutura química do colesterol



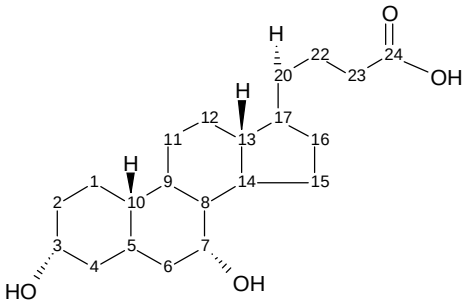
Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software ACD/ChemSketch freeware

Os ácidos biliares, com estruturas químicas apresentadas na Figura 3, agem sobre a gordura, que possuem majoritariamente triglicerídeos. Com auxílio de enzimas como as lipases as gorduras são transformadas em ácidos graxos, glicerol e moléculas menores que passam a ser absorvidas pelo intestino.

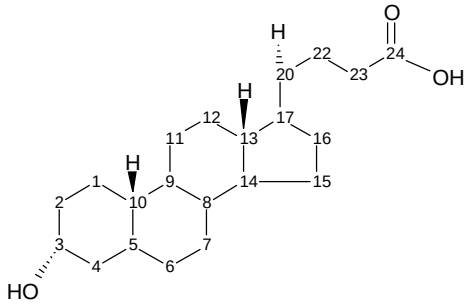
Figura 3 - Estruturas químicas dos principais ácidos biliares



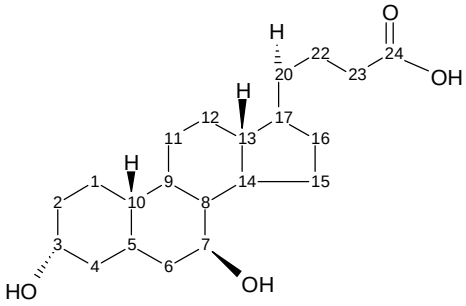
(a) Ácido desoxicólico



(b) Ácido quenodesoxicólico



(c) Ácido litocólico



(d) Ácido ursodesoxicólico

Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software ACD/ChemSketch freeware

Os principais ácidos biliares são o ácido desoxicólico (Fig. 3a) e o ácido quenodesoxicólico (Fig. 3b). No cólon intestinal são metabolizados pela flora bacteriana fornecendo principalmente o ácido litocólico (Fig. 3c) e desoxicólico (Fig. 3a) e mais a frente do processo metabólico os ácidos ursodesoxicólico (Fig. 3d). O número de hidroxilas presentes na estrutura e a hidrofobicidade destes derivados são características importantes destes compostos. Quanto maior o número de hidroxilas menor será hidrofobicidade, ou seja, maior sua solubilidade em água e menor sua toxicidade (SCHEFER et al., 2012).

Os hormônios esteróides são um grupo biologicamente ativo, secretados pelo córtex adrenal, testículos, ovário e placenta em humanos e animais, e incluem progestógenos, glicocorticóides, mineralocorticóides, andrógenos e estrógenos. Os estrogênios naturais (estradiol, estrona e estriol) são predominantemente hormônios do sexo feminino que são importantes para a manutenção da saúde dos tecidos

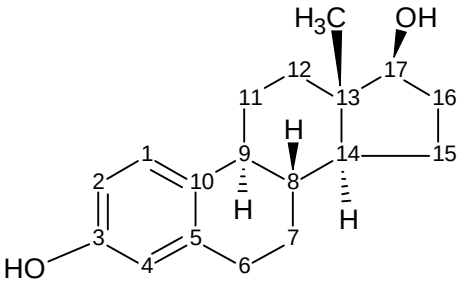
reprodutivos, seios, pele e cérebro. Progestogênios (progesterona) podem ser pensada como um hormônio balanceador, principalmente de estrogênios. Os androgênios (testosterona, dehidroepiandrosterona e androstenediona) desempenham um papel importante na regeneração dos tecidos, especialmente na pele, ossos e músculos (YING et al., 2002).

Os esteróides sintéticos são basicamente obtidos a partir de reações de alquilação (principalmente por grupos metila e etila) ou esterificação dos hormônios naturais, prevenindo-os da metabolização rápida quando no organismo, garantindo assim o efeito desejado seja como anticoncepcional ou na redução dos sintomas da menopausa. Os esteróides sintéticos mais utilizados são o etinilestradiol, mestranol (estrogênios), norgestrel e noretisterona (progestagênicos), metiltestosterona, fluoximesterona, etilestrenol, mesterolona, fenilpropionato de nandrolona e ésteres da testosterona, como anabolizantes (BIRKETT; LESTER, 2003; LINTELMANN et al., 2003; GHISELLI; JARDIM, 2007).

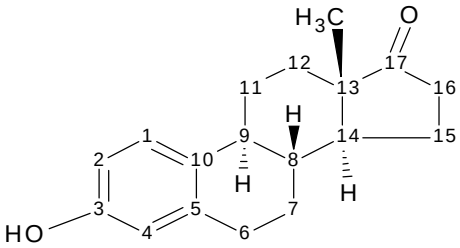
Os estrogênios, androgênios e progestagênios, tanto naturais quanto sintéticos, são excretados principalmente pela urina, na forma biologicamente inativa, ou seja, como conjugados solúveis em água (principalmente glucoronídios ou sulfatos) e em menor proporção pelas fezes (na forma livre), apresentando variações com relação à solubilidade em água, taxa de excreção e catabolismo biológico. Sob condições ambientais estes conjugados são rapidamente hidrolisados, levando aos hormônios livres portanto ativos e seus metabólitos (SHIMADA et al., 2001; BIRKETT; LESTER, 2003 LINTELMANN et al., 2003; GHISELLI; JARDIM, 2007).

O etinilestradiol, cuja fórmula estrutural está representada na Figura 4d corresponde ao derivado etinílico sintético do estradiol. É usado isoladamente e também como componente de anticoncepcionais orais. É utilizado na terapia de reposição estrogênica, no tratamento de carcinoma de mama e de próstata.

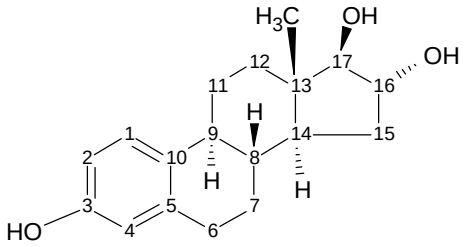
Figura 4 - Estruturas químicas dos principais hormônios estrogênios



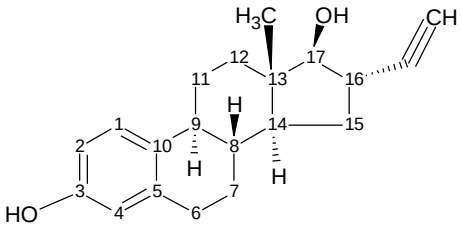
(a) 17 β – Estradiol



(c)' Estrona



(b) Estriol



(d) 17α – Etinilestradiol

Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software ACD/ChemSketch freeware

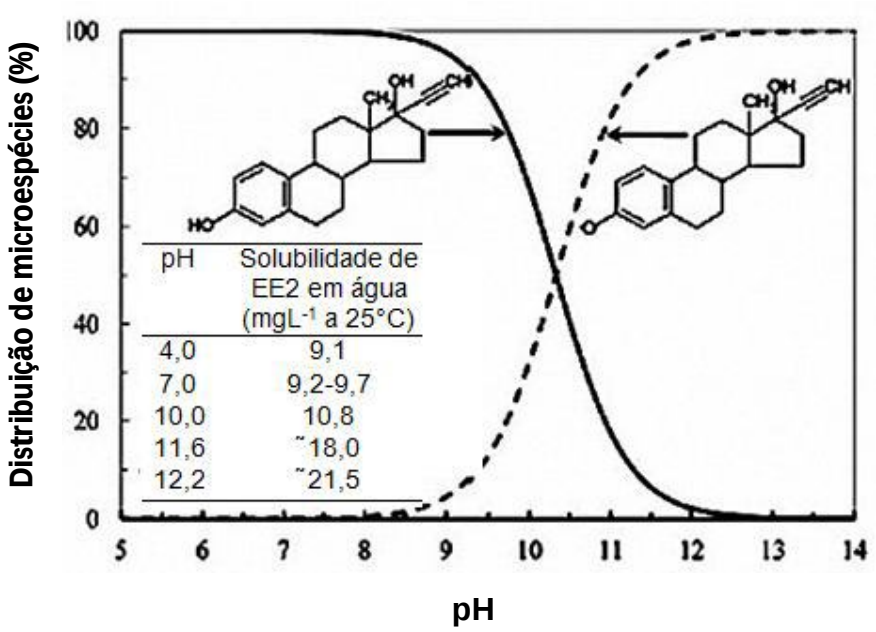
O hormônio esteróide etinilestradiol com Denominação Comum Internacional (DCI) de *ethinylestradiolum* apresenta formula molecular $C_{20}H_{24}O_2$ e massa molar 296,40 g/mol, tendo como denominação comum brasileira (DCB) etinilestradiol e designado pelo número de DCB 03699. Segundo as regras da IUPAC - *Internacional Union of Purę and Applied Chemistry* é denominado (17α)-19-Norpregna-1, 3,5(10)-trien-20-ino-3,17-diol, com registro no Chemical Abstracts Service (CAS) de [57-63-6] (BRASIL, 2010).

Segundo a especificação da Farmacopéia Brasileira 5ª edição o insumo farmacêutico deve conter, no mínimo 97,0% e no máximo 102,0% de $C_{20}H_{24}O_2$, em relação à substância dessecada. O etinilestradiol é um pó cristalino, branco ou levemente amarelado, inodoro. A solução a 2% (p/v) em etanol apresenta aspecto límpido. É muito pouco solúvel em água, solúvel em acetona, clorofórmio, dioxano,

etanol e éter etílico. Solúvel em soluções alcalinas diluídas. Apresenta faixa de fusão entre 180°C a 186°C. Sendo que sua forma polimorfa funde-se na faixa de temperatura entre142°C a 146°C.

O 17α-Etinilestradiol, assim como os demais estrogênios sintéticos, possui baixa pressão de vapor e solubilidade em água. A Figura 5 representa o diagrama de distribuição das formas ionizadas e não ionizadas do etinilestradiol em solução aquosa de acordo com o pH da solução. Seu coeficiente de partição água/óleo é 3,67, este valor o classifica como de moderado potencial de bioacumulação. Sendo um esteróide derivado do 17β estradiol (natural), apresentando como diferença a presença de um grupo etinil na molécula de origem. Este grupo é o principal responsável pelo aumento da estabilidade metabólica observada após a ingestão oral da substância (OKKERMAN; GROSHART, 2001; FERNANDES, 2007).

Figura 5 – Distribuição de microespécies de etinilestradiol em solução aquosa.



Fonte: HAN et al, 2013.

Os grupamentos fenólicos são cromóforos comuns em muitas moléculas biologicamente importantes, incluindo o aminoácido tirosina (BIRKETT; LESTER, 2003; U.K, 1998; KRAMER et al.,1998; HANSEN, 1998), uma importante classe de lipídeos (CAI et al., 2012) e uma série de esteróides, como hormônios estrogênios. A

porção fenólica desempenha papel importante na ligação e reatividade destes compostos (LÓPEZ-ROLDÁN et al., 2010; BARONTI et al., 2000; SALVADOR et al., 2007). Portanto, tornando-se importante como um marcador nas análises espectrofotométricas de ultravioleta.

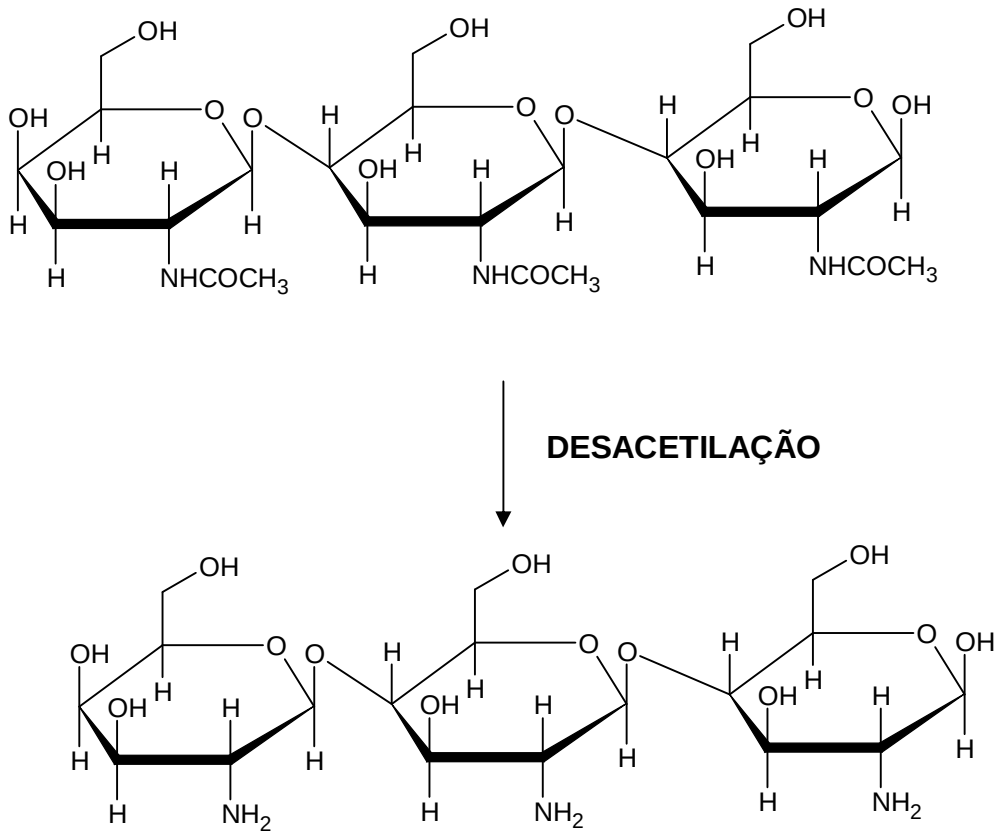
Os estrogênios naturais estrona e 17β-estradiol, e os sintéticos 17α-etinilestradiol, são os esteróides fenólicos responsáveis pelo desenvolvimento de características sexuais secundárias em vertebrados do sexo feminino, podendo ser fotodegradados (RODRIGUEZ-MOZAZ; ALDA; BARCELÓ, 2004; QIN et al., 2008; VEGA-MORALES; SOSA-FERRERA; SANTANA-RODRÍGUEZ, 2012). Tal método pode ser utilizado para remoção desses hormônios em águas de superfície. Os hormônios supracitados foram encontrados em águas superficiais em concentrações altas suficientes para causar desequilíbrios populacionais em peixes (WANGS et al., 2008). Esses hormônios são comumente despejados em águas superficiais onde eles já foram encontrados em concentrações variando de níveis sub-ng/L a dezenas de ng/L (CAI et al. 2012). Estas concentrações aparentemente baixas são preocupantes em termos ambientais, uma vez que estrógenos exercem uma atividade de desregulação endócrina significativa e são capazes de induzir uma resposta estrogênica em peixes em níveis tão baixos quanto 0,1-1,0 ng/L (KRAMER et al, 1998; HANSEN, 1998; CIOFI et al , 2013).

Entre as técnicas que apresentam potencial de remoção do etinilestradiol em efluentes são citadas na literatura a pré-oxidação com cloro, ozônio e UV; adsorção com carvão ativado granular e em pó e separação por membranas. O tratamento convencional não é eficiente em sua remoção (BIANCHETTI, 2008).

3.3 Quitosana

Comercialmente, a quitina e quitosana são polissacarídeos com estruturas químicas representadas na Figura 6, obtidas a custo relativamente baixo a partir de conchas de moluscos principalmente caranguejos, camarões, lagostas e krills, rejeitos dos mariscos processados pela indústria.

Figura 6 – Estruturas químicas da quitina e da quitosana



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software ACD/ChemSketch freeware

Basicamente o processo consiste de desmineralização das cascas e ou esqueletos que são secos e moídos, o pó é tratado com solução de HCl 0,5M e posteriormente, a desproteinação do material é executada com uma solução diluída de NaOH 1% sob agitação por 24h a 65ºC. A quitina se difere quimicamente da quitosana pelo grau de desacetilação (GD). O grau de desacetilação é uma das características mais importantes da quitosana, ele determina o conteúdo de grupos amínicos livres no polissacarídeo diferenciando-o da quitina e influenciando principalmente a sua solubilidade (DAMIAN, 2005). Para resultar em quitosana (GD de 70–90%), a quitina (GD 5–2%) é submetida a N-desacetilação pelo tratamento com uma solução de

NaOH 50% a 100^{o}C de 2 a 5 horas sob atmosfera de nitrogênio e o resíduo é lavado para eliminação do excesso alcalino e seco a 110ºC por 24 h. Quanto maior o grau de desacetilação maior a quantidade de grupos NH_2 no polímero (SANTOS, 2004; COSTA JUNIOR, 2008).

Na literatura podem-se encontrar vários trabalhos que indicam o potencial da quitosana como biomaterial a ser utilizado em processos adsortivos seja direcionado ao tratamento de efluentes ou ao processo de carreamento de fármacos. As mesmas características que justificam o uso de carvão ativado em pó (CAP) em processos de adsorção podem ser empregadas para a quitosana, sendo, portanto esse biomaterial, uma possível alternativa para adsorção de etinilestradiol de soluções aquosas.

Segundo Mendes (1989) o mecanismo de coagulação é desenvolvido por intermédio da utilização de compostos orgânicos (polímeros) sintéticos ou naturais, utilizados como coagulantes ou auxiliares de coagulação. Podem apresentar sítios ionizáveis ao longo de suas cadeias, ou não, sendo deste modo classificados como catiônicos aniônicos ou anfóteros. Para o autor, o comportamento dos polímeros como coagulantes, pode ser explicado baseando-se na sua adsorção na superfície das partículas coloidais, seguida pela redução da carga ou pelo entrelaçamento das partículas nas cadeias do polímero.

Os principais mecanismos que atuam na coagulação são: compressão de camada difusa; adsorção e neutralização; varredura e adsorção e formação de pontes (PAVANELLI, 2001). Sendo, portanto, o processo de coagulação de solução de quitosana em meio básico um mecanismo a ser testado para adsorção de etinilestradiol.

A quitosana apresenta um grande potencial para aplicações na indústria farmacêutica como encapsulante de drogas lipofílicas (RIBEIRO et al., 1999), de alimentos como encapsulante de probioticos e prebioticos (CHÁVARRI et al., 2010), aromas (HIGUERA-CIAPARA et al., 2003), enzimas (ANJANI; KAILASAPATHY.; PHILLIPS, 2007) e antioxidantes (WEERAKODY; FAGAN.; KOSARAJU, 2008; ROSA, 2012). Vários agentes terapêuticos tais como antibióticos, anti-cancerígenos,

anti-inflamatórios, anti-trombóticos, esteróides, proteínas, aminoácidos, diuréticos e antidiabéticos, têm sido incorporados em microesferas para se conseguir a sua liberação controlada (SINHA et al., 2004).

A quitosana tem sido usada para a produção de microesferas e de microcápsulas em pesquisas na liberação controlada de hormônios. Também tem sido utilizada para distribuição oral e nasal de fármacos polares incluindo peptídeos e proteínas e distribuição de vacinas. Estas propriedades, juntamente com a isenção da toxicidade, fazem da quitosana um promissor excipiente para indústria farmacêutica atual e do futuro (LIMA, 2010).

Sinha et al. (2004) afirmam que alguns trabalhos comprovaram que a taxa de distribuição de fármacos foi reduzida com o aumento da concentração da quitosana. Sugerindo que outros parâmetros devem ser investigados como o estado físico da droga nas microesferas, efeito da densidade de reticulação e o efeito de aditivos.

As membranas preparadas com quitosana têm apresentado grande permeabilidade tanto para fármacos ácidos, como para fármacos básicos. Estudos de liberação controlada de fármacos com microesferas de quitosana têm mostrado, geralmente, que a liberação do fármaco diminui com o aumento da massamolar da quitosana. Muitos parâmetros determinam o comportamento de liberação do fármaco a partir de microesferas de quitosana. Microesferas de quitosana, portanto, parecem ser agentes muito promissores para carrear droga com ação prolongada como esteróides (SINHA et al., 2004).

Vários estudos científicos apontam a quitosana como biomaterial com poder de adsorção de lipídeos, segundo Azevedo et al. (2007), devido à alta densidade de cargas positivas, a quitosana atrai e se liga aos lipídeos (moléculas de gordura de natureza negativa) como uma “esponja”. Em um ambiente ácido como o estômago, a quitosana adsorve as gorduras durante a digestão, formando uma esponja de gordura, de baixa digestão. No intestino, um ambiente básico, a esponja de gordura é solidificada e eliminada pelas fezes, sem ser aproveitada pelo organismo.

A quitosana possui propriedades singulares no que diz respeito as suas aplicabilidades. Em particular, o excelente comportamento adsortivo apresentado é atribuído principalmente ao seu alto poder hidrofílico, devido aos grupos hidroxila presentes nas unidades de glicose, a presença de um grande número de grupos funcionais (acetoamida, amina primária e grupos hidroxilas), a alta reatividade química desses grupos e finalmente a flexibilidade estrutural da cadeia polimérica (SILVA et al., 2006; CHAVES, 2009; PILLAI, et al. 2009).

A quitosana representa um avanço em direção ao equilíbrio auto-sustentável, pois, quando usada nos processos de tratamento de efluentes o lodo proveniente dos tanques de decantação, não conteria elementos metálicos ou qualquer outra espécie potencialmente nociva às espécies vivas como nos tratamentos convencionais em que se utiliza sulfato de alumínio como coagulante. A quitosana oferece a vantagem que após o processo de tratamento, o lodo poderia ser conduzido a um aterro sanitário comum, enquanto que com o sulfato de alumínio o resíduo final deverá ser disposto em aterro sanitário industrial (SPINELLI et al., 2001).

No tratamento de água, o alto teor de nitrogênio da quitosana resulta nas propriedades de ligação com compostos orgânicos e metais. A quitosana dissolvida quando apresenta caráter catiônico com nitrogênio protonado, (BORDI et al., 1991) atua como coagulante, precipitando partículas com cargas negativas como complexos fosfolipídios e moléculas como proteínas. Quando se apresenta como base, por conta dos átomos de nitrogênio livres, associa-se aos íons metálicos tóxicos no tratamento de águas residuais (STOPA, 2007).

Na área ambiental, a quitosana é conhecida como um bioadsorvente para remoção de íons metálicos tóxicos, corantes e compostos orgânicos sendo utilizada nos processos de tratamento e purificação da água (VARNA, DESHPANDE, KENNEDY, 2004). Atua como floculante e coagulante nos processos de tratamento de efluentes industriais. Ainda pode remover o petróleo de derramamentos no mar, contribuindo na solução de um dos grandes problemas ambientais (SPINELLI et al, 2001).

A proposta de utilização de quitosana como adsorvente de etinilestradiol se baseia na semelhança química que tais moléculas apresentam com os ácidos biliares que

estudos já descreveram serem adsorvidos pela quitosana e por ser esta um composto com propriedades adsortivas relatadas em diversos estudos científicos (LARANJEIRA; FAVERE, 2009).

De acordo com Goy; Assis, e Campna-Filho, (2004) a quitosana em forma de esferas foi utilizada preferencialmente por apresentar vantagens de melhor caracterização superficial, permitindo o estabelecimento de parâmetros geométricos úteis para reprodutibilidade do processo e para comparações, além de aspectos como otimização de empacotamento em reatores e dispositivos de filtração.

3.4 Adsorção

Adsorção é o termo utilizado para descrever o fenômeno no qual moléculas que estão presentes em um fluido, líquido ou gás, concentram-se espontaneamente sobre uma superfície sólida. Geralmente, a adsorção parece ocorrer como resultado de forças não balanceadas na superfície do sólido e que atraem as moléculas de um fluido em contato por um tempo finito (CAVALCANTE, 1998).

A adsorção consiste na separação de componentes de uma mistura em que ocorre transferência de massa, sendo um composto diluído em uma fase fluida e outro sólido adsorvente (MARELLA; SILVA, 2005). É um processo eficiente e econômico de baixo consumo de energia, que vem despertando grande interesse em relação à pesquisa de novos materiais que possam ser utilizados como adsorventes, principalmente em relação à bioadsorção (BRANDÃO, 2006).

A adsorção está intimamente ligada à tensão superficial das soluções e a intensidade deste fenômeno depende da temperatura, da natureza e da concentração da substância adsorvida (o adsorbato), da natureza e estado de agregação do adsorvente (o sólido finamente dividido) e do fluido em contato com o adsorvente (o adsortivo) (CAVALCANTE, 1998).

Considerando que a tensão superficial é um fenômeno de superfície, então a influência do soluto na tensão superficial de uma solução dependerá da maior ou menor concentração deste soluto na superfície da solução. Quanto maior a presença

de soluto na superfície da solução, menor a tensão superficial da solução e mais facilmente o soluto será adsorvido pelo sólido. Se for o inverso, quanto menor a concentração do soluto na superfície da solução, maior a tensão superficial e dificilmente o soluto será adsorvido pelo sólido. Desta forma, quanto maior for a tendência de um soluto em diminuir a tensão superficial, maior será a tendência do mesmo em se dirigir a superfície da solução (CAVALCANTE, 1998).

A bioadsorção também é um processo de purificação, em que materiais poluentes são removidos do ambiente aquático, por meio da adsorção empregando produtos naturais, chamados bioadsorventes (JUSTI, 2006; LIMA, ALSINA, SILVA, 2010). A utilização de bioadsorventes para o tratamento de efluentes contaminados com fármacos, quando comparado aos demais métodos de descontaminação, apresenta-se como uma proposta promissora (BILA; DEZOTTI, 2007), eficiente, economicamente viável e ecologicamente sustentável. A grande disponibilidade e o baixo custo dos resíduos agrícolas e industriais têm despertado interesse quanto ao seu melhor aproveitamento, podendo dessa forma ser utilizados para a adsorção de fármacos contaminantes. Milhões de toneladas desses resíduos são produzidos no mundo anualmente e, na maioria das vezes, removidas por meio de co-processamento provocando problemas de poluição ambiental (SOUZA; LIMA; SILVA, et al., 2011; ALBERTINI et al., 2007).

A adsorção é um importante processo de purificação e separação nas áreas petrolífera, de alimentos, da química fina e da biotecnologia. É uma opção válida para a remoção de poluentes diluídos em efluentes líquidos, bem como para a recuperação de componentes de alto valor agregado diluídos em correntes industriais (SCHEER et al., 2002).

Classificam-se os fenômenos adsortivos quanto às forças responsáveis, em dois tipos: adsorção química e adsorção física. A adsorção química, ou quimissorção, é assim denominada porque neste processo ocorre efetiva troca de elétrons entre o sólido e a molécula adsorvida, ocasionando as seguintes características: formação de uma única camada sobre a superfície sólida, irreversibilidade e liberação de uma quantidade de energia considerável, em processo exotérmico. Por este motivo este tipo de adsorção é favorecido por uma diminuição de temperatura e também por um

aumento de pressão. A catálise heterogênea geralmente ocorre por meio da adsorção química dos reagentes (UNRUH, 2011). A adsorção física, que constitui o princípio da maioria dos processos de purificação e separação, é um fenômeno reversível onde se observa normalmente a deposição de mais de uma camada de adsorbato sobre a superfície adsorvente. As forças atuantes na adsorção física são idênticas as forças de coesão, forças de Van der Walls, que operam nos estados líquido, sólido e gasoso (CAVALCANTE, 1998).

A adsorção de fenóis em quitosana foi estudada em função do pH, temperatura e concentração inicial de fenol. O pH afeta o grau de ionização do fenol e as propriedades superficiais da quitosana. Os grupos funcionais de quitosana serão protonados em baixos valores de pH, resultando em uma atração mais forte dos íons de carga negativa no meio de adsorção. Como os fenóis são ácidos fracos, são parcialmente ionizados em solução. Esses íons carregados negativamente seriam diretamente atraídos devido a forças eletrostáticas dos grupos amino protonados da quitosana. Com o aumento do pH, a carga e superfície global da quitosana tornam-se negativa e a adsorção diminuída. A adsorção de equilíbrio de fenóis por quitosana também é afetada pela temperatura, que influencia tamanho dos poros ou a criação de novos locais ativos sobre a superfície do adsorvente, devido à ruptura de ligações (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2009).

3.5 Espectroscopia na região do infravermelho

A energia denominada infravermelho corresponde à região do espectro eletromagnético situada na faixa de número de ondas entre 14290 e 200cm^{-1}. A região que apresenta números de ondas entre 4000 e 400cm^{-1} é a mais comumente utilizada na caracterização de compostos orgânicos (BARBOSA, 2008).

O espectro de infravermelho apresenta bandas de absorção em vez de linhas, porque para cada mudança de nível vibracional, está associada uma série de transições rotacionais. O espectro é um gráfico em que, na ordenada, é apresentado a porcentagem de transmitância ou absorbância (0 a 100%). Na abscissa, é apresentado o número de ondas, que é recíproco do comprimento de onda em centímetros(cm^{-1}) (CANEVAROLO JUNIOR, 2007).

O espectro infravermelho apresenta grande número de bandas, a interpretação desses espectros não requer a atribuição de todas, mas apenas algumas mais características. Atualmente, os espectrofotômetros de infravermelho médio (4000 a 400cm^{-1}) utilizam o interferômetro ao invés do monocromador e a radiação policromática incide sob a amostra e os espectros são obtidos no domínio da freqüência com auxílio da transformada de Fourier. (BRASIL, 2010).

A espectroscopia no infravermelho apresenta potencial para determinação de um grande número de substâncias porque quase todas as espécies moleculares absorvem na região do infravermelho. A individualidade do espectro infravermelho apresenta um grau de especificidade que se compara a poucos métodos analíticos. (SKOOG et al., 2005)

As principais bandas de absorção na região do infravermelho características para os espectros da quitosana e do etinilestradiol estão relacionadas nas Tabelas 1 e 2 respectivamente.

Tabela 1 – Atribuições das principais bandas de absorção na região do infravermelho características da quitosana

COMPRIMENTO DE ONDA (cm^{1})	ATRIBUIÇÕES
3570 – 3200 e 3450	Estiramento de O-H e N-H
2955 – 2845 e 2922	Estiramento assimétrico de C-H
2878	Estiramento simétrico de C-H
1423	Deformação angular de CH_2
1650 – 1550	Deformação axial N-H (I)
1570 – 1515 e1560	Deformação axial de N-H (II)
1340 – 1250 e 1379	Deformação axial C-H de amina terciária
1321	Deformação axial C-N de amina primária
1260	Deformação axial C-N de amina secundária
1154 e 896	Estiramento COC (estrutura sacarídea – β-1-4)
1070 e 1030	Estiramento C-O (cíclico)

Fonte: adaptado de COSTA Jr; MANSUR, 2008; SILVERSTEIN, 2007; MARTINS, 2013.

Tabela 2 - Atribuições das principais bandas de absorção na região do infravermelho características do etinilestradiol

COMPRIMENTO DE ONDA (cm^{-1})	ATRIBUIÇÕES
3291-3409	Deformação axial O-H, larga, em ligação de hidrogênio intermolecular
3026	Deformação axial C-H aromática
2107	Deformação axial C≡C
2936	Deformação axial C-H assimétrica CH_3
2865, 2924	Deformação axial C-H assimétrica CH_2
1468, 1498, 1585	Deformação axial C=C do anel aromático
1231, 1248	Deformação angular O-H
1019 – 1059	Deformação axial C-C

Fonte: adaptado de SILVERSTEIN, 2007; EDUARDO, 2009; SILVA, 2012.

3.6 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta

A espectroscopia na região do ultravioleta e do visível fornece informações a respeito da interação da matéria com a radiação eletromagnética. A absorção da luz ultravioleta ou visível pela molécula é, geralmente, o resultado de uma transição eletrônica. Dependendo da energia necessária para a transição eletrônica, a estrutura orgânica absorverá a luz ultravioleta ou a luz visível. A radiação ultravioleta apresenta comprimento de onda entre 180 e 400 nanômetros (nm), enquanto que a luz visível tem comprimento de onda entre 400 e 780nm (BRASIL,2010)

Como o comprimento de onda (λ) é inversamente proporcional à energia, a luz ultravioleta possui maior energia que a luz visível. Quando a molécula é irradiada com luz UV ou visível pode ocorrer a absorção de um quantum de energia e um dos elétrons é excitado do orbital que ocupa a outro de maior energia (SILVERSTEIN, 2007).
.

A espectrofotometria visível e ultravioleta é um dos métodos analíticos mais usados nas determinações analíticas em diversas áreas. É aplicada para determinações de compostos orgânicos e inorgânicos, como, por exemplo, na identificação do princípio

ativo de fármacos. A espectroscopia de absorção molecular é valiosa para a identificação dos grupos funcionais na molécula. Mais importante, entretanto, são as aplicações da espectroscopia de absorção visível/ ultravioleta para a determinação quantitativa de compostos contendo grupos absorventes (SKOOG et al., 2005).

A absorção da região visível e ultravioleta depende, em primeiro lugar, do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Como conseqüência, o pico de absorção pode ser correlacionado com o tipo de ligação que existe na espécie que está sendo estudada.

Nos compostos orgânicos, os que possuem dupla ligação absorvem fortemente no ultravioleta remoto. Os compostos que possuem ligações simples e duplas alternadamente, chamadas de ligações conjugadas, produzem absorção em comprimentos de ondas maiores. Quanto mais extenso for o sistema conjugado, mais longos serão os comprimentos de onda absorvidos, podendo chegar à região do visível (SOLOMONS*;* FRYHLE*,* 2006)

A análise espectrofotométrica quantitativa por absorção tem como princípio a relação direta existente entre a quantidade de luz absorvida e a concentração das espécies absorvedoras, também conhecida como lei de Beer, a relação pode ser representada pela equação 1

$$A = \epsilon bc \qquad (1)$$

onde:

A = absorbância,

ϵ = absortividade molar,

c = concentração expressa em mol L^{-1}

b = caminho óptico em cm.

Para evitar possíveis desvios na lei de Beer deve-se procurar trabalhar com soluções diluídas (da ordem de 0,01M), evitando interações entre as moléculas, e com radiações monocromáticas (BRASIL, 2010).

3.7 Titulação potenciomêtrica

A titulação potenciométrica envolve medidas do potencial de um eletrodo em função do volume de titulante. Esta técnica fornece resultados mais confiáveis que aqueles gerados por titulações convencionais que utilizam indicadores químicos, sendo particularmente úteis em soluções coloridas ou turvas (SKOOG et al., 2005).

A titulação potenciométrica consiste em acompanhar os vários estágios e determinar o ponto final de um processo de titulação por intermédio da medida do pH. Neste método, o ponto de equivalência será revelado por uma abrupta modificação no valor do pH. Para a medida do pH, é necessário um potenciômetro que fornece diretamente os valores do pH à medida que a titulação avança.

Qualquer método capaz de detectar uma alteração brusca do potencial pode ser usado. Um dos eletrodos deve permanecer em potencial constante, não necessariamente conhecido. O outro eletrodo, que indica as mudanças de concentração iônica, deve ter resposta rápida. A solução que contém o analito deve ser agitada ao longo da titulação (VOGEL, 2002).
A detecção do ponto final da titulação pode ser feita com maior facilidade pelo exame da curva de titulação (gráfico da variação do pH em função do volume de titulante adicionado), que em geral é uma curva sigmóide.

3.8 Difração de Raios X

Entre as diversas técnicas de caracterização de materiais, a técnica de difração de raios X é a mais indicada na determinação das fases cristalinas presentes em diversos materiais. Essa técnica se baseia no fato de que na maioria dos sólidos, os átomos se ordenam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X. Ao incidir um feixe de raios X em um cristal, o mesmo interage com os átomos presentes, originando o fenômeno de difração. A difração de raios X ocorre segundo a Lei de Bragg, representada pela equação 2, a qual estabelece a relação entre o ângulo de difração e a distância entre os planos que a originaram que são característicos para cada fase cristalina (CANEVAROLO, 2007; OREFICE;; PEREIRA; MANSUR, 2012).

$$n\lambda = 2d \operatorname{sen} \theta \quad (2)$$

onde:

n= número inteiro

λ=comprimento de onda dos raios X incidentes

d= distância interplanar

θ= ângulo de difração

A técnica de difração de raios X é uma técnica vantajosa pela simplicidade e rapidez do método, a confiabilidade dos resultados obtidos, sendo o perfil de difração obtido característico para cada fase cristalina, a possibilidade de análise de materiais compostos por misturas de fases e uma análise quantitativa destas fases (ALBERS, 2002; SILVA NETO, 2013).

3.9 Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica utilizada na análise microestrutural de materiais, permitindo confirmar qualitativamente observações físicas relacionadas com a área de superfície. A técnica consiste na irradiação do material por um feixe de elétrons, cuja interação com a superfície da amostra promove emissão de uma série de radiações (elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios X característicos, elétrons Auger, fótons, etc.). Quando as radiações são captadas por detectores específicos geram-se imagens que podem fornecer informações sobre a topografia, composição, cristalografia entre outras (CANEVAROLO JUNIOR, 2007; OREFICE; PEREIRA; MANSUR, 2012).

A amostra é submetida a alto vácuo durante o processo de revestimento com ouro, que tem por finalidade tornar as amostras condutoras assim como remover água e outros solventes que podem interferir na imagem da morfologia da superfície (MORAIS, 2007).

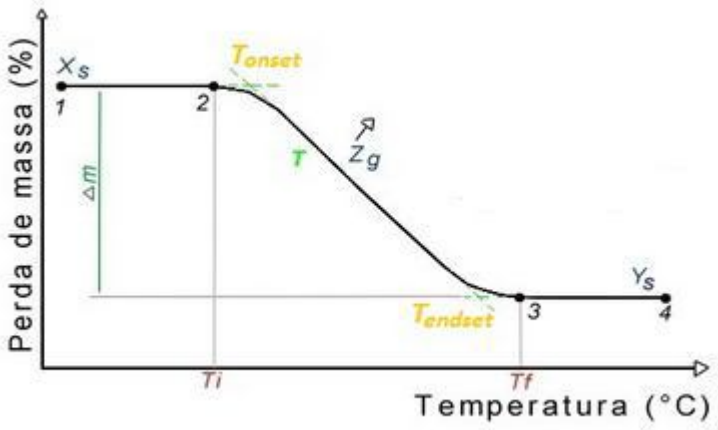
3.10 Análise termogravimétrica

A termogravimetria (TG) é um método de análise térmica em que se verificam variações de massa de uma determinada substância em função da temperatura. Na TG a expressão dessa alteração se dá através da variação da massa da substância em análise.

O instrumental básico da termogravimetria é uma balança de precisão adaptada a um forno programado em que a temperatura varie linearmente com o tempo. Os resultados são expressos em forma de uma curva gravimétrica onde se registra a variação de massa em função do tempo ou temperatura.

Os patamares ou partes horizontais da curva são regiões em que não ocorre variação de massa na amostra, enquanto, as partes curvas representam regiões em que ocorrem perdas de massa no material conforme Figura 7 (VOGEL, 2002). Dada uma curva termogravimétrica, podemos tirar várias informações sobre o material analizado:

Figura 7 - Gráfico de uma curva termogravimétrica



Fonte: adaptado de SANTANA, (2009).

Xs é a massa inicial e permanece estável entre os pontos 1 e 2, e Ys a massa final que permanece estável apartir do ponto 3.
No ponto 2 inicia-se a decomposição térmica de Xs, liberando Zg.

No ponto 3 acaba a decomposição térmica de Xs, restando Ys, térmicamente estável.
A linha T extrapola a curva de reação. Extrapolando as linhas de base e a linha T, podemos obter os pontos Tonset e Tendset, definidos como início e fim do evento térmico.
Entre os patamares dos pontes 1 , 2 e 3 , 4 temos a quantidade de massa desprendida da amostra na reação.

3.11 Reações de identificação de grupos químicos

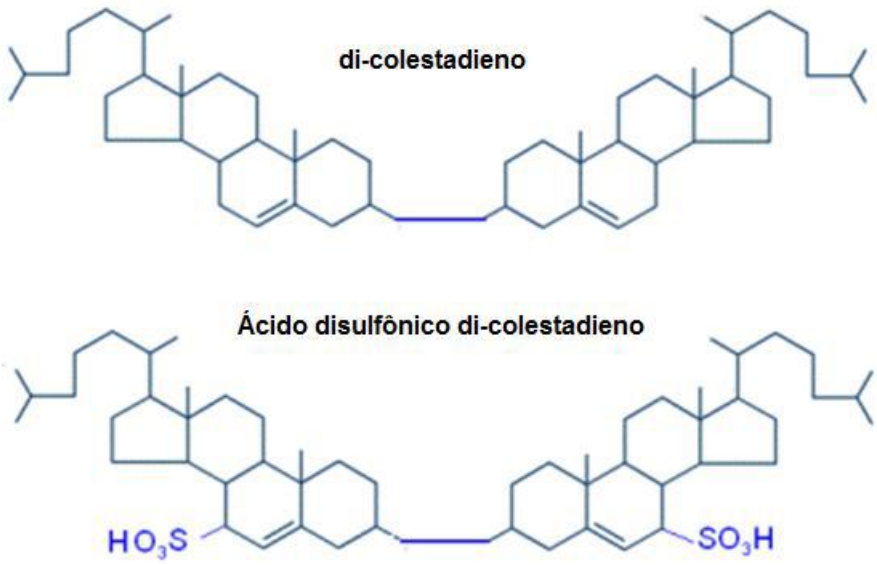
Os métodos clássicos de identificação de funções ou determinados grupos químicos presentes em fármacos consistem em reações que resultam em formação de precipitado, produto colorido, desprendimento de gás, descoramento do reagente utilizado ou outro fenômeno qualquer facilmente perceptível (BRASIL, 2010).

As análises qualitativas são utilizadas para determinar a identidade das espécies químicas presentes em uma amostra. Neste caso, não se está interessado naquantidade de cada substância na amostra, mas apenas saber se certassubstâncias estão presentes ou ausentes (VOGEL, 2002).

A sulfonação direta é uma das reações mais características dos compostos aromáticos. Os ácidos sulfônicos obtidos apresentam grande solubilidade em água, o que permite observar o final das sulfonações. É extremamente comum encontrar-se o grupo SO_3H ou SO_3Na introduzido em corantes e medicamentos com a finalidade de torná-los solúveis em água (MANO; SEABRA, 1987).

A identificação de esteróides por sulfonação pode ser exemplificada pela oreação do colesterol com ácido sulfúrico com formação de di-colastadieno e ácido disulfônico di-colestadieno, produtos cromóforos com estrururas representadas na Figura 8.

Figura 8 – Estrutura química do di-colastadieno e do ácido di-sulfônico di-colastadieno.

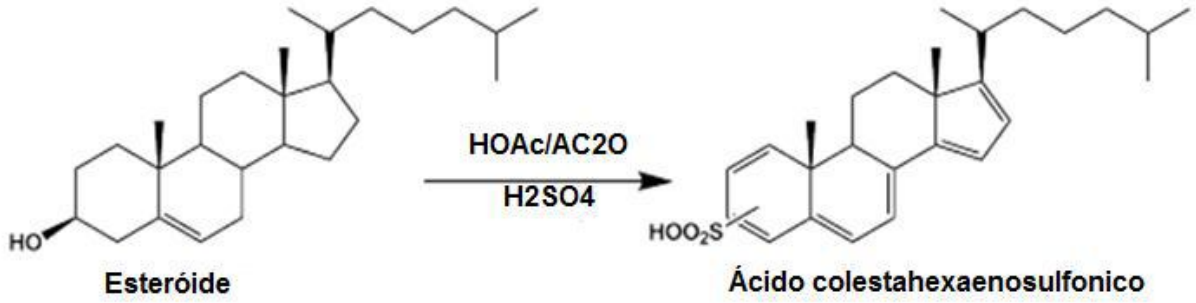


Fonte: adaptado de http://qcabiologica.files.wordpress.com

A reação é específica para esteróide contendo dupla ligação na molécula, ocorrendo desidratação na insaturação formando um composto vermelho. O ácido sulfúrico inicialmente desidrata as moléculas de colesterol que se dimerizam formando o 3, di-colestadieno. O composto formado é sulfatado formando composto de coloração roxa (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, 2012).

O principal teste analítico para detecção de esteróides é a prova de Liebemann-Burchard, Figura 9, que consiste no tratamento da amostra com anidrido acético em presença de ácido acético e algumas gotas de ácido sulfúrico ocorrendo a desidratação seguida de oxidação do sistema de anéis do ciclopentanoperidrofenantreno formando um esteróide aromático que é evidenciado pelo aparecimento de uma coloração azul-esverdeada (XIONG; WILSON; PANG, 2007).

Figura 9 - Reação de Liebemann-Burchard



Fonte: adaptado de XIONG; WILSON; PANG, 2007.

3.12 Granulometria

A análise granulométrica de partículas sólidas compreende à determinação do tamanho das mesmas, bem como da freqüência com que ocorrem em uma determinada classe ou faixa de tamanho. Para partículas que possuem forma geométrica esferica, cilindrica ou cubica, a determinação do tamanho das mesmas se dá (convencionalmente) pela medida do seu raio ou diâmetro, do diâmetro da base e altura e do comprimento da aresta, respectivamente (LIMA; LUZ, 2001).

O grau de divisão ou a granulometria é expresso pela referência à abertura nominal da malha do tamis utilizado. Os tamises empregados nesse ensaio são de aço inoxidável ou de latão, não sendo permitido o revestimento dos fios. A determinação da granulometria de pós é feita pelo processo descrito abaixo.

.

A granulometria é determinada com o auxílio de tamises operados por dispositivo mecânico. Este tipo de dispositivo reproduz os movimentos horizontais e verticais da operação manual, através da ação mecânica uniforme. Para utilizar este dispositivo, proceda da seguinte forma: Separar, pelo menos, 4 tamises que estejam descritos na Tabela Abertura de malha dos tamises. (ABNT/ ASTM) Orifício do tamis, de acordo com as características da amostra. Montar o conjunto com o tamis de maior abertura sobre o de abertura menor. Colocar o conjunto sobre o receptor de tamises. Pesar cerca de 25 g da amostra (dependendo da natureza do material, densidade do

pó ou grânulo e do diâmetro dos tamises a serem utilizados). Transferir a amostra para o tamis superior, distribuindo uniformemente o pó. Tampar o conjunto. Acionar o aparelho, por cerca de 15 minutos, com vibração adequada. Após o término deste tempo, utilizando um pincel adequado, remover toda a amostra retida na superfície superior de cada malha para um papel impermeável, e pesar o pó. Pesar também o pó retido no coletor. Calcular o percentual retido em cada tamis, utilizando a equação 3 (BRASIL,2010).

$$\% \text{ Retida pelo Tamis} = \frac{P1}{P2} \cdot 100 \qquad (3)$$

Onde:

P1 = Peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2 = Soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas);

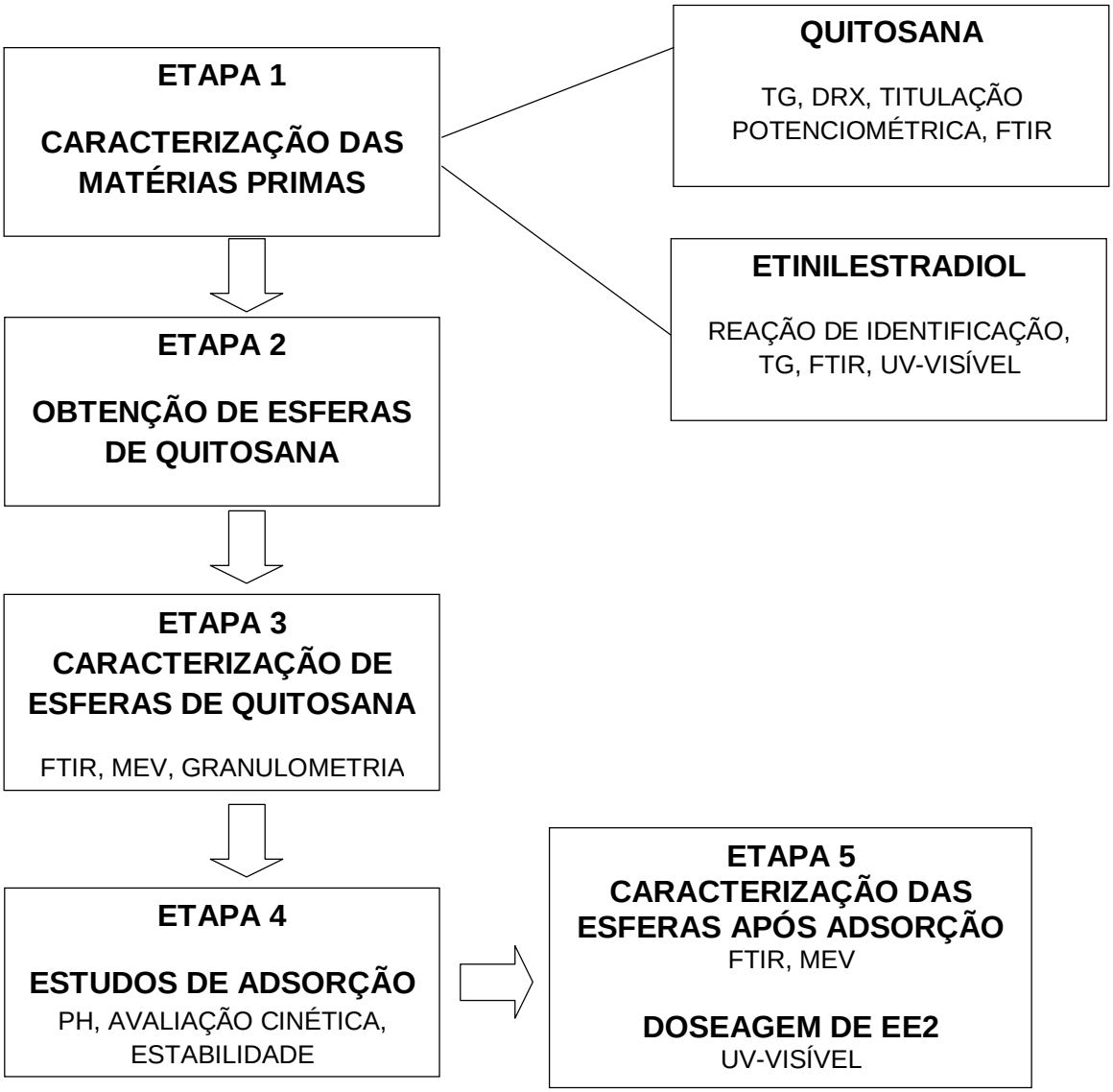
100 = Fator de porcentagem.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenvolvimento experimental

A parte experimental do trabalho foi desenvolvida de acordo com o fluxograma da Figura 10 em que são apresentadas as etapas dos experimentos e os respectivos ensaios desenvolvidos em cada etapa.

Figura 10 – Fluxograma das etapas de trabalho



Fonte: elaborado pelo autor

4.2 Matérias primas

A água utilizada nos estudos foi deionizada com resistividade de (18,0MΩ.cm) a 25°C. Todos os reagentes utilizados no trabalho foram de grau analítico (P.A). Ácido acético glacial - CAS 64-19-7, fornecedor Cinética®, massa molar = 60,04 g/mol, lote 17655. Etinilestradiol – CAS 57-63-6, fornecedor Pharmanostra®, massa molar 296,40 g/mol, lote 09103593A. Hidróxido de sódio – CAS 1310-73-2, fornecedor Vetec®, massa molar 39.99 g/mol, lote 1203202. Quitosana em pó de alta massa molar - CAS 9012-76-4, fornecedor Sigma-Aldrich Chemical®, massa molar 340.000g/mol, GD 78%, viscosidade 1218 cP solução 1% em ácido acético 1%, lote MKBD 7240V.

4.3 Etapa 1 - Caracterização das matérias primas

As matérias primas, quitosana e etinilestradiol foram caracterizadas pelas técnicas análises termogravimétrica (TG), espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), difração de Raios X (*XRD- X Ray Diffraction*), titulação potenciométrica, reação de identificação de grupos químicos e espectroscopia de absorção na região do ultravioleta - visível.

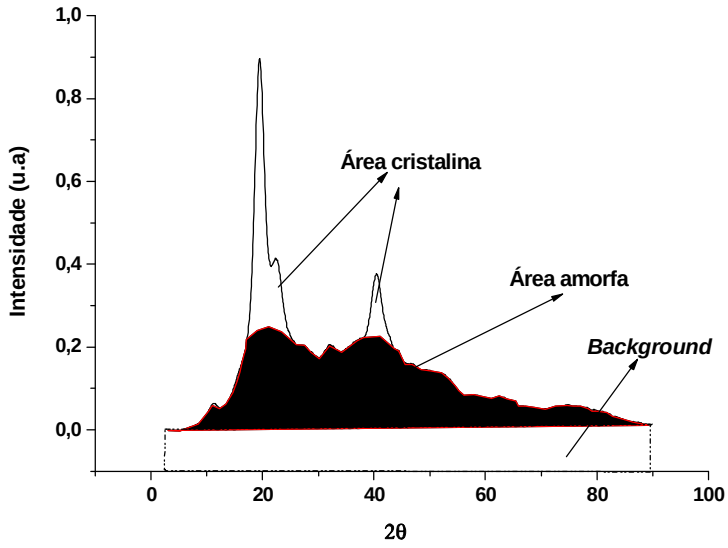
A TG foi realizada em equipamento Shimadzu TG/DTA modelo DTG-60H. A amostra foi aquecida a razão de 10°C $min.^{-1}$, partindo da temperatura ambiente até 800°C em atmosfera de N_2, com vazão de 50mL$min.^{-1}$.

A espectroscopia na região do infravermelho foi realizada no modo de absorbância e as medidas foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu de FTIR, modelo IRPrestige-21, e acessório de ATR. Os espectros foram obtidos com 40 varreduras entre 4000cm^{-1} e 400cm^{-1} com resolução de 4cm^{-1} e intervalos 2cm^{-1}.

O grau de cristalinidade da quitosana em pó foi analisado pela técnica de difração de raios-X, em um aparelho Shimadzu XRD 7000, no intervalo $5° < 2\theta < 80°$, com passo de 0,02º e velocidade de varredura de 2º/min. O grau de cristalinidade da amostra (CG) foi estimado pelo cálculo das áreas do difratograma identificadas como fração cristalina (AC) e fração amorfa (AA) conforme Figura 11, utilizando-se a equação 4.

$$GC = \frac{AC}{(AC+AA)} \quad (4)$$

Figura 11 – Modelo de difratograma definindo área cristalina e área amorfa.



Fonte: adaptado de COSTA JR, 2008.

O grau de desacetilação (% GD) é definido como sendo o número de grupos amino percentualmente relacionados aos grupos amida da cadeia polimérica de quitosana e foi determinado por titulação potenciométrica utilizando peagâmetro Tecnopon MPA 210 a 25°C. Uma massa de 0,2g de quitosana foi dissolvida em 25mL de solução padrão de ácido clorídrico (HCl) 0,1M, para protonação dos grupos amino da quitosana. Esta solução foi titulada com o auxílio de um potenciômetro previamente calibrado com solução padrão de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M.

Os resultados obtidos foram aplicados na equação 5.

$$MA = n_D x161 + n_A x204 \quad (5)$$

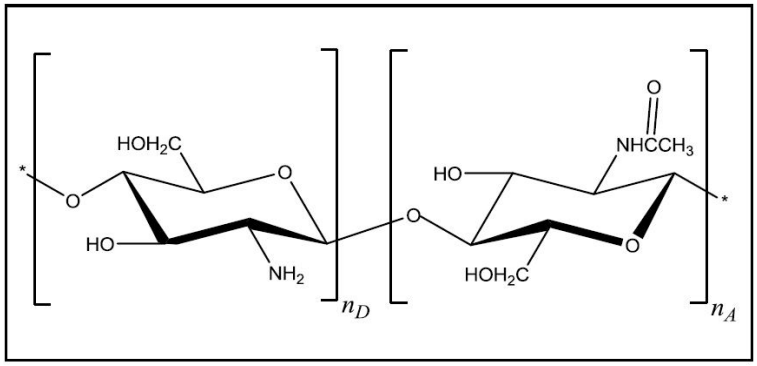
Onde:

MA = massa da amostra analisada,

n_D e n_A = número de mols dos monômeros 2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose , respectivamente, conforme Figura 12.

161 e 204 = massa molecular dos monômeros 2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose (g/mol), respectivamente.

Figura 12 – Estrutura química da quitosana e seus monômeros 2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose



Fonte: adaptado de Lima, 2013.

O valor encontrado foi aplicado à Equação 6 que representa, em porcentagem, o grau de desacetilação da quitosana. O resultado obtido experimentalmente foi comparado ao valor informado pelo fornecedor.

$$GD\% = \frac{n_D}{(n_D + n_A)} \times 100 \qquad (6)$$

Para identificação do etinilestradiol utilizou-se a reação de identificação de grupos químicos, método adaptado da Farmacopéia Brasileira 5ª edição, sendo que o procedimento utilizado foi: em tubo de ensaio, dissolveu-se 1mg de etinilestradiol em 1mL de ácido sulfúrico concentrado. Adicionou-se em seguida 10mL de água, e observaram-se as alterações de cor e formação de precipitado (BRASIL, 2010).

Foi realizada a avaliação qualitativa do etinilestradiol por espectroscopia na região do ultravioleta – visível (UV-VIS), em um intervalo de 190 a 300nm. O espectro foi obtido empregando uma solução aquosa com concentração de 1,6mg/L, obtida a partir de uma solução estoque de etinilestradiol em etanol com concentração de 8mg/L. As análises foram realizadas em equipamento PerkinElmer (Modelo 1060) com correção da linha de base. Foi utilizada célula de quartzo de caminho ótico de 10 mm.

4.4 Etapa 2 - Obtenção das esferas de quitosana

Para a produção das esferas de quitosana foi utilizado método de coagulação, que consiste no gotejamento de solução ácida de quitosana produzida pela dissolução de 10,00g de quitosana em 375mL de ácido acético 5% m/v. A solução obtida foi gotejada empregando uma bureta de 25 mL sobre a solução de hidróxido de sódio 2,5M submetida à agitação de 375 rpm, ocorrendo imediata coagulação do gel em formato esférico. As esferas ficaram imersas na solução de NaOH por 16 horas e depois foram lavadas em água destilada até que a água de lavagem atingisse pH (7,0 ± 0,1).

4.5 Etapa 3 - Caracterização das esferas de quitosana

As esferas de quitosana foram caracterizadas por FTIR nas mesmas condições descritas anteriormente para matérias primas, entretanto os espectros obtidos foram normalizados em função da banda de estiramento COC (estrutura sacarídea – β-1-4), em 1150cm^{-1}. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi realizada em um equipamento da marca Shimadzu Corporation, modelo SSX-550 com a cobertura de fina camada de ouro por *Sputtering* e posicionado à máxima distância do alvo impedindo dessa forma danos às amostras, a avaliação da granulometria foi realizada por peneiramento da amostra durante um tempo de 3 minutos utilizando 14,18g de esferas de quitosana e jogo com 3 peneiras com malha 8, 9, 14 Mesh que correspondem respectivamente aos diâmetros de 2,36, 2,00 e 1,18mm. A avaliação dimensional das esferas foi realizada usando projetor de perfil marca Carl Zeiss, modelo MP 320, com resolução de 0,0001 mm, onde as esferas foram posicionadas de modo a permitir a medição ortogonal dos diâmetros.

4.6 Etapa 4 - Estudos de adsorção

Os estudos de adsorção de etinilestradiol em quitosana foram realizados tanto para esferas de quitosana quanto para quitosana em pó. A avaliação da adsorção foi realizada por ensaios de FTIR e MEV nas esferas e por medidas de UV-visível em soluções de etinilestradiol após adsorção.

4.6.1 Avaliação do efeito do pH na adsorção de etinilestradiol

A avaliação da faixa de pH com melhor rendimento de adsorção de etinilestrdiol foi realizada por meio da dispersão de 20mg de quitosana pó ou em esferas em 50 mL de solução aquosa de etinilestradiol de concentração 3,0 mg/L. Os valores de pH avaliados no ensaio foram 3,0; 5,0; 7,0; 9,0 e 10,0, ajustados com adição de HCl 0,1M e NaOH 0,1M. Os ensaios foram realizados sob agitação constante de 200 rpm em incubadora refrigerada Marconi MA 830 em temperatura de 25°C e tempo de 24 horas, conforme Figura 13.

Figura 13 – Incubadora refrigerada utilizada no processo de adsorção.



Fonte: imagens obtidas utilizando câmera fotográfica digital Sony DSC-S 730

As concentrações de etinilestradiol inicial e final foram determinadas por espectroscopia de absorção na região de UV e a capacidade de adsorção foi calculada pela equação 7 (SILVA, 2008).

$$q = \frac{V\,(Ci - Cf)}{S} \qquad (7)$$

Onde:

q = quantidade de sorvato por unidade de massa (mg/g)

V = é o volume da solução etinilestradiol em contato com quitosana (L)

C_i e C_f = concentrações inicial e final de etinilestradiol em solução (mg/L)

S = massa de adsorvente (g)

4.6.2 Avaliação cinética da adsorção do etinilestradiol

Na avaliação cinética da adsorção do etinilestradiol em quitosana na forma de pó e de esferas, 20mg de quitosana foi colocada em contato com 50mL da solução de etinilestradiol na concentração de 1,6mg/L na faixa de pH=(7,00±0,05). A concentração de 1,6 mg/L foi determinada a partir dos testes anteriores de avaliação de pH, com o objetivo de fazer os ensaios em uma concentração mais próxima possível das concentrações ambientais de etinilestradiol. A cinética de adsorção de etinilestradiol foi avaliada nos tempos de 1, 2, 4, 6 e 24 horas os experimentos foram realizados sob agitação constante de 200 rpm e a temperatura de (25±2)°C em incubadora climatizada, os ensaios foram realizados em triplicata. As concentrações de etinilestradiol inicial e final foram determinadas empregando a técnica espectroscopia de UV-visível após filtração em papel de filtro quantitativo JP42 faixa azul, 80g/m^2 teor de cinzas 0,00014g, permeabilidade ao ar de 3l/sm^2 , com poros de 8µm.

4.6.3 Técnicas analíticas

As concentrações das soluções inicial e final dos ensaios de adsorção do etinilestradiol e das soluções do ensaio de estabilidade foram determinadas por espectroscopia UV-visivel.

Determinou-se o comprimento de onda de absorbância máxima (λ_{max}) do etinilestradiol pela varredura do espectro na região do UV-VIS em solução aquosa de etinilestradiol de concentração de 3,0mg/L. As curvas de calibração (concentração em função de absorbância) foram construídas a partir de soluções de etinilestradiol nas concentrações de 0,8 a 3,2mg/L e as medidas das absorbâncias correspondentes ao valor de λ_{max}.

4.7 Etapa 5 - Caracterização das esferas e pó de quitosana carregadas com etinilestradiol

As esferas e o pó de quitosana após o contato com solução aquosa de etinilestradiol 1,6mg/L em pH=(7,0±0,05) por 24 horas foram submetidas às seguintes técnicas de caracterização: espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) e

microscopia eletrônica de varredura (MEV) cujas metodologias foram descritas no item 4.3.

4.7.1 Avaliação da estabilidade do pó e das esferas de quitosana carregadas com etinilestradiol.

Adaptando a ABNT NBR 10006 (2004), 20 mg da amostra de quitosana em pó e em esferas carregada com etinilestradiol, foi seca em estufa com circulação forçada de ar a temperatura de 40°C, depois foram adicionadas a 50mL de água destilada, o pH foi ajustado para 7,00±(0,05) com soluções de NaOH 1M e HCl 1M, a mistura foi agitada por 5 minutos em baixa velocidade. Os recipientes foram cobertos com filme de PVC e deixado em repouso por 7 dias em temperatura ambiente. O ensaio foi realizado em triplicata e a solução foi filtrada e analisada por espectroscopia de absorção molecular UV- VIS em λ Max 197 nm.

4.7.2 Medidas de diâmetro em projetor de perfil

As medidas do diâmetro das esferas foram feitas em amostra de 20 esferas com 3 medidas para cada esfera, sendo as medidas realizadas, em 2 eixos perpendiculares e uma diagonal, foram feitas médias e desvio padrão para as medidas de diâmetro. Utilizou-se projetor de perfil para realização das medidas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

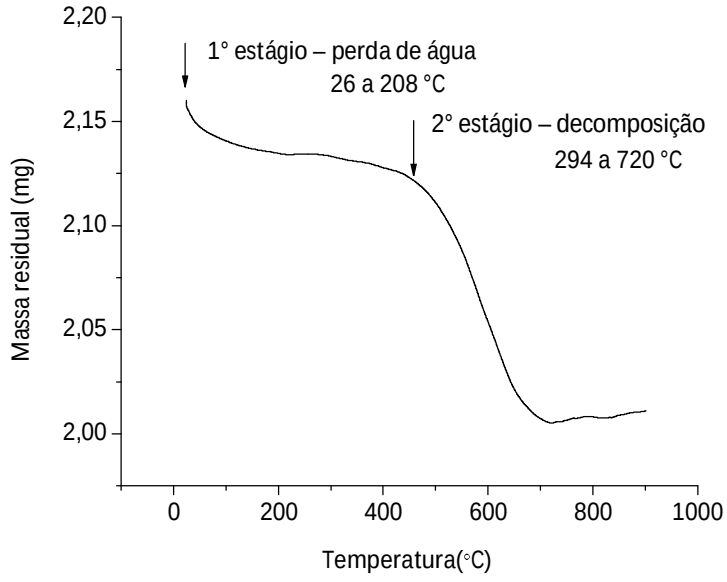
5.1 Caracterização das matérias primas

5.1.1 Análises termogravimétricas

A curva termogravimétrica obtida no processo de decomposição da quitosana, representada na Figura 14, evidenciou dois eventos no perfil de degradação. O primeiro estágio ocorreu entre as temperaturas de 26°C e 208°C, e foi associado à perda de água e o segundo estágio entre 294°C e 720°C atribuído ao processo de decomposição do polímero, semelhante a Pereira(2013) e Martins (2013).

Constatou-se que não houve degradação total da amostra mesmo em temperaturas superiores a 800°C, concordando com resultados referentes a análise de grau de desacetilação da quitosana e com Santos et al. 2003, que apontaram uma relação de proporcionalidade inversa entre o grau de desacetilação e a estabilidade térmica da quitosana, observando que amostras com grau de desacetilação menor ou igual a 75% apresentam maior resíduo.

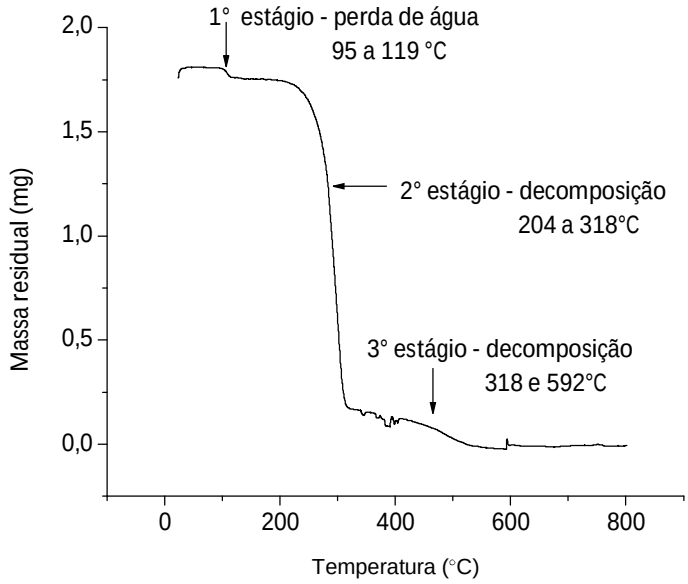
Figura 14 - Curva TG de quitosana sob atmosfera de N_2 (24 a 900°C)



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

A curva termogravimétrica obtida para a amostra de etinilestradiol apresentada na Figura 15 indica perda de massa entre 95°C e 119 °C atribuída à perda de água. A amostra apresentou-se estável termicamente até 204°C e se decompõe posteriormente em duas etapas distintas, sendo a primeira entre 204°C a 318°C e a segunda nos intervalo entre 318 °C a 592°C como foi discutido por Silva (2012).

Figura 15 - Curva TG de etinilestradiol sob atmosfera de N_2 (24 a 800°C)

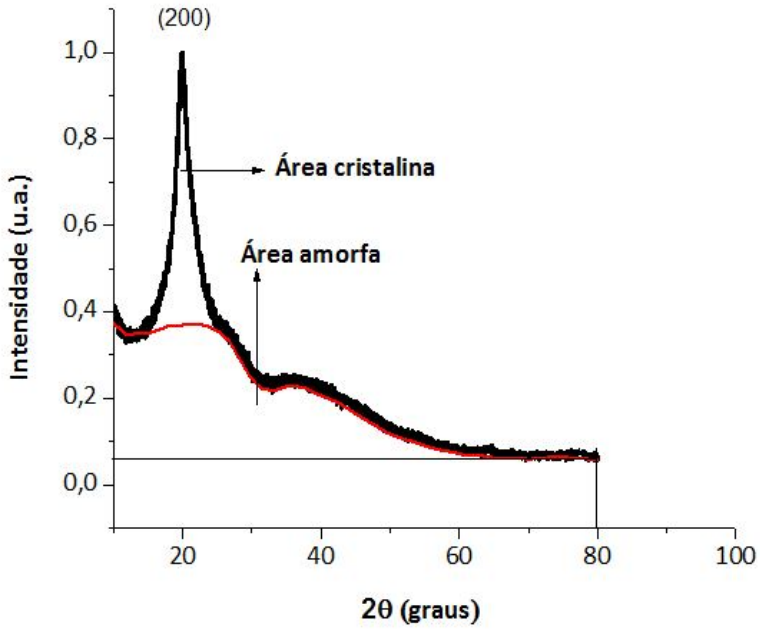


Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

5.1.2 Difração de Raio X

O difratograma referente à quitosana realizado na faixa de 5 a 80° apresentou um pico de alta intensidade em 19,8^o (d=0,448nm), atribuído ao plano de difração (200), conforme Figura 16, caracterizando a presença de fase cristalina, e uma ampla faixa abaixo do pico, onde predomina a fase amorfa do material (LIMA; LAZARIN; AIROLDI, 2006; CHAVES, 2009; PAULINO, 2008; LARANJEIRA, FAVERE, 2009; COSTA JR., MANSUR, 2008; OSORIO-MADRAZO, et al 2010). Polímeros são em geral semi-cristalinos, possuindo regiões cristalinas dispersas no material amorfo restante, devido ao tamanho e complexidade de suas moléculas (CALLISTER, 2006). Dash, et al. (2011) atribui à estrutura rígida e cristalina da quitosana às ligações de hidrogênio inter e intra-moleculares.

Figura 16 – Difratograma da quitosana.



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

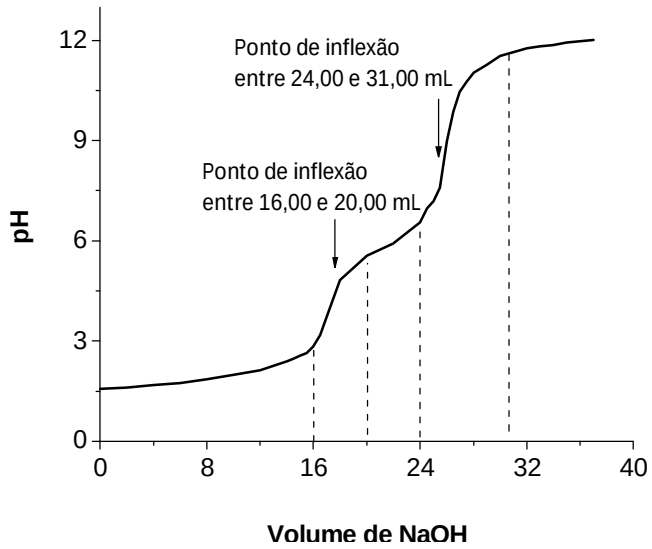
A partir do difratograma obtido da quitosana foi possível estimar sua cristalinidade em 24%, conforme equação 4 (pág.46). (SIGNINI,CAMPANA–FILHO; 2001; OGAWA.; YUI; OKUYAMA, 2004; COSTA JR; MANSUR, 2008).

5.1.3 Grau de desacetilação da quitosana

A determinação do grau de desacetilação da quitosana em estudos de adsorção é importante uma vez que em meio neutro e alcalino os grupos hidroxila e amino podem formar fortes ligações de hidrogênio intra e intermoleculares levando à cristalização e posterior precipitação do polímero. Em meio ácido, a estrutura cristalina diminui o seu grau de organização devido a protonação dos grupos amino e à repulsão entre esses grupos, tornando o polímero solúvel. Portanto a conformação da cadeia polimérica é diretamente dependente do grau de desacetilação médio. Quanto maior o grau de desacetilação mais extendida e flexível a cadeia (CARONI, 2009; LIMA, 2013).

A determinação do GD da quitosana foi realizada por titulação potenciométrica. A curva de titulação da solução de quitosana está demonstrada na Figura 17.

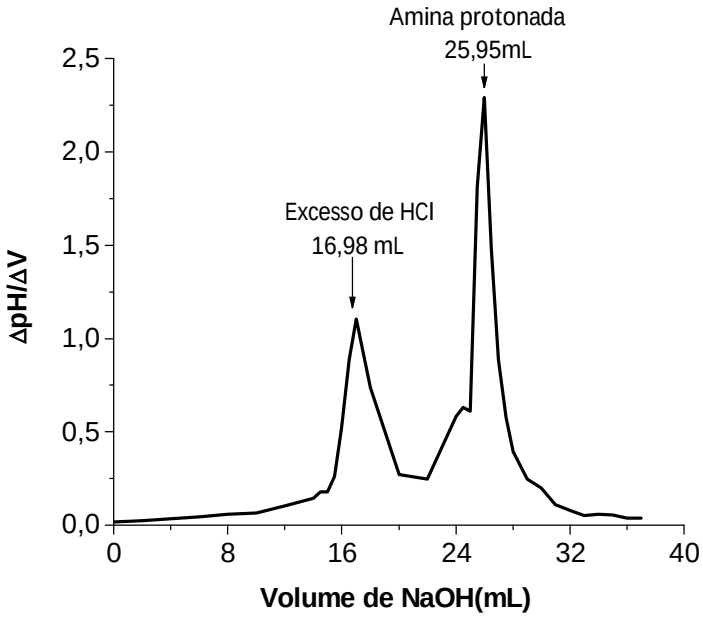
Figura 17 – Curva de titulação potenciométrica da quitosana



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

Para melhor visualização dos pontos de inflexão observados na Figura 17 foi obtido a derivada primeira da curva de titulação potenciométrica da solução de quitosana, representada na Figura 18.

Figura 18 – Curva da derivada primeira da titulação potenciométrica da quitosana.



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

Na curva titulométrica, os pontos de inflexão entre 16 a 20mL e 24 a 31mL, foram obtidos a partir da derivada primeira da curva de titulação. Essas inflexões correspondem à neutralização do excesso de HCl no meio (16,98mL) e à neutralização dos grupos amino protonados presentes na amostra de quitosana (25,95mL), respectivamente.

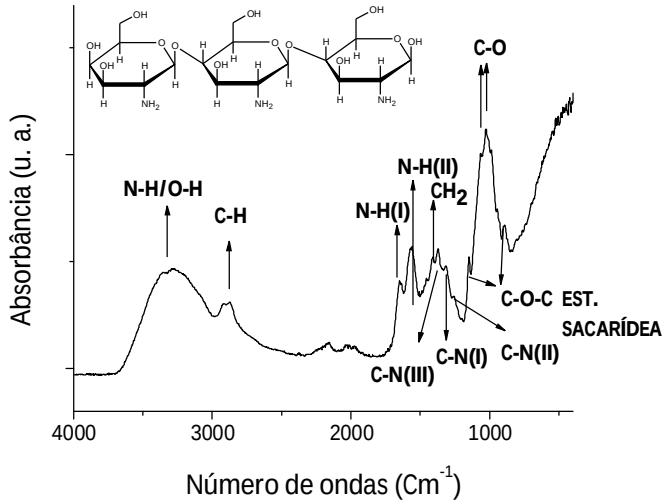
Através dos valores obtidos na titulação pode-se calcular o número de mols de meros desacetilados de quitosana e aplicando o valor nas Equações 5 e 6,(pág. 46 e 47), pode-se determinar que o grau de desacetilação da amostra foi de 75,48(±0,58)%. O valor encontra-se dentro do estabelecido pelo fabricante e de acordo com Martins (2013) que obteve valores de GD 76,00 (±2,32)% para o ensaio com o mesmo lote de quitosana.

5.1.4 Espectroscopia na região do infravermelho

A quitosana é uma amino glicose que contém grupos acetamida, apresentando bandas características e específicas que podem ser identificadas quando analisada por espectroscopia na região do infravermelho (BRUGNEROTTO, et al., 2001). Foi realizado o FTIR cujo espectro está representado na Figura 19 para verificação dos principais grupos funcionais presentes no polímero.

No espectro da quitosana observou-se as bandas de absorção em 3280cm^{-1} e 3344cm^{-1} características das ligações N-H e do estiramento O-H respectivamente. As bandas em 2942cm^{-1} de menor intensidade e 2872cm^{-1} de maior intensidade são características do estiramento assimétrico e do estiramento simétrico do grupo C-H, respectivamente. Observa-se também a deformação angular do grupo CH_2 em 1420cm^{-1} (MONTEIRO JR; AIROLDI, 1999; LIMA, AIROLDI, 2003; 2004; PRADO et al., 2004; VIEIRA et al., 2005; SAKKAYAWONG; THIRAVETYAN.; NAKBANPOTE, 2005; CHAVES, 2009). Foi possível também observar as bandas em 1313cm^{-1}, 1265cm^{-1} e 1375cm^{-1}, referentes a vibrações de ligações C-N das aminas primária, secundária e terciária, respectivamente.

Figura 19 – Espectro de FTIR e estrutura química da quitosana



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

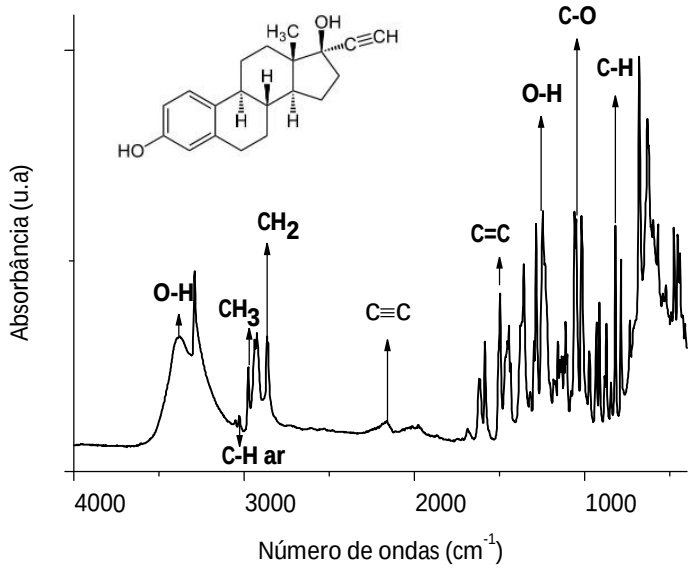
As vibrações fora do plano do grupo C-H da estrutura sacarídea em 1150cm^{-1} e da banda em 891cm^{-1} estão associadas ao grupo COC. Ainda é possível observar em 1064cm^{-1} e 1026cm^{-1}, as bandas correspondentes ao estiramento do grupo C-O cíclico. Os resultados encontrados acima estão resumidos na tabela 3 e estão de acordo com Martins, 2013; Costa Jr; Mansur, 2008; e Silverstein, 2007.

Tabela 3 – Bandas características FTIR encontradas na quitosana

COMPRIMENTO DE ONDA (cm^{-1})	ATRIBUIÇÕES
3280 e 3344	Estiramento de O-H e N-H
2942	Estiramento assimétrico de C-H de CH_3
2872	Estiramento simétrico de C-H de CH_3
1420	Deformação angular de C-H de CH_2
1647	Deformação axial N-H (I)
1558	Deformação axial de N-H (II)
1375	Deformação axial C-N de amina terciária
1313	Deformação axial C-N de amina primária
1265	Deformação axial C-N de amina secundária
1150 e 891	Estiramento COC (estrutura sacarídea – β-1-4)
1064 e 1026	Estiramento C-O (cíclico)

No espectro infravermelho do etinilestradiol, Figura 20, foram identificadas bandas que estão apresentadas na Tabela 4 e que estão de acordo com os resultados obtidos por Eduardo (2009) e Silva (2012).

Figura 20 – Espectro de FTIR e estrutura química do etinilestradiol



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

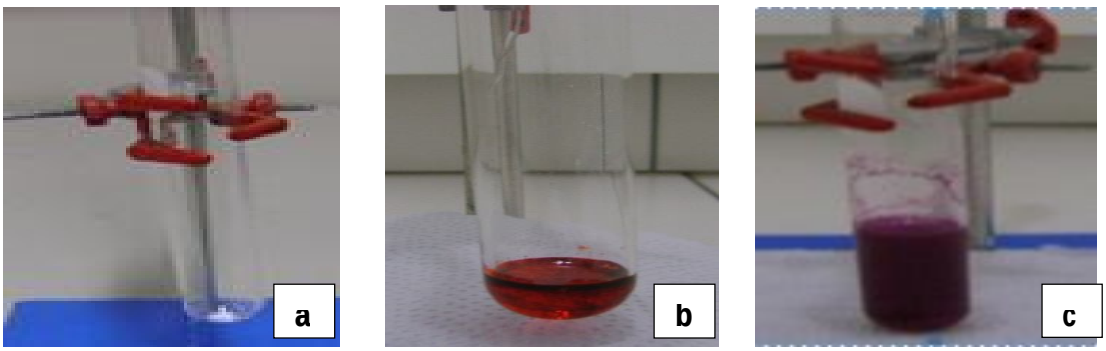
Tabela 4– Bandas caracteristicas FTIR encontradas no etinilestradiol (EDUARDO, 2009; SILVA, 2012).

COMPRIMENTO DE ONDA (cm^{-1})	ATRIBUIÇÕES
3410 - 3020	Deformação axial O-H, larga, em ligação de hidrogênio intermolecular
3029	Deformação axial C-H aromática
2158	Deformação axial C≡C
2975	Deformação axial C-H assimétrica CH_3
2873, 2848	Deformação axial C-H assimétrica e simétrica CH_2
1589, 1498, 1453	Deformação axial C=C do anel aromático
1244	Deformação angular O-H
1045	Deformação axial C-O
813	Deformação angular fora do plano C-H

5.1.5 Reação de identificação de grupos químicos

A presença do grupo esteróide do etinilestradiol foi confirmada pela dissolução de 1mg de etinilestradiol que é um pó branco Fig. 21(a) em 1mL de ácido sulfúrico, resultando em solução de coloração vermelho-alaranjada 21(b). Ao adicionar 10mL de água ao sistema, foi observado a formação de solução de coloração violeta e precipitado de cor similar 21(c). A caracterização da presença de grupos esteróides na matéria prima foram confirmadas pelas alterações de cor e formação de precipitado podem ser observadas na Figura 21. (SOLOMONS*;* FRYHLE*,* 2006).

Figura 21 - Reação de identificação de etinilestradiol



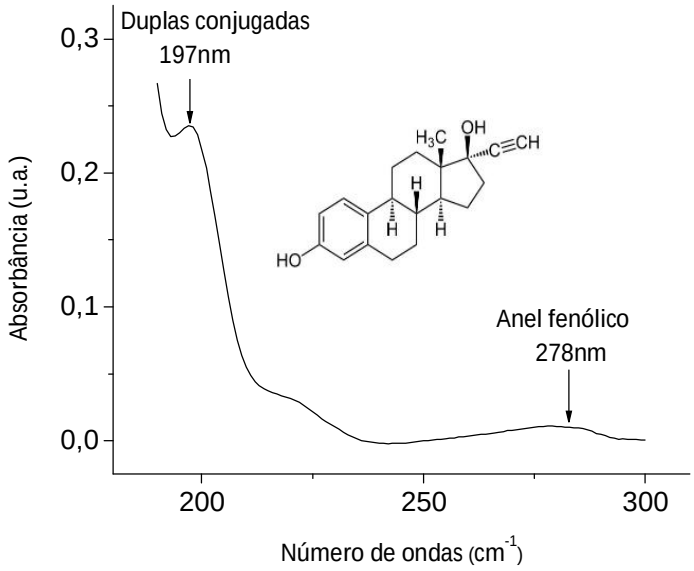
Fonte: imagens obtidas utilizando câmera fotográfica digital Sony DSC-S 730

5.1.6 Espectroscopia na região do ultra violeta- visível

A atividade estrogênica do etinilestradiol está relacionada com a sua estrutura química. A posição do grupo hidroxila fenólico (OH) no anel é crucial para a alta afinidade da ligação com o receptor estrogênico. De acordo com a literatura, as bandas de absorbância do etinilestradiol na faixa de comprimento de onda de 190 a 300nm representam as ligações duplas e triplas conjugadas da molécula, e a banda de absorbância no comprimento de onda de 288 nm representa o anel fenólico (LIU; LIU, 2004; BILA, 2005). No espectro UV-VIS do etinilestradiol, Figura 22, foi possível verificar que essa molécula apresenta banda de absorção mais intensa em λ = 197 nm referente as ligações duplas conjugadas e banda de menor intensidade em λ = 278 nm a aromaticidade do grupo fenólico. A água foi utilizada como solvente, pois no trabalho pretendeu-se simular as condições ambientais das soluções de etinilestradiol apesar da constatação na literatura de que o metanol é o

melhor solvente para identificar as bandas de absorbância nos ensaios de espectrometria de absorção na região de UV com estrogênios, sendo que o deslocamento dos picos pode ser justificado pela alteração do solvente empregado (BILA, 2005; FERREIRA, 2008).

Figura 22 - Espectro UV-VIS da solução aquosa de etinilestradiol 1,6 mg/L.

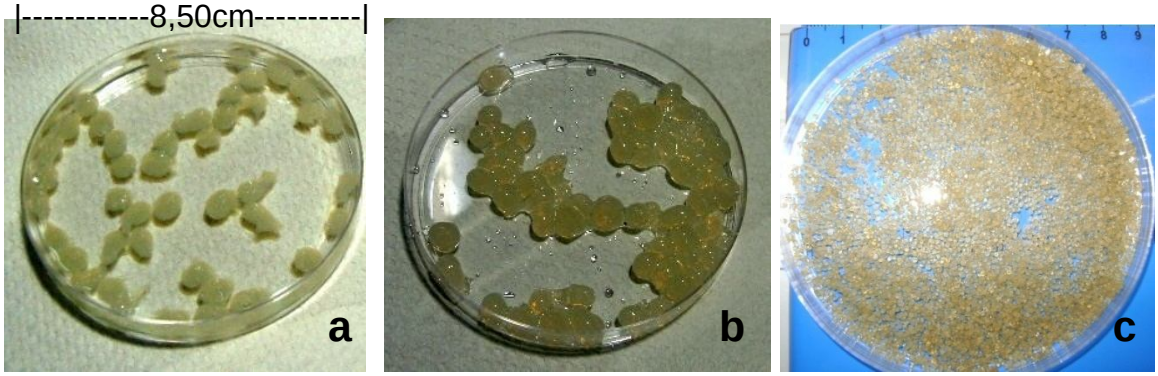


Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

5.2 Produção das esferas de quitosana

As esferas de quitosana produzidas são apresentadas na Figura 23.

Figura 23 - Esferas de quitosana em NaOH (a), em processo de lavagem (b) e após secagem (c)



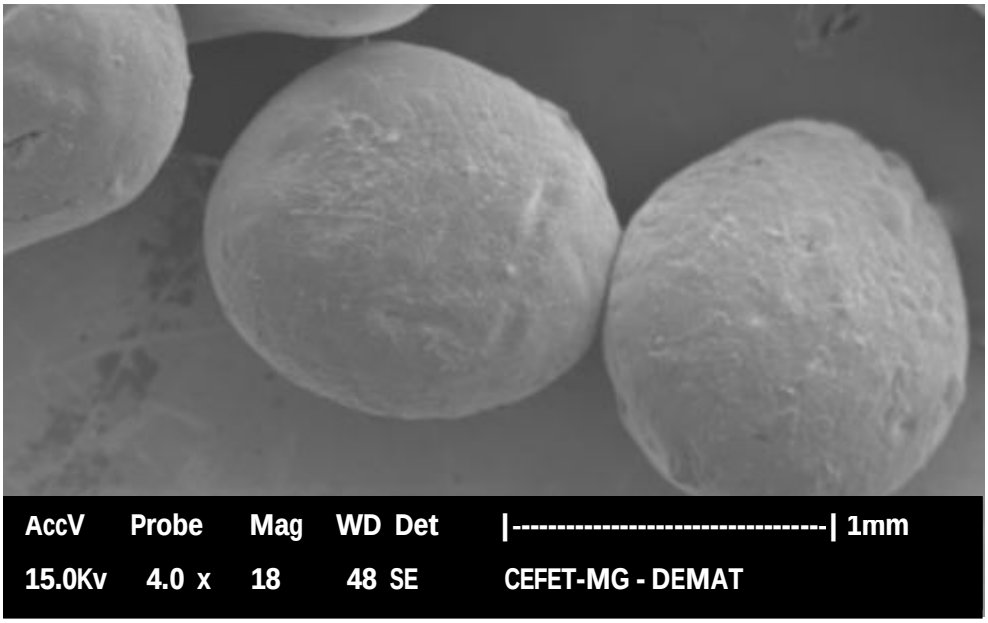
Fonte: imagens obtidas utilizando a câmera fotográfica digital Sony DSC-S 730

5.3 Caracterização das esferas de quitosana

5.3.1 Microscopia eletrônica de varredura

Estimou-se o tamanho das esferas empregando-se a técnica de MEV onde pode-se observar a morfologia esférica, e a presença de superfície regular com pouca porosidade,Figura 24, características apontadas também por Barros et al., (2006), Goy, Assis, Campana-Filho,(2004) e Dias (2008), em trabalhos relativos à produção de esferas de quitosana.

Figura 24 – Micrografia eletrônica das esferas de quitosana

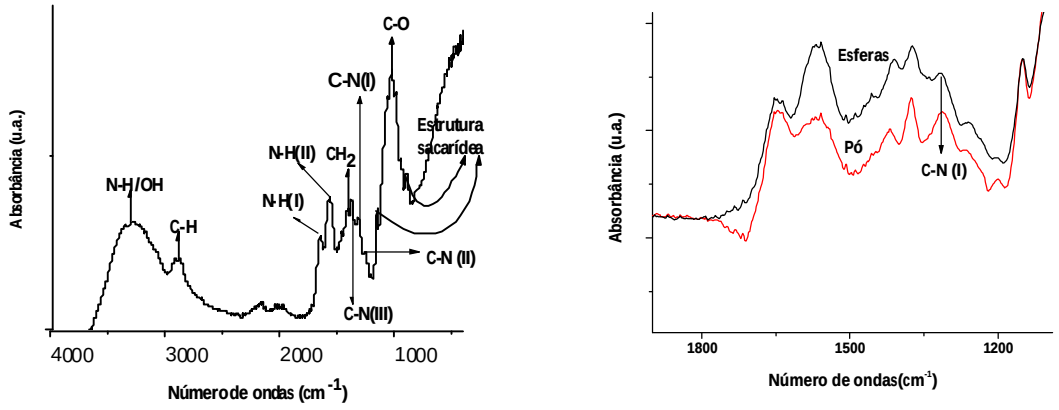


Fonte: Laboratório de caracterização de materiais DEMAT – CEFET-MG

5.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho

O espectro de infravermelho das esferas de quitosana, Figura 25(a), apresenta os grupos químicos característicos e se comparados ao espectro da matéria prima (Fig. 19), observa-se a redução e estreitamento da banda de amina primária sugerindo que reação química que promove a coagulação da solução de quitosana durante a produção das esferas afeta ou interfere nas ligações N-H de amina primária. Isso pode ser observado no espectro de infravermelho obtido na região de absorção do grupo envolvido na reação, Figura 25(b).

Figura 25 – Espectro infravermelho de esferas de quitosana (a), comparativo quitosana esferas e quitosana pó (b)



(a) (b)

Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

5.3.3 Granulometria

A distribuição de tamanho das esferas foi obtida por peneiramento e os resultados estão representados na tabela 5. Observa-se que 30,44% das esferas estão com diâmetro inferior a 1,18mm, essa fração da amostra foi utilizada nos ensaios de adsorção. Ocorreu perda de 0,13g durante o peneiramento o que corresponde a 0,94 % da massa total.

Tabela 5 - Distribuição granulométrica das esferas de quitosana

ABERTURA DA MALHA (mm)	FRAÇÃO DA AMOSTRA (%)	MASSA DA FRAÇÃO (g)
2,36	12,12	1,7186
2,00	8,39	1,1893
1,18	48,14	6,8262
Fundo	30.44	4,3168
Total	99,09	14,0509

Fonte: elaborado pelo autor

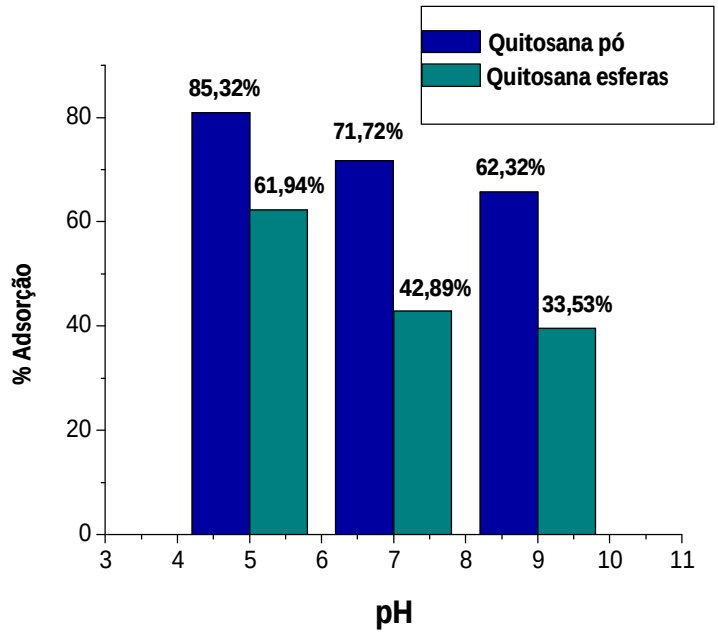
A avaliação dimensional foi realizada em projetor de perfil na amostra de esferas não retidas na malha de abertura 1,18mm evidenciou um diâmetro médio de 1,24(±0,05)mm.

5.4 Estudos de adsorção

5.4.1 Influência do pH na capacidade de adsorção

A influência do valor do pH na capacidade de adsorção do etinilestradiol em meio aquoso pode ser verificada no gráfico da Figura 26.

Figura 26 - Adsorção de etinilestradiol em quitosana em função do pH



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Microcal Origin versão 8.0

Em pH (3,0±0,1) as esferas e o pó de quitosana não foram estáveis na solução de etinilestradiol, não sendo possível determinar a porcentagem de adsorção nesse pH, com a solubilização da quitosana em pó ocorreu interferência na leitura de UV. Portanto, pode-se inferir que a utilização de quitosana em meio ácido em pH igual ou inferior a 3,0 a remoção de etinilestradiol fica comprometida devido à sua tendência de solubilização. Soluções aquosas ácidas protonam os grupos NH_2 da cadeia polimérica, produzindo um policátion e a mútua repulsão entre cadeias do policátion, o que determina a dissolução da quitosana (KIMURA et al, 1999).

Observou-se que em pH (5,0 ± 0,1) houve maior percentual de adsorção tanto nas esferas quanto no pó. À medida que o pH aumenta de 5,0 para 9,0 a porcentagem de adsorção diminui. Esse comportamento foi observado tanto para esferas quanto para o pó de quitosana. O efeito do pH sobre o processo de adsorção é evidenciado de forma mais intensa na quitosana na forma de esferas do que em pó, havendo maior variação na porcentagem de adsorção na forma de esferas quando comparado à forma de pó. Tendo como referência o ponto de carga zero do adsorvente (PCZ=6,3), que é definido como o pH abaixo do qual a superfície do adsorvente é positiva e acima do qual a superfície é negativa, de acordo com Marques Neto et al (2013), o comportamento observado pode ser explicado porque a quitosana apresenta 99 % dos grupos amino protonados em pH 4,3, com o aumento do pH, a carga do adsorvente torna-se menos positiva. Em pH maior que o ponto de carga zero, a superfície da quitosana torna-se carregada negativamente, ocorrendo repulsão de compostos com carga negativa (LEE, et al. 1999; BERGER, et al. 2004; HU, et al, 2005;).

Dursun e kalayci (2005), em estudo do efeito do pH na adsorção de fenol observaram que para adsorventes alcalinos a adsorção é favorecida em pH's menores que 7, e em altos valores de pH ocorre dissociação de fenol prejudicando a adsorção.

Em pH maior que 10, a adsorção de etinilestradiol em quitosana ocorre com dificuldade devido ao aumento da solubilidade do etinilestradiol e pela concorrência entre as hidroxilas do meio pelos sítios de adsorção (MARQUES NETO et al., 2013). Em pH's mais elevados pode ocorrer a precipitação ou gelificação e a solução de quitosana tende a formar gel com os hidrocolóides aniônicos (PILLAI, et al. 2009).

Além do mecanismo de adsorção sugerido anteriormente outras interações podem ter ocorrido entre a quitosana e o etinilestradiol, pois as moléculas de aminas primárias e secundárias podem formar ligações de hidrogênio com as moléculas de água. As moléculas de aminas terciárias não podem formar ligações de hidrogênio umas com as outras, mas elas podem formar ligações de hidrogênio com as moléculas de água ou com os solventes hidroxilados (MARQUES NETO et al., 2013).

De acordo com resultados encontrados por outros autores, esse fato pode ser atribuído a outros fatores, além do pH, pois constatou-se que em de pH a cima de 6,0 o mecanismo cinético de adsorção de corantes aniônicos em quitosana é praticamente independente do pH, sendo atribuído às interações hidrofóbicas, Van der Waals e ligações de hidrogênio (KIMURA et al, 1999; DASH et al, 2011).

Os resultados experimentais e teóricos têm mostrado que a maior acidez do fenol deve-se basicamente à distribuição de carga no fenol que faz com que o oxigênio do grupo OH seja mais positivo; conseqüentemente o próton é mantido menos fortemente, aumentando o caráter ácido do fenol. O anel benzênico age como se ele fosse um grupo retirador de elétrons (SEMIÃO; SCHÄFER, 2013)

Segundo Han et al (2013), as principais interações entre o etinilestradiol e poliamidas são atribuídas a ligações de hidrogênio que se estabelecem entre a hidroxila fenólica do etinilestradiol e os grupos amidas, essas interações são estáveis entre os pH 4,8 e 9,1, não ocorrendo alterações de adsorção nessa faixa. A partir do pH 8,5 o etinilestradiol começa a desprotonar aumentando a sua solubilidade em água e destruindo as ligações de hidrogênio entre o etinilestradiol e a poliamida. As moléculas desprotonados de etinilestradiol perdem a capacidade de formar ligações de hidrogênio com poliamidas via prótons em suas hidroxilas fenólicas e formam ânions termodinamicamente mais estáveis com água.

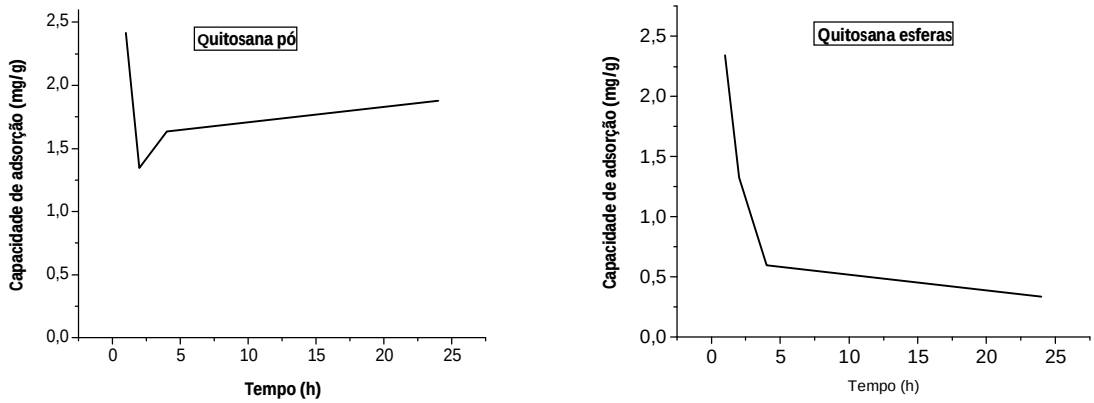
De acordo com Scheneider (2008), a diminuição do tamanho das partículas favorece a adsorção, devido maior difusão das moléculas do adsorbato e ao aumento da área de contato que reforça os resultados obtidos que apontam para melhores taxas de adsorção para quitosana pó quando comparada à esfera de quitosana para todas as faixas de pH.

A hidrofobicidade da molécula de etinilestradiol é indicada pelo seu coeficiente de partição óleo/água que é calculado em 3,90 no pH 7,0. O alto valor implica que o etinilestradiol tem forte afinidade com sólidos insolúveis em soluções aquosas contribuindo dessa forma para a adsorção nessa faixa de pH (RIBEIRO, 2003; LIZ LIZ; NAGATA; ZAMORA, 2012; HAN et al., 2013; SCHÄFER; AKANYETI; SEMIÃO, 2010; SEMIÃO; SCHÄFER, 2013;).

5.4.2 Estudo da adsorção em função do tempo

A Figura 27 apresenta o perfil de adsorção de etinilestradiol na quitosana em pó e em esferas em função do tempo, onde pode-se observar o tempo necessário ao equilíbrio de adsorção para cada condição.

Figura 27 – Capacidade de adsorção em função do tempo em pH(7,0±0,1)

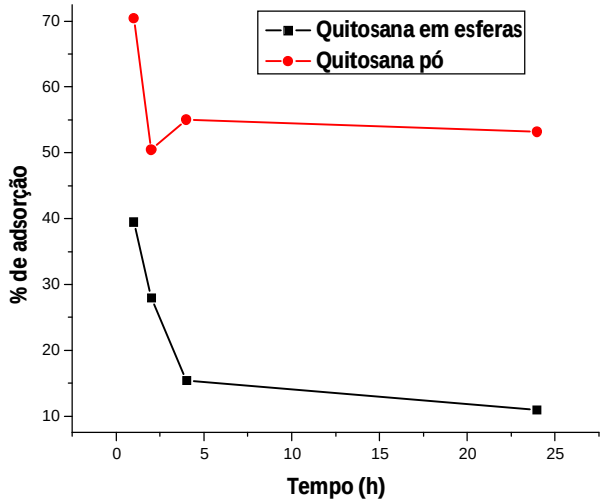


Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Microcal Origin versão 8.0

Na Figura 27 observa-se que tanto para o pó de quitosana quanto para as esferas a capacidade máxima de adsorção foi atingida em 2horas, esse resultado pode ser comparado com Chavita (2010), em cujo trabalho, pesquisando adsorção de fenol em quitosana em pH 8,0, temperatura de 30ºC e concentração inicial de 50mg/L, o equilíbrio foi atingido também em 2 horas.

A Figura 28 apresenta a relação entre o tempo de contato das esferas e do pó de quitosana com a solução aquosa de etinilestradiol e a porcentagem de adsorção. Observou-se para todos os tempos pesquisados, as esferas apresentaram porcentagens de adsorção menores que o pó, o que, de acordo com Kimura et al, (1999) pode ser atribuídos à diminuição de área superficial, ao comprometimento de grupos amino no processo de formação das esferas e a sua baixa porosidade.

Figura 28 – Efeito do tempo de contato do adsorvente na porcentagem de adsorção de quitosana.



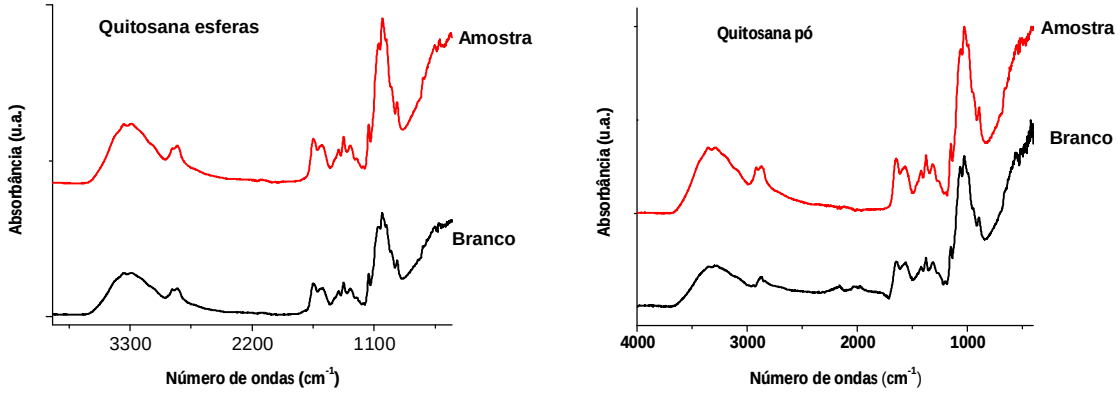
Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Microcal Origin versão 8.0

O percentual de adsorção é maior nos estágios iniciais do processo tornando-se menor com o passar do tempo. Segundo Scheneider (2008), esse comportamento pode ser explicado porque no início do processo existe grande quantidade de sítios disponíveis para a adsorção e, com o decorrer do processo o número de sítios ativos disponíveis diminui, podendo haver repulsão das moléculas adsorvidas. Segundo Simionato (2005), o tempo em que ocorre adsorção máxima de corantes têxteis em quitosana é até os primeiros 25 minutos, sendo que após 100 minutos a adsorção passa a ser mínima.

5.4.3 Identificação de etinilestradiol na superfície de quitosana

Na Figura 29, estão representados os espectros de infravermelho da quitosana em esferas e em pó após contato de 24h com a solução de etinilestradiol 1,6 mg/L em pH=(7,0±0,1).

Figura 29 – Espectros FTIR de quitosana em esferas e em pó após 24h de adsorção



Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

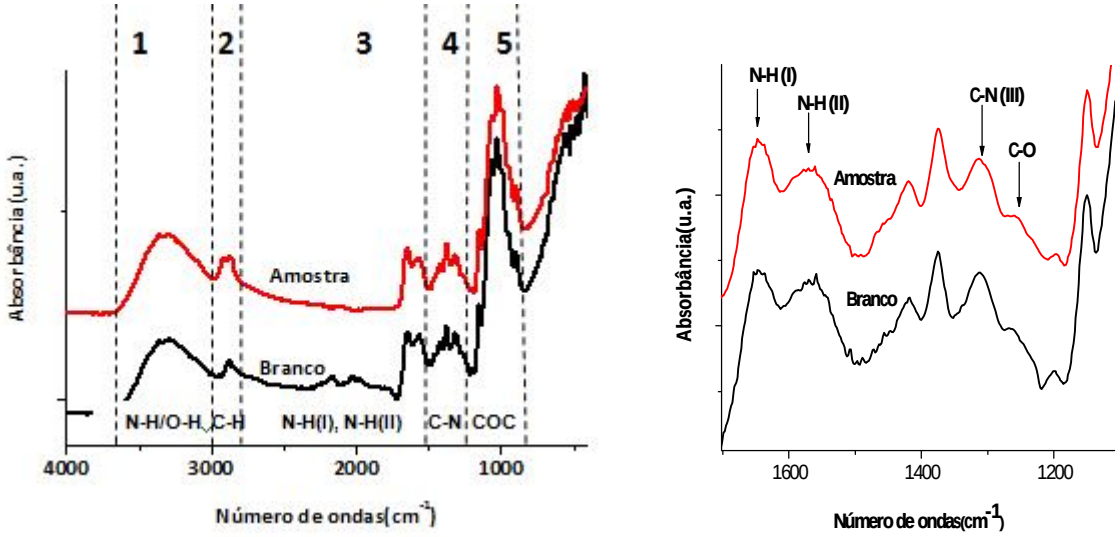
Os estudos de adsorção apontaram para uma maior porcentagem de adsorção de etinilestradiol em quitosana no pó do que em esferas, portanto analisou-se o espectro do pó de quitosana antes e após contato com etinilestradiol. Os espectros obtidos relativos ao pó foram normalizados em função das bandas de estiramento COC (estrutura sacarídea – β-1-4), em 1150cm^{-1} e o espectro foi dividido em regiões para a análise mais detalhada das bandas conforme Figura 30(a) e ampliado para melhor visualização das principais alterações na Figura 30(b).

.

Na região 1 observou-se extensa faixa de absorção entre 3669 a 3000cm^{-1}, característica das ligações de N-H e do estiramento das ligações O-H; ocorre também o estreitamento da banda da amostra de pó após adsorção em relação ao branco o que pode sinalizar diminuição dos grupos N-H. A região 2 apresenta as bandas características de C-H, estiramento assimétrico em 2929cm^{-1} e estiramento simétrico em 2868cm^{-1} . Pode-se observar a alteração em relação à banda de C-H assimétrico que aparece com maior intensidade na amostra de pó após adsorção. Na região 3 observa-se as ligações de dobramento N-H primária e secundária em 1647cm^{-1} e 1568cm^{-1}, respectivamente, apresentando aumento na intensidade da banda N-H primária em relação a N-H secundaria na amostra, sugerindo formação de NH_3^+ e possível interação eletrostática entre quitosana e o etinilestradiol. Ocorre estreitamento de banda podendo sinalizar para diminuição de ligações N-H da amostra em relação ao branco. A região 4 apresentou bandas em 1420, 1373, 1312

e 1256cm^{-1} associadas à deformação angular do CH_2 e deformações axiais do C-N para aminas terciárias, primárias e secundárias, respectivamente. Nessa região ocorre alteração na região de 1250cm^{-1} característica da ligação C-O de fenóis sugerindo a presença desses compostos(PRADO, et al., 2012; SANTOS, 2012). Na região 5 aparecem as vibrações fora do plano do C-H e ligações COC em 1149 e 890cm^{-1} respectivamente. Ocorre também a presença de bandas referentes ao estiramento do C-O cíclico em 1066 e 1027cm^{-1}. (MARTINS, 2013; COSTA Jr; MANSUR, 2008; SILVERSTEIN, 2007).

Figura 30 – Espectro FTIR de quitosana pó antes (branco) e após (amostra) processo de adsorção



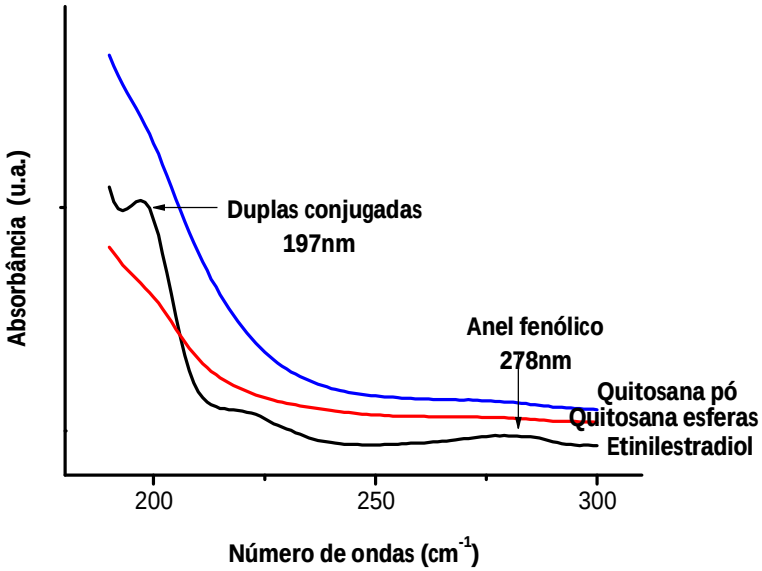
(a) (b)

Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Origin versão 8.0

5.4.4 Avaliação da estabilidade da interação substrato-adsorvato

A estabilidade do pó e das esferas de quitosana foi avaliada de acordo com a Norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas, (ABNT) 10006/2004 e os espectros de absorção em UV-visível estão apresentados na Figura 31.

Figura 31 – Espectro de absorção UV para soluções do teste de estabilidade/Norma ABNT 1006/2004.



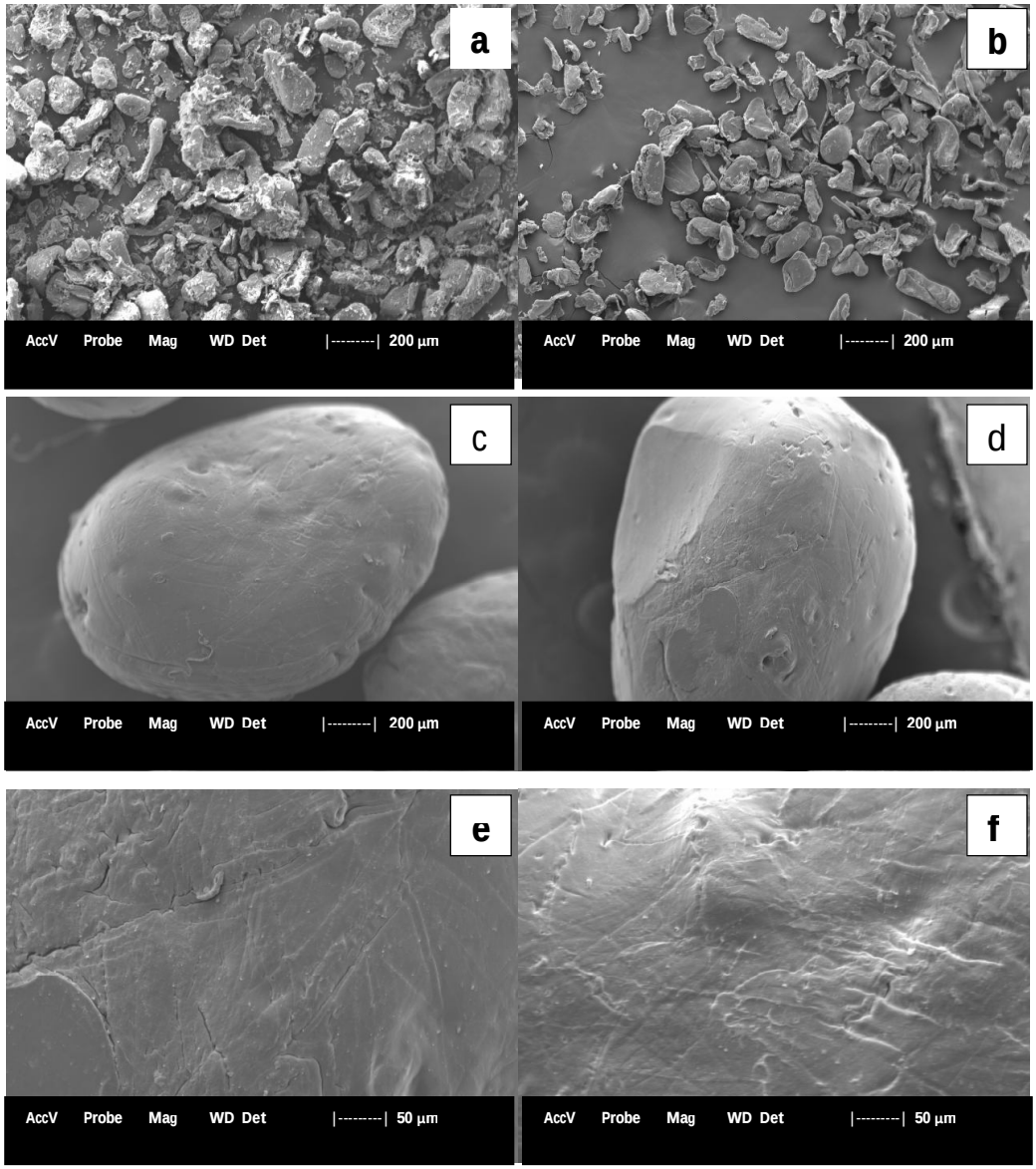
Fonte: elaborado pelo autor utilizando o software Microcal Origin versão 8.0

O teste de estabilidade foi realizado para verificar a dessorção de etinilestradiol e observou-se que as curvas das soluções de esferas e pó não apresentam as bandas características do etinilestradiol, podendo sugerir que não tenha ocorrido dessorção de etinilestradiol durante o ensaio.

5.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

Nas micrografias eletrônicas da quitosana pó e esferas apresentadas na Figura 29, observou-se que não ocorreu alterações significativas na superfície do adsorvente após processo de adsorção, entretanto pode-se observar a aparente redução do tamanho dos grãos de pó quando se compara as imagens da Figura 32(a) antes da adsorção com a Figura 32(b), após a adsorção o que pode ser atribuído ao efeito da agitação durante o processo de adsorção. As esferas mantiveram sua integridade durante o processo, Figura 32(c) antes e figura 32(d) após o processo de adsorção.

Figura 32 – Microscopia eletrônica de varredura de pó (a) e esferas (c,e) de quitosana antes e de pó (b) e esferas (d e f) após contato com etinilestradiol.



Fonte: Laboratório de caracterização de materiais DEMAT – CEFET-MG

A superfície das esferas apresenta-se pouco porosa antes (Figura 32(e)), e após o processo de adsorção (Figura 32(f)). Características superficiais semelhantes para esferas de quitosana foram encontradas por Goy; Assis; Campana-Filho,(2004) e Franco, (2008).

6 CONCLUSÕES

Esferas de quitosana foram produzidas segundo o método de coagulação, os resultados de sua caracterização dimensional e morfológica evidenciaram esferas com diâmetro médio de 1,24(±0,05)mm e superfície pouco porosa, além de se apresentarem estáveis durante o processo de adsorção.

Os estudos de adsorção evidenciaram que a capacidade de adsorção tanto do pó quanto das esferas de quitosana reduz com aumento do pH (5,0±0,1) até pH (9,0±0,1). No pH (5,0±0,1), para a concentração de etinilestradiol de 3,0mg/L ocorrem as maiores taxas de adsorção. A quitosana mostrou-se eficiente para adsorção de etinilestradiol em concentrações de 1,6mg/L em pH (7,0±0,1) com taxas de adsorção de 72% para pó e 43% para esferas de quitosana.

A quitosana na forma de esferas apresenta valores de capacidade de adsorção menores do que a da quitosana em pó, o que pode ser atribuído à maior área superficial do pó em relação às esferas. Os resultados obtidos sugerem que o mecanismo de adsorção de etinilestradiol em quitosana ocorre por interação eletrostática entre o grupo amina protonado da quitosana e grupos hidroxilas desprotonados do etinilestradiol além de outras interações como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas.

No pH (7,0±0,1) a partir de aproximadamente 2 horas a taxa de adsorção não se altera significativamente e isso foi atribuído ao fato de que a maior parte dos sítios de amina disponíveis já foram utilizados pelo etinilestradiol tanto com a quitosana na forma de esfera quanto na forma de pó.

Tendo como referência os resultados obtidos pode-se observar o potencial da quitosana como material adsorvente do hormônio estrogênio etinilestradiol em soluções aquosas, devido a sua atoxicidade, biodegradabilidade e à possibilidade de aproveitamento dos resíduos gerados pela indústria pesqueira nesse processo. Espera-se que os resultados apresentados contribuam em estudos futuros em adsorção de etinilestradiol em soluções aquosas, contribuindo dessa forma na

diminuição dos impactos ambientais causados pela presença de etinilestradiol em águas superficiais.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados do presente trabalho mostraram que o etinilestradiol pode ser removido de soluções aquosas pelo processo de adsorção utilizando-se quitosana em pó ou esferas nas concentrações estudadas. Para melhorar os índices de adsorção, sugere-se que seja reduzido o tamanho das esferas obtendo-se esferas menores, aumentando a sua área superficial.

Promover a liofilização das esferas para aumentar sua porosidade e consequentemente também a área superficial.

Reticular as esferas de quitosana com epicolidrina de modo a aumentar sua estabilidade física e deixar livres os grupamentos amina para futuras funcionalizações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERS, A. P. F. et al. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, v.48 (305), p. 34-37, Jan/Fev/Mar 2002.

ALBERTINI, S. et al. Utilização de serragem e bagaço de cana-de-açúcar para adsorção de cádmio. **Ciênc. Tecnol. Aliment**., v. 27, n.1, p.113-118, 2007.

AL-RIFAI, J. H. et al. Occurrence of pharmaceutically active and non-steroidal estrogenic compounds in three different wastewater recycling schemes in Australia. **Chemosphere**, v.69, p.803–815, Oct. 2007.

ANJANI, K.; KAILASAPATHY, K.; PHILLIPS, M. Microencapsulation of enzymes for potential application in acceleration of cheese ripening. **International Dairy Journal,** v. 17, p.79–86. 2007.

ARCAND-HOY L.; BENSON, W. H. Fish reproduction an ecologically relevant indicator of endocrine disruption. **Environmental Toxicology and Chemistry.** v.17, p. 49-57, 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10006:** procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, 2004.

AZEVEDO V. V. C. et al. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos***,* v.23, p.27-34, 2007*.*

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos.** Viçosa: Editora da UFV, 2008. 189p**.**

BARONTI, C. et al. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. **Environ. Sci. Technol***.* v. 34, p. 5059–5066, Nov**.** 2000**.**

BARROS et al. Produção e caracterização de esfera de quitosana modificada quimicamente. **Revista Ibero americana de Polímero**. v.7, n.4, Dez. 2006.

BELISÁRIO, M. O emprego de resíduos naturais no tratamento de efluentes contaminados com fármacos poluentes. **Inter Science Place.** n.10, 2009.

BERGER, J. et al. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceuticas and Biopharmaceutics**. V. 57, p. 19-34, 2004.

BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄ, M. Applications of chitin- and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater - A short review. **Advances in Colloid and Interface Science,** v.152, p. 26–38, Oct. 2009.

BIANCHETTI F. J. **Remoção do agente hormonalmente ativo etinilestradiol por pré-oxidação e coagulação: estudo em escala de bancada**. 2008. 89 f. Tese (mestrado) Escola de Engenharia – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BILA, D. M. **Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17β-Estradiol pelo Processo de Ozonização.** 2005. 281p. Tese (Doutorado) - Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

BILA, D. M., DEZOTI, M. Fármacos no meio ambiente: **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, Jul/Ago. 2003.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v.30, n. 3, p. 651-666, Maio/Jun. 2007.

BIRKETT, J. W.; LESTER, J. N. **Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes.** IWA Publishing, Lewis Publishers CRC Press LLC: USA, 2003.

BORDI, F.; CAMETTI, C.; PARADOSSI, G. Dielectric behavior of polyelectrolyte solutions: The role of proton fluctuation. **J. Phys. Chem**. v.95, p. 4883-4889, 1991.

BRANDÃO, P. C. **Avaliação do uso do bagaço de cana como adsorvente para a remoção de contaminantes, derivados do petróleo, de efluentes.** 2006. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia.

BRASIL, **Farmacopéia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. 546 p.

BRUGNEROTTO, J. et al. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, v.42, p.3569-3580, 2001.

CAI, K. et al. Treatment of estrogens and androgens in dairy wastewater by a constructed wetland system. **Water Research**, v.46, p.2333–2343, May. 2012.

CALLISTER, W. D. J. **Ciência e engenharia de materiais:** uma introdução. 7ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006. 705p.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2007. 448p.

CARONI, A. L. P. F. **Estudos de adsorção de tetraciclina em partículas de quitosana.** 2009. 143 f. Tese (Doutorado) Centro de Ciências Exatas e da Terra – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal.

CASS, Q. B; DEGANI, A. L. G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC:** fundamentos, estratégias e validação. São Carlos: Editora da Universidade Federal de São Carlos, 2011. 77p.

CAVALCANTE-JR. C. L. **Separação de misturas por adsorção: dos fundamentos ao processamento em escala comercial.** 1998. Tese Submetida a Concurso Público para Professor – Universidade Federal do Ceará, Fortal

CARVALHO, et al. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 22, n.1-2, 2009.

CHÁVARRI, M. et al. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology,** v.142, p.185–189, 2010.

CHAVES, J. A. P. **Adsorção de corantes têxteis sobre quitosona: condições, modelagem e otimização.** 2009. 96 p. Tese (Doutorado) **–** Centro de Cências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa.

CHAVITA, A. C. **Estudo da remoção de fenóis de soluções aquosas através da adsorção em quitosana, degradação enzimática por tirosinase e imobilização de tirosinase em matriz de quitosana.** 2010. 100 p. Tese (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo.

CIOFI, L. et al. Fully-automated on-line solid phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometric analysis at sub-ng/L levels of selected estrogens in surface water and wastewater. **Journal of Chromatography A**, v.1283, p. 53– 61, 2013.

COLLINS, C. H; BRAGA, G. L; BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia.** Campinas: Editora da Unicamp, 2006.453p.

COSTA JÚNIOR, E. S. **Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial.** 2008. 132f. Tese (Doutorado) - Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COSTA JR., E. S. MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli (álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeido para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova,** v. 31, n. 6, p. 1460-1466, set. 2008.

DAMIAN, C. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim. Nutr,** v.16, n. 2, p.195-205, Abr./Jun. 2005.

DASH, M. et al. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science,** v.36, n. 8, p. 981–1014, Aug. 2011.

DIAS F. S. Um sistema simples para preparação de microesferas de quitosana. **Química Nova**, v.31, n.1, 2008.

DIAZ-CRUZ et al. Determination of estrogens and progestogens by mass spectrometric techiques (GC/MS, LC/MS and LC/MS/MS). **Journal of Mass Spectrometry**, n.38 p. 917-923, Aug. 2003.

DURSUN, A.Y.; KALAYCI C. S. Equilibrium, Kinetic and thermodynamic studies on the adsorption of phenol onto chin. **Journal of Hazardous Materials** B123, p.151-157, Abril 2005.

EDUARDO, E. J. **Estudo da degradação eletroquímica, fotolítica, fotocatalítica e eletrofotocatalítica do hormônio etinilestradiol.** 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado) Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

FÁVERE, V. T.; RIELLA, H. G; ROSA; S. Cloreto de n-(2-hidroxil) propil-3-trimetil amônio quitosana como adsorvente de corantes reativos em solução aquosa. **Química Nova**, v.33, n.7, 2010.

FERNANDES, R. **Estudos de remoção de 17α-etinilestradiol de águas para abastecimento, utilizando dióxido de cloro, hipoclorito de sódio, carvão ativado em pó (CAP) e tratamento físico-químico.** 2007.150 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

FERREIRA, M. G. M. **Remoção da atividade estrogênica de 17β-Estradiol e de 17α-Etinilestradiol pelos processos de ozonização e O_3/H_2O_2.** 2008.173f. Tese (Doutorado) – Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

FRANCO, A. P. **Caracterização estrutural e adsorção de íons metálicos por carboximetilcelulose e quitosana in natura e impregnada com zeólita.** 2009. 166f. Tese (Doutorado) – Química, Universidade Federal do Paraná.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F.; Endocrine disruptors in the environment**. Química Nova**, v.29 n.3, M aio/Jun. 2007.

GIL, E. S; et al., Aspectos técnicos e legais do gerenciamento de resíduos químico-farmacêuticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,** v. 43, n.1, jan./mar., 2007.

GOY, R. C; ASSIS, O. B. G; CAMPANA-FILHO, S. P. Produção de esferas de quitosana. **Revista de Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento,** v. 33 Jul/Dez 2004.

HAN, J. et al. Adsorption of ethinylestradiol (EE2) on polyamide 612: Molecular modeling and effects of water chemistry. **Water Research,** v. 47, 2013.

HANSEN, H. D. Vitellogenin a biomarker for endocrine disruptors. **Trends in analytical chemistry**, v. 17, n.7, 1998.

HATJE, V; COSTA, M. F; CUNHA, L.C. Oceanografia e química: unindo conhecimentos em prol dos oceanos e da sociedade. **Química Nova**, v.27, n.10, p. 1497-1508, 2013

HIGUERA-CIAPARA, I. et al. Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 41–45, 2003.

HU, Y. et al. Synthesis and stimuli-responsive properties of chitosan/poly(acrylic acid) hollow nanospheres. **Polymer,** v. 46, p. 12703–12710, 2005.

JARDIM, I. C. S. F; COLLINS C. H; GUIMARAES, L. F. L; Cromatografia líquida de alta eficiência. In: COLLINS, C. H; BRAGA, G. L; BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia.** Campinas: Editora da Unicamp, 2006.453p.

JANEGITZ, B. C. et al., Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Química Nova,** v.30, n.4, July/Aug. 2007.

JUSTI, K. C. **Imobilização de agentes complexantes no biopolímero quitosana – equilíbrio de adsorção de íons metálicos em solução aquosa.** 2006. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina.

KASPRZYK-HORDERN, B. et al. Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1161, p.132–145, Aug, 2007.

KIMURA I. Y. et al. Efeito do pH e do Tempo de Contato na Adsorção de Corantes Reativos por Microesferas de Quitosana. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** p. 51-57 Jul/Set, 1999.

KRAMER,V. J. et al. Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to waterborne 17b-estradiol. **Aquatic Toxicology**, v. 40. p. 335-360, 1998.

LARANJEIRA, M C. M.; FAVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova,** vol.32, n.3, p. 672-678, 2009.

LEE, J. k. et al. Modification of Chitosan to Improve Its Hypocholesterolemic Capacity. **Biosci, Biotechnol, Biochem.,** v.63, n. 5, p.833-839, 1999.

LIMA, C. R. M. **Estudos de adsorção de tetraciclina e cromoglicato em partículas de quitosana.** 2013. 86f. Dissertação (mestrado) - Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

LIMA, I. S.; AIROLDI, C.; Interaction of copper with chitosan and succinic anhydride derivative – a factorial design evaluation of the chemiosorption process**. Coll. Surf A**. v.229 p.129, 2003.

LIMA, I. S.; AIROLDI, C. A thermodynamic investigation on chitosan-divalent cation interactions. **Thermochimica Acta**, v.421, n.2, p.133-139, 2004.

LIMA, I.S.; LAZARIN, A.M.; AIROLDI, C.; Cyclic voltammetric investigations on copper α-N,O-succinated chitosan interactions. **Carbohydr. Polym.** v.64, p.385, 2006.

LIMA, L. M. R.; ALSINA, O. L. S.; SILVA, V. L. M. M. Avaliação da ampliação de escala na adsorção de gasolina em leito fixo com biomassa bagaço de cana de açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA (COBEQ2010) E ENCONTRO BRASILEIRO DE ADSORÇÃO (EBA2010), Foz do Iguaçu, 2010.

LIMA, R. M. F.; LUZ, J. A. M. Análise granulométrica por técnicas que se baseiam na sedimentação gravitacional: Lei de Stokes. **Rev. Esc. Minas.** v.54, n.2, Apr/Jun 2001.

LIMA, R. S. C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos: quitosana/insulina.** 2010. 110f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

LINTELMANN, J. et al. Endocrine disruptors in the environment. **Pure Appl. Chem***.* v. 75, n 5, p. 631–681, 2003.

LIU, B.; LIU, X. Direct Photolysis of Estrogens in Aqueous Solutions. **Science of the Total Environment.** v. 320, p. 269–274, 2004.

LIZ M. V.; NAGATA N. ZAMORA, P. P. Considerações sobre o preparo de amostras contendo micropoluentes estrogênicos. **Química Nova,** v. 35, n 6, p 1213-1215, 2011.

LÓPEZ-ROLDÁN, R. et al. Advanced monitoring of pharmaceuticals and estrogens in the Llobregat River basin (Spain) by liquid chromatography–triple quadrupole-tandem mass spectrometry in combination with ultra performance liquid chromatography–time of flight-mass spectrometry. **Chemosphere**, v.80, p. 1337–1344, Sep. 2010.

MACKAY, D*.* Nature and origin of micropollutants. **Water Science & Technology,** v. 14, n.12 p. 5 – 14, 1982.

MANAHAN, S. E.; **Toxicological Chemistry and Biochemistry**. 3ed, Lewis Publishers: Boca Raton, 2003. 452p.

MANO, E. B.; SEABRA, A. P. **Práticas de quimica orgânica.** 3ed, Edgard Blucher: São Paulo, 2006. 246p.

MARELLA, M. S. F.; SILVA, M. G. C. Processo de remoção de cádmio em zeólita. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 2005.

MARQUES NETO, J. O. et al. Preparation and Evaluation of Chitosan Beads mobilized with Iron (III) for the Removal of As (III) and As(V) from Water. **J. Braz. Chem. Soc**. V.24, 2013.

MARTINS, T. **Síntese e Caracterização de Hidrogéis de Quitosana Quimicamente Reticulados para Aplicação Potencial no Tratamento Tópico de Lesões Cutâneas.** 2013. 87 p. Tese (Mestrado) – Engenharia de Materiais – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MELO, S. A. S. et al. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, v. 32, n.1, p.188-197, Jan/Fev. 2009.

MENDES, C. G. N**. Estudo de coagulação e floculação de águas sintéticas e naturais com turbidez e cor variáveis**. 1989.144 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade do Estado de São Paulo, São Carlos.

MONTEIRO Jr., O. A. C.; AIROLDI, C. Some thermodynamic data on copper-chitin and copper-chitosan biopolymer interactions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.212, n.2, p.212-219, 1999.

MORAIS, W. A. **Estudos de sorção de um corante aniônico modelo em partículas de quitosana reticulada**. 2007. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Exatas e da Terra – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

OGAWA, K.; YUI, R.; OKUYAMA. K. Three D structures of chitosan. **Int. J. Biol. Macromol,** 2004.

OKKERMAN, P. C.; GROSHART, C. P. Chemical study on strogens. **MINISTERIE VAN VERKEER EN WATERSTAAT**. GB Delft, Alemanha, p.17-19, 24, Jul, 2001.

OREFICE, L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, S. H. **Biomateriais – fundamentos e aplicações**. Belo Horizonte: Guanabara Koogan, 2012. 538p.

OSORIO-MADRAZO, A. et al. Kinetics Study of the Solid-State Acid Hydrolysis of Chitosan: Evolution of the Crystallinity and Macromolecular Structure. **Biomacromolecules**. v.11, p.1376–1386, 2010.

PAULINO, A. T. **Produção de adsorventes não-convencionais e aplicação na remediação de águas de efluentes industriais.** 2008. 152f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

PAVANELLI, G. **Eficiência de diferentes tipos de coagulantes na coagulação, floculação e sedimentação de água com cor e turbidez elevada.** 2001. 233 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

PEREIRA, k. A. A. **Formação de bases de Schiff na quitosana, na ausência de solventes, para remoção de fármacos.** 2013. Dissertação (mestrado) - Centro de Ciências da Natureza - Universidade Federal do Piauí, Teresina.

PILLAI, C. K. S. et al. Chitin and chitosan polymers: Chemistry,solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science,** v. 34, p. 641–678, 2009.

PIRES, J. **Avaliação do processo oxidativo avançado H_2O_2/UV na remoção do hormônio 17-β-estradiol presente em efluente de produção de medicamentos hormonais de uso veterinário**. 2009. 80f. Dissertação (mestrado) - Universidade de Ribeirão Preto.

PRADO, A. G. S. et al. Comparative adsorption studies of indigo carmine dye on chitin and chitosan. **J. Coll. Interf. Sci.,** v.277, p. 43, 2004.

PRADO, A. G. S et al. Designed formulation based on α-tocopherol anchored on chitosan microspheres for pH-controlled gastrointestinal controlled release. **Colloids and Surfaces B: Bionnterfaces,** v.96 p.8-13, 2012.

QIN, F. et al. Column-switching reversed phase–hydrophilic interaction liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for determination of free estrogens and their conjugates in river water. **Analytica Chimica Acta**, v.627, p. 91 – 98, Oct. 2008.

REIS FILHO, R. W.. et al. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 817-822, Jul/Ago. 2006.

RIBEIRO, A. J. et al. Increase in stability and change in supramolecular structure of b-carotene through encapsulation into polylactic acid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 187, p. 115–123, 1999.

RIBEIRO, T. M. H. Sorção de petróleo na biomassa seca do macrófito aquático salvínia herzogii dela sota. 2003. Disponível em: http://www.lapes.ufrgs.br/teses. Acesso em 13 out 2012.

RODRIGUEZ-MOZAZ S.; ALDA M. J. L.; BARCELÓ D. Picogram per liter level determination of estrogens in natural waters and waterworks by a fully automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry method. **Anal. Chem**. v. 76 (23), p. 6998–7006, Oct. 2004.

RIGOBELLO, E. S. **Remoção do diclofenaco sódico em água por tratamento em ciclo completo e adsorção em carvão ativado granular**. 259 p. Tese (Doutorado) 2011. Instituto de Química – Universidade Federal de São Paulo, São Carlos.

ROSA, C. G. **Microencapsulação de extratos metanólicos de amora-preta (R*ubus fruticosus*) e ácido gálico.** 2012. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SAKKAYAWONG, N.; THIRAVETYAN, P.; NAKBANPOTE, W.; Adsorption mechanism of synthetic reactive dye wastewater by chitosan. **J. Coll. Interf. Sci.** v.286, p. 36, 2005.

SALVADOR. A. et al. On line solid-phase extraction with on-support derivatization forhigh-sensitivity liquid chromatography tandem mass spectrometry of estrogens in influent/effluent of wastewater treatment plants. **Journal of Chromatography A**, v.1145, p.102–109, Mar. 2007.

SANTANA, R. C. Análise instrumental aplicada à polímeros, UFRGSEAD 11, 2009 disponível em: hasqueweb.ufrgs.br/~ruth.santana/analise_instrumental/index.html

SANTOS, A. L. F. **Estudo das interação das vitaminas A e E em microesferas de quitosana: Liberação controlada em fluidos gastrointestinais e em cremes hidratantes**. 2012. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade de Brasília. Brasilia.

SANTOS, J. E. et al. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes Origens. **Polímeros**, v. 11 n. 2. Out/Dez. 2003.

SANTOS, J. E. **Preparação, caracterização e estue estudos termoanaliticos de bases de Shiff biopoliméricas e seus complexos de cobre**. 2004. 112f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

SCHÄFER A. I ; AKANYETI I.; SEMIÃO, A. J. C. Micropollutant sorption to membrane polymers: a review of mechanisms for estrogens. **Advances in colloid and interface science.** v. 164(1-2), Out/2010.

SCHEER, A. P.et al. Adsorção de misturas líquidas e seu tratamento por métodos numéricos. In: Encontro Brasileiro de Adsorção (III EBA), Recife, 2002.

SCHEFER, L. et al. Resolving self-assembly of bile acids at the molecular length scale. **Journal of Surface and Colloids**. v.10, n. 28, p.5999-6005, Mar. 2012.

SCHENEIDER, E. L. **Adsorção de compostos fenólicos sobre carvão ativado**. 2008. 97 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Engenharia e Ciências Exatas – Universidade Estadual do Oeste do Pará, Toledo.

SEMIÃO, A. J. C; SCHÄFER, A.I. Removal of adsorbing estrogenic micropollutants by nanofiltration membranes. Part A-Experimental evidences. **Journal of Membrane Science.** v. 431, p. 244-256, 2013.

SHIMADA, K et al. Gas chromatography and high-performance liquid chromatography of natural steroids. **Journal of Chromatography,** v.*935*, p. 141-172, 2001.

SIGNINI, R.; CAMPANA-FILHO, S. P. Características e propriedades de quitosanas purificadas nas formas neutras, acetato e cloridrato. **Polímeros**, v.11, n. 2, Abr./Jun. 2001.

SILVA, G. C. **Mecanismo de acumulação de ferro e arsênio em biomassa vegetal fibrosa**. 2008. 107p. Dissertação (Mestrado) – Engenharia Metalúrgica e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVA, H. S. R.; et al. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n.4, p.776- 785, Jul/Ago. 2006.

SILVA NETO, J. T. **Propriedades ópticas e estruturais filmes finos de TiO_2 produzidos pelo processo sol-gel**. 2013. 97f. Dissertação (mestrado). Engenharia de Materiais - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais.

SILVA, V. B. **Determinação simultânea de etinilestradiol e drospirenona em contraceptivos orais por cromatografia em fase líquida de alta eficiência e eletroforese capilar.** 2012. 130f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SILVERSTEIN, R. M. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. 490p.

SIMIONATO, J. I. **Extração e caracterização de quitina e quitosana a partir de crisálidas do Bicho-da-Seda e aplicação na remediação de efluentes têxteis,** 2005. 80f. Dissertação (mestrado) - Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá.

SINHA, V. R. et al. Chitosan microspheres as a potencial carrier for drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v.274, p.1-33, 2004.

SKOOG, A. D.; WEST, M. D.; HOLLER, J. F.; CROUCH, R. S. **Fundamentos de química analítica**. 8 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2005. 1124p.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química Orgânica.** 8ed. v.2. Rio de Janeiro: LTC, 2006. 542p.

SOUZA, R. S.; LIMA, L. M. R.; SILVA, V. L. M. M. Adsorção de óleo diesel em sistema de leito diferencial com biomassa bagaço de cana-de-açúcar. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.6, n.2, p.123-126, 2011.

SPINELLI, V. A. et al. Quitosana, polieletrólito natural para o tratamento de água potável. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2001, João Pessoa.

STOPA, L. C. B. **Quitosana magnéticas para remoção de Urânio (VI).** 2007. 85f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

TERNES, T. A. et al. Removal of Pharmaceuticals during drinking water treatment. **Environment Science Technology**, v.36, n.17, p. 3855–3863, 2002.

UNRUH, C. **Adsorção do hormônio 17α-etinilestradiol com uso de carvão ativado granular**. 2011. 67f. Dissertação (mestrado profissional) – Universidade Federal do Paraná, SENAI - PR, *Universität Sttutgart,* Setor de Tecnologia, Programa de Pós- Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial, Curitiba.

U.K. Environment Agency, Endocrine-Disrupting Substances in the Environment: What Should Be Done? **Environmental Issues** Series N1, Consultative Report, 1998.

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Facultad de Ciencias Naturales. **Química Biológica 2012**, http://qcabiologica.files.wordpress.com acesso em 19/06/2014

VARNA, A. J.; DESHPANDE, S. V.; KENNEDY, J. F. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, n. 7, p. 227-229, 2004.

VEGA-MORALES T.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ J.J.; Development and optimisation of an on-line solid phase extraction coupled to ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry methodology for the simultaneous determination of endocrine disrupting compounds in wastewater samples. **Journal of Chromatography A**, v.1230, p. 66–76. Mar. 2012.

VERAS, D. H. **Remoção dos Pertubadores Endócrinos 17β - estradiol e ρ - nonilfenol, por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzidos no Brasil** – **Avaliação em Escala de Bancada**. 2006. 139p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

VERBINNEN, R. T.; NUNES, R. T.; VIEIRA, E. M. Determinação de hormônios estrógenos em água potável, usando CLAE –DAD. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1837 – 1842, Nov/Dez. 2010.

VIEIRA, E. F. S. et al. Interaction of Ag(I), Hg(II) and Cu(II) with 1,2-ethanedithiol immobilized on chitosan: Thermochemical data from isothermal calorimetry. **J. Coll. Interf. Sci**. v. 289 n. 42, 2005.

VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. 462 p.

XIONG, Q.;WILSON, W. K.; PANG, J. The Liebermann–Burchard Reaction: Sulfonation, Desaturation, and Rearrangment of Cholesterol in Acid. **Lipids,** 42, 87–96, 2007.

WANG S, et al. On-line coupling of solid-phase extraction to high-performance liquid chromatography for determination of estrogens in environment. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, p.194–201, 2008.

WEERAKODY, R.; FAGAN, P.; KOSARAJU, S. L. Chitosan microspheres for encapsulation of α-lipoic acid. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 357, p.213–218, 2008.

WILLIAMS, M. et al. Can aquatic distribution of human pharmaceuticals be related to pharmacological data? **Chemosphere,** v**.** 65, p.2253–2259, Jul. 2006.

YING G. G. et al. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environment International** v. 28 p. 545– 551, 2002.