

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

**REMOÇÃO DOS CONTAMINANTES ORGÂNICOS  
 $\beta$ -ESTRADIOL E SAXITOXINAS (STX, Neo-STX E dc-STX)  
POR MEIO DE NANOFILTRAÇÃO: AVALIAÇÃO EM  
ESCALA DE BANCADA**

**FLAVIA FERREIRA AMORIM**

**ORIENTADORA: CRISTINA CELIA SILVEIRA BRANDÃO**

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

**PUBLICAÇÃO: PTARH.DM – 109/07  
BRASÍLIA/DF: NOVEMBRO/2007**

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

**REMOÇÃO DOS CONTAMINANTES ORGÂNICOS  $\beta$ -ESTRADIOL E  
SAXITOXINAS (STX, Neo-STX E dc-STX) POR MEIO DE  
NANOFILTRAÇÃO: AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA**

**FLAVIA FERREIRA AMORIM**

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

**APROVADA POR:**

---

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

---

**Prof<sup>a</sup>. Ariuska Karla Barbosa Amorim, DSc (ENC – UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)**

---

**Prof. José Carlos Mierzwa, DSc (PHD/POLI- USP)  
(EXAMINADOR EXTERNO)**

## FICHA CATALOGRÁFICA

AMORIM, FLAVIA FERREIRA

Remoção dos Contaminantes Orgânicos  $\beta$ -estradiol e Saxitoxinas (STX, Neo-STX e dc-STX) por meio de Nanofiltração: Avaliação em Escala de Bancada.

xiii, 133p., 210 x 297 mm (ENC/FT/UnB, Mestre, Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, 2007). Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

1. Nanofiltração

2.  $\beta$ -estradiol

3. Saxitoxinas

4. Tratamento de água

I. ENC/FT/UnB

II. Título (série)

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMORIM, F.F. (2007). *Remoção dos Contaminantes Orgânicos  $\beta$ -estradiol e Saxitoxinas (STX, Neo-STX e dC-STX) por meio de Nanofiltração: Avaliação em Escala de Bancada*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM-109/07, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 133p.

## CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Flavia Ferreira Amorim.

TÍTULO: Remoção dos Contaminantes Orgânicos  $\beta$ -estradiol e Saxitoxinas (STX, neo-STX e dC-STX) por meio de Nanofiltração: Avaliação em Escala de Bancada.

GRAU: Mestre

ANO: 2007

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

---

Flavia Ferreira Amorim

ffamorim2@yahoo.com.br

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Milton e Izaura, pelos preciosos ensinamentos e valores que recebi ao longo da minha vida e pelo constante incentivo aos estudos. Por despertarem em mim a curiosidade, o respeito e a admiração pela ciência e pelas diversas formas de compreensão do mundo.

À professora Cristina Brandão pela orientação desta dissertação e por sua amizade. Sua sensibilidade, transparência, honestidade e compromisso em trabalhar para uma sociedade mais digna, não só colaboraram para meu crescimento científico, mas principalmente, para meu desenvolvimento como ser humano.

A todos meus amigos, do mestrado, da engenharia, irmãos, amigos de infância... Cada um com um papel especial em todas as situações da minha vida, sempre contribuindo para minha felicidade.

Ao Gus e à Mari, por estarem presentes em, literalmente, todos os momentos da minha jornada no mestrado. É impossível pensar na minha passagem pelo mestrado sem lembrar de vocês com muita alegria, amigos!

Aos companheiros do laboratório Marcilene, Roseli, Boy, Carol, Jaque, Lilica, Yovanka e Junior, pelo apoio, carinho e paciência.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro e à UnB pela disponibilização da estrutura necessária ao desenvolvimento deste trabalho.

À empresa Vanbro pelo fornecimento da bomba para montagem do sistema experimental.

## RESUMO

### REMOÇÃO DOS CONTAMINANTES ORGÂNICOS $\beta$ -ESTRADIOL E SAXITOXINAS (STX, Neo-STX e dc-STX) POR MEIO DE NANOFILTRAÇÃO: AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA

**Autora:** Flavia Ferreira Amorim

**Orientadora:** Cristina Celia Silveira Brandão

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

**Brasília, 08 de novembro de 2007.**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a remoção dos contaminantes orgânicos  $\beta$ -estradiol e das saxitoxinas (STX, dc-STX e Neo-STX) por nanofiltração. A escolha dos contaminantes foi motivada pela crescente presença desses compostos em mananciais de abastecimento e o potencial de causar danos à saúde humana mesmo em baixas concentrações. Pesquisas demonstram que a eficiência de remoção pelo tratamento convencional não é suficiente para evitar os possíveis efeitos adversos e por isso um tratamento avançado precisa ser considerado para remoção desses contaminantes.

Os ensaios de nanofiltração foram realizados em um sistema com dispositivo de separação em membranas de fluxo tangencial, em escala de bancada, com recirculação do concentrado. A pressão de trabalho aplicada no sistema foi de 689kPa e a velocidade tangencial constante foi de aproximadamente 0,4m/s. A temperatura da água de alimentação foi mantida em cerca de 25°C. Foram testados dois tipos de membranas, uma de acetato de celulose e outra composta de poliamida sobre suporte de polissulfona. Dois tipos de águas de estudo foram utilizados e, além disso, a influência do valor do pH da água no processo de remoção dos contaminantes foi avaliada. A água de estudo tipo I consistia de água deionizada contaminada com  $\beta$ -estradiol em concentração constante de aproximadamente 10  $\mu$ g/L. A água tipo II consistia de água deionizada contaminada com saxitoxinas originadas da cepa de *Cylindropermopsis raciborskii*. A concentração de saxitoxinas foi variável, dependendo da concentração resultante do cultivo da cianobactéria. A quantificação do  $\beta$ -estradiol foi realizada pelo método “Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay” (ELISA) e das saxitoxinas pela Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (CLAE).

Os resultados dos ensaios demonstraram que o mecanismo de adsorção contribuiu para remoção tanto do  $\beta$ -estradiol, quanto das saxitoxinas. As remoções de  $\beta$ -estradiol foram maiores para a membrana composta do que para a membrana de acetato de celulose, no entanto a porcentagem de remoção real não pode ser avaliada, pois não se alcançou o equilíbrio na remoção. Para as saxitoxinas as remoções foram maiores para a membrana de acetato de celulose do que para a membrana composta. A elevação do valor de pH promoveu a redução do fenômeno da adsorção na membrana para os contaminantes estudados e influenciou positivamente o processo, elevando bastante as eficiências de remoção de  $\beta$ -estradiol e saxitoxinas.

**PALAVRAS-CHAVE:** nanofiltração,  $\beta$ -estradiol, saxitoxinas, tratamento de água.

## **ABSTRACT**

### **REMOVAL OF THE ORGANIC CONTAMINANTS $\beta$ -ESTRADIOL AND SAXITOXINS (STX, Neo-STX and dc-STX) BY NANOFILTRATION: BENCH SCALE**

**Author: Flavia Ferreira Amorim**

**Supervisor: Cristina Celia Silveira Brandão**

**Pos-graduated Program in Environmental Technology and Water Resources  
Brasília-DF, November, 2007.**

The aim of work was to investigate the removal of  $\beta$ -estradiol and saxitoxins (STX, dc-STX and Neo-STX) by nanofiltration. These contaminants were selected due to its growing detection in drinking water reservoirs and their potential risk to human health, even at low concentrations. According to the literature, these substances are only poorly removed by conventional water and wastewater treatments and it is necessary to consider advanced treatment processes for efficient removal.

The experiments were carried out in a laboratory scale cross-flow filtration system with recirculation of the concentrate. The applied pressure was fixed at 689kPa and the constant cross-flow velocity was 0,4m/s. The temperature of feed solution was kept at about 25°C. Two nanofiltration membranes, polyamide thin film composite and cellulose acetate, were tested for the removal of  $\beta$ -estradiol and saxitoxins. The influence of pH solution on contaminants retention was also examined. Feed water type I was prepared by spiking estradiol into mili-Q water to make up a solution containing about 10 $\mu$ g/L of  $\beta$ -estradiol. Feed water type II contained variable concentration of saxitoxins extracted from *Cylindropermopsis raciborskii* culture.  $\beta$ -estradiol and saxitoxins concentrations were quantified by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) method and High Performance Liquid Chromatography (HPLC), respectively.

The results suggest that the adsorption mechanism contributes for the removal of both  $\beta$ -estradiol and saxitoxins by nanofiltration. The thin film composite membrane exhibited higher performance in terms of  $\beta$ -estradiol rejection, but the actual percentage removed was not obtained because the steady-state was not reached. The cellulose acetate exhibited a higher performance in terms of the saxitoxins rejection. The adsorption of both  $\beta$ -estradiol and saxitoxins on the membranes decreased when the pH of the feed water was increased. At the higher pH value,  $\beta$ -estradiol and saxitoxins rejections also increased.

**Keywords:** nanofiltration,  $\beta$ -estradiol, saxitoxins, water treatment.

## SUMÁRIO

<b>1 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 - OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
<b>3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>6</b>
3.1 - PERTURBADORES ENDÓCRINOS .....	6
3.1.1 - Ação dos perturbadores endócrinos no organismo .....	7
3.1.2 - Efeitos causados por perturbadores endócrinos .....	8
3.1.3 - Ocorrência de perturbadores em meios aquáticos.....	13
3.1.4 - Características do $\beta$ -estradiol .....	17
3.2 - CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS .....	19
3.2.1 - Cianobactérias .....	19
3.2.2 - Cianotoxinas.....	22
3.2.3 - Características das Saxitoxinas .....	24
3.2.4 - Efeitos causados por cianotoxinas à saúde.....	28
3.3 - PROCESSOS DE TRATAMENTO POR MEMBRANA – FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	29
3.3.1 - Considerações iniciais.....	29
3.3.2 - Características físicas e químicas das membranas.....	30
3.3.3 - Tipos de processos de tratamento com membranas.....	32
3.3.4 - Utilização dos processos de membrana no saneamento.....	34
3.3.5 - Operação de sistemas de membranas.....	37
3.3.6 - Fatores que afetam a rejeição de solutos orgânicos no processo de nanofiltração .....	43
3.4 - REMOÇÃO DE PERTURBADORES POR PROCESSOS DE TRATAMENTO COM MEMBRANAS .....	52
3.5 - REMOÇÃO DE SAXITOXINAS POR PROCESSO DE TRATAMENTO COM MEMBRANAS .....	57
<b>4 - METODOLOGIA.....</b>	<b>59</b>
4.1 - EQUIPAMENTOS E MATERIAIS .....	60
4.1.1 - Sistema experimental de separação por membrana.....	60
4.1.2 - Membranas.....	63
4.1.3 - Contaminantes.....	64

4.2 - DESENVOLVIMENTO DOS EXPERIMENTOS.....	67
4.2.1 - Considerações Gerais .....	67
4.2.2 - Etapa Preliminar.....	71
4.2.3 - Etapa 1-Ensaio de nanofiltração para água do Tipo I.....	74
4.2.4 - Etapa 2 - Ensaio de nanofiltração para água do Tipo II .....	75
4.3 - MÉTODOS ANALÍTICOS .....	76
4.3.1 - ELISA .....	76
4.3.2 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE .....	79
<b>5 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>82</b>
5.1 - ETAPA 1 - ENSAIOS DE NANOFILTRAÇÃO PARA ÁGUA DO TIPO I (MILI-Q + B-ESTRADIOL) .....	82
5.1.1 - Considerações iniciais .....	82
5.1.2 - Eficiência de remoção e mecanismos.....	90
5.1.3 - Influência do pH na remoção do $\beta$ -estradiol .....	95
5.2 - ETAPA 2 - ENSAIOS DE NANOFILTRAÇÃO PARA ÁGUA DO TIPO II (MILI-Q+SAXITOXINAS) .....	99
5.2.1 - Considerações iniciais .....	99
5.2.2 - Eficiência de remoção e mecanismos.....	104
5.2.3 - Influência do pH na remoção das saxitoxinas.....	110
<b>6 - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....</b>	<b>118</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>123</b>



## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Resumo das principais características do $\beta$ -estradiol (Johnson e Harvey, 2002; Kimura <i>et al.</i> , 2004; McCallum, 2005 e Nghiem <i>et al.</i> , 2004a).....	18
Tabela 3.2 - Tipos de saxitoxinas caracterizadas a partir de diferentes cepas de cianobactérias (baseado em Sivonen e Jones, 1999). .....	25
Tabela 3.3 - Pesos moleculares de diferentes saxitoxinas (Llewellyn, 2006) .....	26
Tabela 3.4 - Características dos principais processos de membranas utilizados no tratamento de água e esgoto (Nóbrega <i>et al.</i> , 2005, Kawamura, 2000, Schneider e Tsutiya, 2001 e AWWA, 1998, Weber, 1972). .....	36
Tabela 3.5 - Valores típicos para taxa de fluxo em membranas (Wagner, 2001; Mierzwa, 2006).....	39
Tabela 3.6 - Parâmetros mais comumente utilizados para auxiliar no entendimento da remoção de contaminantes orgânicos por nanofiltração.....	44
Tabela 3.7 - Eficiência de remoção de perturbadores endócrinos e condições dos estudos – exemplos da literatura.....	53
Tabela 4.1 - Principais características das membranas utilizadas nos ensaios de nanofiltração. ....	63
Tabela 4.2 - Condições que foram adotadas para a análise de saxitoxinas (Oshima et al., 1995). .....	80
Tabela 5.1 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo I, pH em torno de 5 e membranas de acetato de celulose (tipo A).....	82
Tabela 5.2 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo I, valor de pH em torno de 5 e membranas compostas (tipo B).....	88
Tabela 5.3 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água Tipo I, valor de pH em torno de 10,5 e membranas compostas (tipo B).....	96
Tabela 5.4 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo II, pH $\approx$ 7. ....	100
Tabela 5.5 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo II, com correção de pH e para membrana de acetato de celulose (tipo A) .....	111

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Mecanismos de ação dos perturbadores endócrinos. (a) resposta natural, (b) efeito agonista, (c) efeito antagonista (Ghiselli e Jardim, 2007).....	8
Figura 3.2 - Estrutura geral das saxitoxinas. ....	25
Figura 3.3 - Esquema básico de funcionamento de uma membrana (Aptel e Buckley, 1996) .....	31
Figura 3.4 - Esquema do funcionamento dos processos de separação por membrana (Mierzwa, 2006) .....	33
Figura 3.5 - Dimensões dos principais componentes microscópicos e moleculares presentes em águas naturais e tipos de membranas utilizáveis para a sua separação. (Schneider e Tsutiya, 2001 modificado). ....	34
Figura 3.6 – Operação em fluxos frontal e tangencial (Schneider e Tsutiya, 2001) .....	37
Figura 3.7 - Arranjos para os vasos de pressão e taxas de recuperação de água (Mierzwa, 2006).....	39
Figura 3.8 - Diagrama de rejeição para micropoluentes orgânicos (para membranas de osmose reversa e nanofiltração) baseado nas propriedades dos solutos (Bellona <i>et al.</i> ,2004, modificado).....	51
Figura 4.1 - Esquema simplificado do sistema de nanofiltração .....	60
Figura 4.2 - Vista geral do sistema de nanofiltração .....	61
Figura 4.3 - Célula de separação tangencial. (a) componentes da célula de separação. (b) Suporte da célula de separação. (c) base da célula, detalhe do espaçador. (d) célula de separação com carreador de permeado e membrana instalados .....	62
Figura 4.4 - Vista geral do cultivo de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> do Laboratório de Análise de Águas da UnB.....	65
Figura 4.5 – Cultivo de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (T3) antes do processo de lise. (Microscópio óptico, aumento de 100 vezes (a) e 200 vezes (b)) .....	65
Figura 4.6 - Cultivo de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (T3) após lise pelo processo de gelo/degelo. (Microscópio óptico, aumento de 100 vezes (a) e 200 vezes (b)) .....	66
Figura 4.7 – Bancada de separação .....	66
Figura 4.8 - Distribuição dos experimentos de nanofiltração.....	68
Figura 4.9 - Rotina dos ensaios de nanofiltração .....	68

Figura 4.10 - Fotos do esquema de refrigeração da água de estudo .....	73
Figura 4.11 - Etapas do ensaio ELISA (Japan EnviroChemicals, 2005 - modificado). .....	77
Figura 4.12 - Vista da placa de Elisa (a) após adição do substrato de cor, (b) após adição da solução de parada .....	78
Figura 4.13 - Leitor de ELISA.....	78
Figura 4.14 - Equipamento de CLAE utilizado na pesquisa .....	79
Figura 4.15 - Sistema de CLAE com reator pós-coluna para a análise de saxitoxinas .....	81
Figura 5.1 - Ensaio de nanofiltração para água tipo I (mili-Q+ $\beta$ -estradiol) e membrana de acetato de celulose (tipo A), velocidade tangencial= 0,4m/s, pressão=689kPa, pH $\approx$ 5. (a) ensaioMAC1, (b) ensaioMAC2. ....	85
Figura 5.2 - Ensaio de nanofiltração para água tipo I (mili-Q+ $\beta$ -estradiol) e membrana de acetato de celulose (tipo A), velocidade tangencial= 0,4m/s, pressão=689kPa, pH $\approx$ 5. (a) ensaioMAC3, (b) ensaioMAC4 .....	86
Figura 5.3 - Comparação entre amostras retiradas do concentrado e reservatório de alimentação .....	87
Figura 5.4 - Ensaio de nanofiltração para água tipo I (mili-Q+ $\beta$ -estradiol) e membrana composta (tipo B), velocidade tangencial=0,4m/s, pressão=689kPa, pH $\approx$ 5. (a) ensaio MCP1, (b) ensaio MCP2, (c) ensaio MCP3 .....	89
Figura 5.5 - Remoção de $\beta$ -estradiol para água tipo I (mili-Q+ $\beta$ -estradiol), velocidade tangencial=0,4m/s, pressão=689kPa, pH $\approx$ 5. Ensaio MCA4 para membrana de acetato de celulose (tipo A) e ensaio MCP2 para membrana composta (tipo B) .....	91
Figura 5.6 - Ensaio de dessorção. Velocidade tangencial=0,4 m/s. pressão=689kPa, pH $\approx$ 5. (a) Ensaio MAC3, membrana de acetato de celulose (tipo A); (b) Ensaio MCP3, membrana composta (tipo B).....	94
Figura 5.7 - Ensaio de nanofiltração para água tipo I, com alteração de pH (10,5) para membranas compostas (Tipo B). Velocidade superficial=0,4m/s, pressão=689kPa. (a) ensaio MCP4 (b) ensaio MCP5 .....	97
Figura 5.8 - Remoção de $\beta$ -estradiol para o ensaio MCP5 com membrana composta (tipo B) e valor de pH em torno de 10,5. pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s.....	98
Figura 5.9 - Ensaio de nanofiltração para água tipo II (mili-Q+saxitoxinas) e pH $\approx$ 7, pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s. (a) ensaioMAC5-membrana de acetato de celulose (tipo A), (b) ensaio MAC6- membrana tipo A. ....	102

Figura 5.10 - Ensaio de nanofiltração para água tipo II (mili-Q+saxitoxinas) e $\text{pH} \approx 7$ , pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s. (a) ensaio MCP6-membrana composta (tipo B), (b) ensaio MCP7 – membrana tipo B .....	103
Figura 5.11 - Amostra de permeado coletada na décima hora de duração do ensaio e de concentrado coletada no início do ensaio de remoção de saxitoxinas por nanofiltração. ....	105
Figura 5.12 - Cromatogramas de ensaios de nanofiltração. (a) ensaio MAC5 para a membrana de acetato de celulose (tipo A); (b) ensaio MCP6 para a membrana composta (tipo B). ....	106
Figura 5.13 - Remoção de Neo-STX para água tipo II (mili-Q+material da lise celular incluído saxitoxinas), $\text{pH} \approx 7$ . Ensaio MAC6 - membrana tipo A e ensaio MCP6-membrana tipo B.....	107
Figura 5.14 - Ensaio de nanofiltração para água tipo II, com alteração de pH e para membrana tipo A. pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s (a) ensaio MAC7 ( $\text{pH} \approx 5$ ) (b) ensaio MAC8 ( $\text{pH} \approx 10,5$ ).....	112
Figura 5.15 - Cromatogramas do teste de degradação natural do ensaio para membrana tipo A $\text{pH}=5$ .....	114
Figura 5.16 - Cromatograma de remoção de saxitoxinas com valor de pH 10,5 para membrana de acetato de celulose (tipo A).....	115
Figura 5.17 - Cromatogramas do teste de degradação natural de saxitoxinas do ensaio para membrana de acetato de celulose (tipo A) e valor de pH em torno de 10,5. ....	117

## LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E ABREVIACÕES

ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
C	C-toxinas
Ca	Concentração de material na alimentação
CAS	Serviço de compêndio de substâncias químicas
CE	Comissão Européia
CLAE	Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
COPPE	Coordenação dos Programas de Pós-Graduação de Engenharia
Cp	Concentração de material no permeado
dc-STX	Decarbamoil saxitoxina
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
E2	$\beta$ -estradiol
EDSP	<i>Endocrine Disruption Screening Program</i>
EDSTAC	<i>Endocrine Screening and Testing Advisory Committee</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
ETE	Estação de Tratamento de Esgotos
GTX	Goniautoxinas
JEA	<i>Japan Environmental Agency</i>
Kow	Constante de partição octanol-água
LAA	Laboratório de Análise da Água do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília
LETC	Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias do Instituto Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro
LWTX	Toxinas de <i>Lyngbya wollei</i>
MCT	Ministério da Ciência e Tecnologia
MF	Microfiltração
MWCO	<i>Molecular Weight Cut-off</i> (peso molecular de corte)
Neo-STX	Neosaxitoxina
NF	Nanofiltração
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	Osmose reversa
pKa	Logaritmo da constante de dissociação ácida

PVDF	Fluoreto de polivinilideno
PCB	Bisfenol policlorinado
PES	Polietersulfona hidrolisada
PSP	Venenos paralisantes de moluscos
STX	Saxitoxina
T3	Cepa da <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>
TFC	<i>Thin-film composite</i>
UF	Ultrafiltração
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UnB	Universidade de Brasília
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
VTG	Vitelogenina

## 1 - INTRODUÇÃO

Um dos problemas ambientais causados pelo o crescimento das cidades e das atividades agrícolas e industriais é que essas atividades, ao introduzirem nutrientes no meio aquático, promovem um enriquecimento artificial do ecossistema, contribuindo para a ocorrência de acelerados processos de eutrofização. Essa eutrofização artificial produz mudanças na qualidade da água, incluindo um intenso crescimento da comunidade fitoplanctônica, geralmente com predominância do grupo de cianobactérias em relação às demais espécies de algas.

A elevada presença de cianobactérias nos mananciais de abastecimento público causa problemas operacionais nas estações de tratamento de água, proporcionando conseqüências negativas sobre a eficiência e custo do tratamento de água. Entretanto, a principal preocupação com aumento da ocorrência de florações de cianobactérias esta relacionada à capacidade que esses microrganismos têm de produzir e liberar para o meio líquido toxinas (cianotoxinas), que podem afetar tanto a saúde humana quanto animal.

O primeiro caso comprovado de intoxicação fatal de seres humanos por cianotoxinas, ocorreu em Caruaru (PE), em 1996, quando 130 pacientes renais crônicos, após terem sido submetidos a sessões de hemodiálise (exposição intravenosa), passaram a apresentar um quadro clínico compatível com grave hepatotoxicose. Desses, 60 vieram a falecer até 10 meses após o início dos sintomas. Testes realizados na água utilizada na hemodiálise indicaram a presença de cianotoxinas, dos grupos da microcistina e cilindrospermopsina.

Esse incidente contribuiu para a inclusão das cianotoxinas no padrão de potabilidade brasileiro objeto da Portaria n° 1469 do Ministério da Saúde - MS, de 29/12/2000 que posteriormente foi substituída pela Portaria MS n° 518, de 25/03/2004. Essa Portaria adota o limite de concentração de 1,0 µg/L de microcistina em águas de abastecimento. Com relação às cilindrospermopsinas e saxitoxinas, devido a não existência de dados suficientes para o estabelecimento de um limite de concentração máximo aceitável em água potável para estas toxinas, a Portaria traz somente uma recomendação de um limite de cilindrospermopsina e saxitoxinas de 15,0 µg/L e 3,0 µg/L, respectivamente.

A *Microcystis aeruginosa*, produtoras de toxinas denominadas microcistinas, é a espécie que apresenta a distribuição mais ampla no Brasil. Entretanto, nas últimas décadas documenta-se a frequente ocorrência de *Cylindrospermopsis raciborskii* nos reservatórios de água em diversos estados brasileiros. Foi demonstrado que cepas brasileiras de *Cylindrospermopsis raciborskii*, isoladas de diferentes regiões, na sua vasta maioria, são produtoras de saxitoxinas. Essas substâncias apresentam toxicidade aguda maior do que as microcistinas.

Além do enriquecimento artificial do ecossistema aquático, que pode causar florações de cianobactérias, os resíduos de origem doméstica e das atividades industriais e agrícolas contribuem para o aporte de uma vasta gama de contaminantes aos corpos de água. Um grupo de contaminantes associados a essas fontes que vêm despertando o interesse de vários pesquisadores são os perturbadores endócrinos, que possuem essa denominação, pois agem simulando a ação de hormônios naturais, inibindo ou modificando a síntese, transporte e função dos hormônios e, conseqüentemente, alterando as funções regulares normais dos sistemas endócrinos.

As substâncias perturbadoras do sistema hormonal podem ser de origem natural (hormônios, fitoestrogênios, etc) ou de compostos químicos sintéticos, advindos dos mais variados usos industriais, incluindo solventes, pesticidas, hormônios sintéticos, etc. Dentre esses perturbadores, o hormônio 17 $\beta$ -estradiol desperta a atenção de pesquisadores da área de saneamento pela freqüente ocorrência em efluentes de ETEs e águas superficiais e por ter sido considerado um dos mais potentes perturbadores endócrinos.

Os impactos dos perturbadores endócrinos relatados em animais abrangem, em geral, desenvolvimento anormal da função tireóide em pássaros e peixes, diminuição da fertilidade e alterações sexuais e imunológicas em crustáceos, peixes, pássaros e répteis. Em humanos, há indícios de que o desenvolvimento de algumas doenças como câncer de mama e de próstata, redução de fertilidade masculina, mau formação congênita em crianças, entre outros, podem ter como uma das causas, a exposição aos perturbadores endócrinos. No entanto, a relação entre alterações na saúde humana e perturbadores endócrinos ainda é pouco entendida e cientificamente controversa. Vários desses efeitos têm sido causados com concentrações muito baixa das substâncias, em geral da ordem de nanograma por litro.



A preocupação com a crescente presença de contaminantes orgânicos na água de abastecimento e os efeitos destes sobre a saúde humana, mesmo quando se encontram em baixas concentrações, motivou este estudo. Foram selecionados o  $\beta$ -estradiol e as saxitoxinas (STX, dc-STX e Neo-STX), pois além de terem grande potencial de causarem danos a saúde, ainda são pouco estudados. Além disso, apesar de serem de naturezas diferentes, ambos são orgânicos e apresentam pesos moleculares baixos e de valores semelhantes.

Diversos estudos demonstram que a eficiência de remoção pelo tratamento convencional, tanto da fração dissolvida das cianotoxinas quanto dos hormônios não são suficientes para evitarem seus efeitos adversos em organismos. Nesse contexto, um tratamento avançado precisa ser considerado para a remoção desses compostos.

A oxidação com ozônio e a adsorção em carvão ativado granular mostram-se bastante efetivos na remoção de várias cianotoxinas quando essas se encontram dissolvidas na água. No entanto, com relação as variantes de saxitoxinas estudadas no presente trabalho poucos estudos foram realizados. Quanto à remoção de hormônios poucos processos de tratamentos são eficientes na remoção dessas substâncias, destacando-se o carvão ativado e o processo de tratamento por membranas. O processo de tratamento por membrana tem mostrado ser o mais eficiente na remoção de hormônios.

No Brasil, o tipo de processo de separação por membranas mais difundido no tratamento de água é a osmose reversa, usada, principalmente, para dessalinização. No entanto, nos últimos anos o desenvolvimento tecnológico desse tratamento trouxe para o mercado, variantes que atuam com pressões menores e podem remover uma grande variedade de poluentes. Entre elas destacam-se a microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração. A nanofiltração, segundo estudos, é a mais eficiente na remoção de hormônios.

Além de sua eficiência, o tratamento por processos de membranas é bastante versátil e dispensa, em geral, o uso de produtos químicos. Por sua característica de barreira absoluta e por mostrar-se eficiente na remoção de diversos contaminantes, acredita-se que o processo de tratamento com membranas possa ser efetivo, também, na remoção de saxitoxinas. Alguns estudos recentes apontam favoravelmente a nanofiltração para

remoção de microcistinas, mas ainda não há estudos que relatem a remoção para saxitoxinas.

Dessa forma, esta pesquisa, de caráter experimental, tem o intuito de fornecer contribuições para o conhecimento do processo de remoção dos contaminantes  $\beta$ -estradiol e saxitoxinas por meio da nanofiltração e iniciar uma linha de pesquisa nesse tema específico dentro do Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos da Universidade de Brasília.

## 2 - OBJETIVOS

O trabalho proposto tem como objetivo geral avaliar a eficiência de remoção do perturbador endócrino  $\beta$ -estradiol e das saxitoxinas (STX, dc-STX e Neo-STX) por meio do processo de nanofiltração em dispositivo de fluxo tangencial em escala de bancada.

Em termos mais específicos, os objetivos são:

- 1 - Avaliar a influência de dois diferentes materiais de membrana (acetato de celulose e filme fino de poliamida sobre suporte de polissulfona) no processo de remoção dos contaminantes;
- 2 - Avaliar a influência da adoção de valor de pH acima do pKa do composto no processo de remoção dos contaminantes estudados;
- 3 - Discutir os possíveis mecanismos envolvidos no processo de remoção, por nanofiltração, de contaminantes orgânicos de naturezas diferentes, porém de pesos moleculares semelhantes: as saxitoxinas e o  $\beta$ -estradiol.

### 3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 - PERTURBADORES ENDÓCRINOS

Um perturbador endócrino é uma substância exógena ou uma mistura que altera funções do sistema endócrino e, conseqüentemente, causa efeitos adversos à saúde de indivíduos, de seus descendentes e/ou de populações (Comissão Européia, 1999).

De acordo com a Comissão Européia (2006) os compostos estrogênicos, potenciais perturbadores endócrinos incluem: hormônios naturais (estradiol, estrona, estriol) liberados no ambiente por animais e humanos; compostos químicos naturais, que incluem toxinas produzidas por plantas (fitoestrogênios) e por alguns fungos; produtos farmacêuticos sintéticos, produzidos intencionalmente para serem hormonalmente ativos (por exemplo, pílulas anticoncepcionais) e produtos químicos sintéticos, que incluem os pesticidas, produtos químicos industriais (alquilfenóis, bisfenóis policlorinados-PCBs, dioxinas, entre outros) e seus resíduos.

Coille *et al.* (2002), de forma similar, classificam os perturbadores endócrinos em quatro tipos: estrogênios naturais (ex. estrona, estradiol, estriol); estrogênios sintéticos (ex. fármacos); fitoestrogênios; xenoestrogênios (ex. químicos industriais como, bisfenol A, p-nonilfenol, DDT).

Cabe salientar que estrogenicidade (atividade hormonal) por si, não é um efeito adverso, é um mecanismo natural da ação hormonal controlado pela homeostase. No entanto, substâncias químicas com propriedades estrogênicas agindo no sistema endócrino fora do contexto natural são potencialmente indutoras de um efeito adverso (Fischer, 2004).

A exposição aos perturbadores endócrinos pode ocorrer a partir de diversas fontes. Assim, seres vivos estão expostos a alguns fitoestrogênios por meio de sua dieta diária; no contato com ar e solo contaminado; ao utilizar produtos comerciais, como detergentes, tintas, pesticidas, cosméticos, pílulas anticoncepcionais ou ingerir água com resíduos desses compostos.

### 3.1.1 - Ação dos perturbadores endócrinos no organismo

O sistema hormonal ou endócrino está primariamente relacionado com o controle das funções metabólicas do organismo, regulando a velocidade das reações químicas das células, o transporte de substâncias através de membranas celulares ou outros aspectos do metabolismo celular, como crescimento e secreção.

O hormônio é uma substância química que é secretada nos líquidos corporais por glândulas, e que exerce efeito de controle fisiológico sobre outras células do organismo (Guyton, 1989).

O mecanismo do sistema endócrino é acionado por reações das células nervosas a algum estímulo externo (exemplo: fome, medo, etc), ou seja, o sistema nervoso envia um sinal desencadeador à hipófise que liberará um determinado hormônio, o qual atuará sobre uma glândula endócrina específica, estimulando esta a produzir e liberar seu hormônio específico para a corrente sanguínea ou para ação local. Esses últimos hormônios produzidos levam instruções às células-alvos onde se ligarão a receptores específicos. O conjunto receptor-hormônio interpreta a mensagem hormonal e faz a transdução, isto é, a transformação do sinal numa reação química que determinará o efeito hormonal (Veras, 2006).

Acredita-se que a alteração no sistema endócrino causada por perturbadores endócrinos pode estar associada à, pelo menos, três mecanismos (Comissão Européia, 1999):

- Simulação da ação de hormônios naturais (Figura 3.1b), como o estrogênio e a testosterona, desencadeando um estímulo falso de modo exagerado ou em tempo inadequado (efeito agonista);
- Bloqueio (Figura 3.1c) dos receptores específicos de determinados hormônios (efeito antagonista);
- Alteração na síntese, transporte, metabolismo e excreção dos hormônios, causando, portanto, alteração na concentração de hormônios naturais.

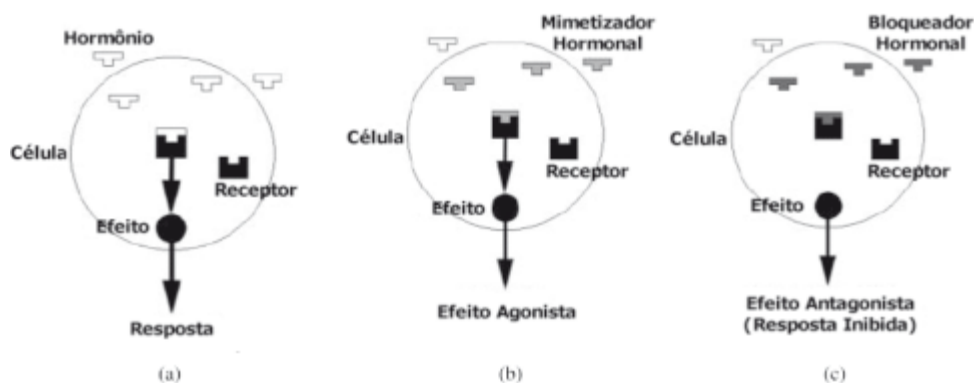


Figura 3.1 - Mecanismos de ação dos perturbadores endócrinos. (a) resposta natural, (b) efeito agonista, (c) efeito antagonista (Ghiselli e Jardim, 2007)

Cabe salientar, entretanto, que a questão dos mecanismos de ação dessas substâncias no organismo ainda não foi totalmente entendida.

### 3.1.2 - Efeitos causados por perturbadores endócrinos

Existem diversos estudos que apontam impactos associados à exposição aos perturbadores endócrinos em animais silvestres, aquáticos e em humanos. As evidências de que essas substâncias podem afetar a vida de alguns animais é forte, no entanto, os efeitos em humanos ainda são controversos.

Os efeitos na vida de animais variam de mudanças sutis na fisiologia e comportamento sexual de espécies, a alterações permanentes na diferenciação sexual. A maioria dos estudos foi realizada na Europa e América do Norte e apontam as espécies aquáticas como as mais afetadas. Os impactos relatados em animais abrangem, em geral, desenvolvimento anormal da função tireóide em pássaros e peixes, diminuição da fertilidade e alterações sexuais e imunológicas em crustáceos, peixes, aves, répteis e mamíferos (Castro, 2002).

Em humanos, a exposição aos perturbadores endócrinos tem sido indicada como uma das causas de diminuição na contagem de espermatozoides, má formação congênita em crianças (anormalidades na uretra dentro do pênis, escrotos, etc), câncer (mama, ovário, próstata, etc), atraso no desenvolvimento sexual, distúrbios no comportamento neurológico e endometriose (Comissão europeia, 2006).

Apesar de a preocupação ser recente, o fenômeno de perturbação endócrina por substâncias naturais e sintéticas é relatado há décadas. A descoberta de que certos compostos podem simular hormônios endógenos foi relatada na década de 1930 (Walker e Janney, 1930 *apud* Snyder *et al.*, 2003a). A capacidade de compostos estrogênicos e androgênicos interferirem na metamorfose de anfíbios foi relatada em 1948 (Sluzewski e Roth, 1948 *apud* Snyder *et al.*, 2003a).

A atividade estrogênica de compostos orgânicos foi de pouco interesse ambiental até a descoberta de que o DDT (Diclorodifeniltricloroetano), um pesticida organoclorado, e seus metabólitos tinham propriedades de desregulação endócrina. Evidências de perturbação endócrina por DDT foram, segundo Snyder *et al.* (2003a), descritas em pesquisas realizadas na Flórida, ligando alterações reprodutivas em jacarés com derramamentos de DDTs no lago Apopka.

Recentemente, estudos têm demonstrado que os esteróides liberados de humanos são os principais agentes causadores de feminização de peixes em meios onde existem lançamentos de esgotos (Christiansen *et al.*, 2002). Os peixes são um dos grupos de organismos mais estudados em termos de efeito de substâncias com atividade estrogênica no desenvolvimento de anomalias no sistema reprodutivo.

Bila e Dezotti, em 2003 publicaram um levantamento de estudos que abordaram efeitos de fármacos no meio ambiente, principalmente no meio aquático. Segundo esse levantamento, foi observado que alguns organismos aquáticos respondem à exposição a determinadas concentrações de estrogênio com um aumento na síntese de vitelogenina (VTG). Vitelogenina é uma proteína que desempenha um importante papel no sistema reprodutivo de vertebrados ovíparos fêmeas. O aumento de VTG no plasma de um organismo é considerado uma evidência da exposição deste à substâncias com atividade estrogênica. Indução do hermafroditismo ou a feminização completa foram observadas, por exemplo, em peixes da espécie *Oryzias latipes* quando expostos ao estrogênio 17 $\beta$ -estradiol. A exposição ao 17 $\beta$ -estradiol e estrona em concentrações similares às encontradas em efluentes, também causaram profundos efeitos em peixes machos da espécie *Pimephales promelas*. Os efeitos relatados foram a síntese de VTG e a inibição testicular.

Outra questão relevante é que vários dos efeitos relatados resultam da exposição de organismos a concentrações muito baixas (traços) de estrogênios. Na revisão sobre feminização de peixes realizada por Christiansen *et al.* (2002), foi relatado que estrogênios podem induzir hermafroditismo em peixes em concentrações de cerca de 0,1 ng/L, no caso do etinilestradiol (estrogênio sintético) e 10 ng/L no caso do 17 $\beta$ -estradiol. Uma concentração de 5 ng/L de 17 $\beta$ -estradiol pode induzir outros efeitos adversos à saúde de peixes.

A interação de efeitos toxicológicos de diversos perturbadores misturados também vem sendo estudada, embora em menor escala. Silva *et al.* (2002) testaram o potencial estrogênico de uma mistura de oito xenoestrogênios que, individualmente, possuíam concentrações abaixo dos níveis em que podem induzir atividade hormonal. Os autores concluíram que perturbadores podem agir em conjunto para produzir significativos efeitos quando combinados, mesmo que cada um apresente concentrações menores que aquelas do seu potencial estrogênico.

Além de efeitos diretos, impactos indiretos ao meio ambiente podem ser considerados. Alguns antibióticos podem contribuir no desenvolvimento de bactérias resistentes que podem ser prejudiciais a saúde. Segundo Jorgensen *et al.* (2000 *apud* Bila e Dezotti, 2003), há indícios de que o desenvolvimento dessa resistência antibiótica é favorecido por baixas concentrações.

McLachlan *et al.* (2006) fizeram uma revisão com o relato de diversos efeitos de perturbadores endócrinos no sistema reprodutivo de fêmeas de animais e em mulheres. Os autores salientam a importância de realização de pesquisas sobre efeitos no sistema reprodutivo de humanos, já que a grande sensibilidade dos tecidos da mama e útero aos estrogênios faz deste sistema um alvo vulnerável aos compostos ambientais que simulam a ação desses hormônios. Além disso, alguns estudos sugerem que os efeitos podem ser transgeracionais e, portanto, mesmo que as fontes de exposição sejam removidas, a população pode ser impactada por décadas.

A relação entre perturbação endócrina e efeitos adversos em humanos é bem exemplificada na prescrição do estrogênio sintético diestilbestrol a milhares de mulheres como anti-abortivo na década de 1930, um exemplo de uma exposição não como contaminante



ambiental, mas sim, como um uso farmacêutico. Décadas mais tarde, foi descoberto que esse fato resultou em muitos problemas reprodutivos em homens e mulheres, incluindo anormalidades congênitas e câncer. Esse foi o primeiro exemplo documentado de substância química que quando ministrada a mãe pode causar câncer em seus filhos (Comissão Européia, 1999).

Diversos autores (Sharpe e Irvine, 2004; Matthiessen, 2000; Safe, 2004) acreditam na possibilidade dos perturbadores endócrinos causarem sérios efeitos sobre a saúde humana, mas consideram os estudos inconclusivos, indicativo da necessidade de pesquisas mais rigorosas. De fato, há algumas questões que são alvos de discussão com relação aos efeitos dos perturbadores endócrinos em humanos. As condições nas quais os perturbadores causam efeitos adversos envolvem vários fatores insuficientemente explicados, como doses, carga genética, forma e duração da exposição, relações entre a potência e estrutura de cada substância, se agem de forma crônica ou aguda e se provocam efeitos reversíveis ou não (Castro, 2002). Além disso, muitas vezes é difícil comparar e integralizar os diversos resultados dos estudos realizados por causa da diferença de metodologia de experimentação, inconsistência no padrão de repetição dos experimentos, informações coletadas em diferentes períodos e sob diferentes condições de exposição (IPCS, 2002). Deve-se atentar, também, para extrapolação dos dados de efeitos de testes realizados *in vitro* para *in vivo* e extrapolação de dados experimentais para situações com humanos.

Outros questionamentos são levantados com relação ao impacto dos perturbadores endócrinos sobre os seres humanos. Por exemplo, se perturbadores endócrinos causam efeitos adversos em humanos, é improvável que esses efeitos sejam causados por produtos químicos na água, devido às diminutas concentrações que resultam em doses, que são pequenas, se comparadas a fitoestrogênios e outros perturbadores presentes nos alimentos (Snyder *et al.*, 2003a).

Com intuito de esclarecer quais e como são os efeitos dessas substâncias e padronizar os métodos de análises, com adequação dos tradicionais paradigmas de testes de toxicologia às especificidades dos perturbadores, diversas associações e órgãos ambientais têm estabelecido programas voltados para o desenvolvimento de metodologias e pesquisas de monitoramento desses contaminantes e procuram elaborar regulamentações.

Em 1996, a USEPA, agência ambiental americana, criou um grupo de trabalho (EDSTAC- *Endocrine Screening and Testing Advisory Committee*) para desenvolver recomendações sobre testes e ensaios relacionados a perturbadores endócrinos. Um dos programas desenvolvidos (*Endocrine Disruption Screening Program* – EDSP) foi concebido para validar métodos de análise e testes para identificar o potencial de perturbadores endócrinos; determinar efeitos adversos, dose-resposta, avaliações de risco, bem como extrapolar testes em mamíferos para efeitos em humanos. Esses métodos ou ensaios, uma vez validados, devem subsidiar a USEPA para identificar e caracterizar a atividade endócrina de pesticidas, produtos químicos e contaminantes ambientais.

Foram criadas duas linhas de testes. Uma linha para identificar se o composto tem potencial para interagir no sistema endócrino. Outra, para determinar efeitos específicos causados por uma substância considerada perturbadora e estabelecer a dose nas quais os efeitos ocorrem. Vários protocolos estão em estágio de validação e fornecerão um nível adicional de avaliação segura da gama de produtos químicos. O estágio de desenvolvimento dos ensaios encontra-se na página eletrônica da USEPA (USEPA, 2006).

Segundo Harvey e Everett (2006) os atuais protocolos de toxicologia da USEPA podem detectar a toxicidade dos perturbadores endócrinos, mas testes específicos são necessários para confirmar seus mecanismos de atuação. Ainda segundo esses autores, uma estratégia para avaliação de perturbadores endócrinos também está sendo elaborada no âmbito da Comissão Européia - CE. No entanto, existem diferenças na filosofia geral dessas agências que afetam a avaliação dos dados gerados pelos testes de toxicidade e de riscos.

A estratégia da CE para avaliar os potenciais de impactos ao meio ambiente e à saúde humana causados por perturbadores endócrinos foi divulgada em 1999 (Comissão Européia, 1999) e delimita ações em curto, médio e longo prazo para identificar essas substâncias e pesquisá-las.

Um estudo publicado em 2000 pela Comissão Européia apresentou uma lista de 553 substâncias suspeitas de serem perturbadores endócrinos, das quais 118 substâncias apresentaram evidências ou potencial de desregulação endócrina. O estudo foi submetido à opinião do Comitê Científico para Toxicidade, Ecotoxicidade e Meio Ambiente e a especialistas consultores. Baseados nas recomendações desses analistas, dois novos

estudos foram iniciados. Um deles analisou nove substâncias potencialmente consideradas como perturbadores endócrinos, entre elas o estradiol e estrona. A seleção foi feita após análise das 118 substâncias mencionadas. O estudo concluiu que o estrona, 17  $\beta$ -estradiol e o hormônio sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol são, evidentemente, causadores de efeitos na reprodução e desenvolvimento de peixes (Comissão Européia, 2004). Por enquanto, não foi recomendado nenhum limite de valores de perturbadores na água de abastecimento, apesar de existirem problemas ligados à liberação desses compostos na água.

No Japão, a agência ambiental (JEA) publicou programas estratégicos sobre perturbadores endócrinos ambientais (Komori *et al.*, 2004), com uma lista de mais de 70 contaminantes suspeitos de causar anormalidades em animais em concentrações muito pequenas.

Cabe salientar, que as legislações que estabelecem limites de contaminates em água para consumo humano contemplam substâncias consideradas potenciais perturbadores endócrinos, porém esses limites ainda não estão estabelecidos em função de seus efeitos de perturbação endócrina, mesmo porque ainda não se chegou a um consenso de uma lista bem definida desses poluentes e seus efeitos. Como exemplo pode-se citar os pesticidas (que também funcionam como perturbadores).

No Brasil, a avaliação de perturbadores ainda é incipiente. Enquanto que em outros países há programas oficiais para estudar os efeitos e regulamentar a questão dos perturbadores endócrinos, no Brasil, ainda não se observa a preocupação em se lançar propostas oficiais para estudo e regulação do tema e as iniciativas acabam ficando isoladas em alguns estudos no âmbito acadêmico.

### **3.1.3 - Ocorrência de perturbadores em meios aquáticos**

Parte dos micropoluentes absorvidos pelo organismo humano está sujeito a reações metabólicas. Entretanto, quantidade significativa dessas substâncias originais e seus metabólitos são excretados na urina, fezes, sendo frequentemente encontrados no esgoto. Assim, o interesse por pesquisas relacionadas a perturbadores endócrinos voltadas para a área de saneamento tem aumentado. Os efluentes domésticos e industriais são considerados uma das principais fontes de contaminação de estrogênios naturais e sintéticos.

Várias substâncias persistentes não são completamente removidas nas ETEs e podem poluir cursos de água e mananciais, acabando por se tornar uma preocupação, também, para o tratamento de água de abastecimento. Além disso, tem sido relatado que formas conjugadas (glucoronidos e sulfatos) menos ativas de estrogênio excretadas por animais, podem ser desconjugadas durante o processo de tratamento de esgoto e gerar formas mais potentes. (Ternes *et al.*, 1999).

A presença tanto de estrogênios e progesteronas naturais, quanto de sintéticos nas águas tem, em sua maioria, sido relatada em faixas de ocorrências abaixo de 1 ng/L até 10 ng/L, e somente em poucos casos as concentrações são mais altas, da ordem de µg/L (Ternes *et al.*, 1999).

Wang *et al.* (2005) analisaram amostras de estação de tratamento para reúso de água de Tianjin, na China, para verificar a concentração de nove perturbadores endócrinos entre eles a estrona, o 17β-estradiol, o bisfenol A e o 4-nonilfenol, além de alguns ftalatos. A Estação de Reúso em questão recebe esgoto secundário de uma estação de lodos ativados e trata por coagulação-floculação, microfiltração em membrana e ozonização e as amostras foram retiradas em cada um desses estágios. Concentrações de esteróides, alquilfenóis e ftalatos no afluente da estação de reúso (saída da estação de lodos ativados) variaram, respectivamente, entre abaixo do limite de detecção até 8,1 ng/L, abaixo do limite de detecção até 14,2 ng/L e de 1µg/L a 23,8 µg/L. A média de eficiência de remoção dessas substâncias em todas as etapas da estação de reúso foi entre 30% a 82%. Esses resultados indicam que esses compostos não são completamente removidos, e, portanto, podem ser carregados para o meio ambiente. As concentrações encontradas já podem provocar, de acordo com a literatura, efeitos adversos em organismos e, além disso, podem ocorrer efeitos toxicológicos sinérgicos entre os diferentes compostos.

No Japão, Komori *et al.* (2004) analisaram amostras de 20 estações de tratamento de esgotos, a maioria com processos convencionais de lodos ativados, para avaliar a ocorrência de estrogênios livres e seus conjugados. A concentração das substâncias conjugadas (por exemplo, estrone-3-sulfate (E1-S); β-estradiol 3-sulfate (E2-S); estriol 3-sulfate (E3-S) e β-estradiol 17-(β-D)-glucuronide (E2-G)) foi mais alta que aquelas dos estrogênios livres (estriol, estrona, 17β-estradiol). Dentre os estrogênios livres as concentrações mais altas no efluente do decantador secundário foram de estrona (em média

12 ng/L). As reduções dos estrogênios nas estações foram elevadas, aproximadamente 100% e 99% para estriol e estradiol, enquanto que para a estrona foi menos eficiente (45%) sugerindo que sua taxa de degradação nos processos de tratamento é menor.

No Canadá, Servos *et al.* (2005) estudaram a detecção dos hormônios naturais ( $17\beta$ -estradiol e estrona) em 18 estações de tratamento de esgoto, que incluíam processos de lodo ativado ou tratamento por lagoas de estabilização. Nos afluentes foram encontradas significativas concentrações das substâncias (15,6 ng/L de  $17\beta$ -estradiol e 49 ng/L de estrona). No efluente final as concentrações reduziram para 1,8 ng/L e 17 ng/L, demonstrando, de forma similar ao relatado por Komori *et al.* (2004), uma boa eficiência de remoção para o estradiol e uma remoção mais difícil da estrona, com eficiências muito variáveis. Os autores salientam que a remoção de estrógenos em estações de tratamento é complexa e pouco entendida. Os efluentes podem conter outros estrogênios como alquilfenol e bisfenol e todas essas misturas de substâncias podem interagir com o efluente e impactar o meio ambiente.

Alguns estudos em água superficial também foram realizados. Furuichi *et al.* (2004) verificaram a presença de alguns perturbadores (entre eles, 4-nonilfenol, 4-tert-octilfenol, bisfenol, etinilestradiol, estrona e  $17\beta$ -estradiol) em cinco pontos do rio Tama, no Japão. Apesar de algumas substâncias como o nonilfenol, octilfenol e bisfenol terem sido encontradas em concentrações superiores aos dos hormônios (51,6-147ng/L, 6,9-81,9 ng/L e 8,2-73,9 ng/L, respectivamente), a maior causa de atividade estrogênica no rio Tama foi atribuído à estrona e  $17\beta$ -estradiol que sugere o maior potencial de perturbador endócrino desta substância.

Na Áustria amostras de água foram coletadas em locais de rotina do controle de qualidade da água perfazendo um total de 27 pontos de medidas em águas superficiais e 59 em águas subterrâneas. Os perturbadores analisados foram:  $17\beta$ -estradiol, estriol, estrona,  $17\alpha$ -etinilestradiol, 4-nonilfenol, 4-nonilfenoletoxilato e produtos de suas degradações, octilfenol e octifenol-etoxilato, além, do bisfenol. Em mais da metade das amostras em águas superficiais o  $17\beta$ -estradiol e a estrona puderam ser detectados, porém, em baixas concentrações, em média, de 0,13 e 0,35ng/L, respectivamente. O bisfenol e o nonilfenol foram encontrados em concentrações médias de 11 ng/L em 25% das amostras. Nas amostras de água subterrânea, o  $17\beta$ -estradiol foi detectado em 50% das amostras com

valor máximo de 0,79ng/L. Nonilfenoletoxilato e carboxilato foram detectados em um terço das amostras em concentrações mais altas (média de 35ng/L para o nonilfenol) do que para os hormônios naturais (Bursch *et al.*, 2004).

No Brasil, no estado do Rio de Janeiro, Stumpf *et al.* (1999) detectaram diversos fármacos, usados como analgésicos e anti-inflamatórios, em amostras de afluentes e efluentes de 10 diferentes ETEs, dos 17 maiores rios (incluindo o rio Paraíba do Sul) e, ainda, da baía de Guanabara. A maioria das drogas investigadas nos efluentes de ETEs encontrou-se na faixa de concentração de 100 a 1000 ng/L e a taxa de remoção de fármacos durante a passagem pelas ETEs variou de 12 a 90%. Nas águas superficiais, as concentrações médias situaram-se entre 20 e 40 ng/L, como consequência da remoção incompleta dos fármacos durante o tratamento em ETE e pelo descarte de esgoto in natura.

Em outro estudo, também relacionado ao Brasil, discutido por Ternes *et al.* (1999) foram encontrados estrogênios naturais e contraceptivos sintéticos na ETE da Penha-Rio de Janeiro. No afluente, o  $17\beta$ -estradiol e o estrona foram detectados em concentrações significativas de 21 ng/L e 4 ng/L, respectivamente. A eficiência de remoção dos hormônios no tratamento por lodo ativado foi mais alta do que a remoção por filtros biológicos. As eficiências de remoção do contraceptivo  $17\alpha$ -etinilestradiol foram de 64% e 78%, respectivamente, no filtro biológico e no lodo ativado. A estrona foi removida com eficiência de 67% no filtro biológico e 83% no processo de lodo ativado e para o  $17\beta$ -estradiol eficiências foram de 92 e 99,9% no filtro biológico e no processo de lodo ativado, respectivamente.

Os estudos mostram que, em geral, dentre os perturbadores endócrinos, os hormônios naturais, apesar de apresentarem menores concentrações são encontrados com mais frequência na natureza, além de possuírem maior potencial estrogênico, o que sugere maior potencial de perturbação endócrina. Por esse motivo, o perturbador endócrino avaliado nesse trabalho será o hormônio  $\beta$ -estradiol. O estradiol tem tido eficiências de remoção variadas em ETEs, no entanto, as concentrações residuais, segundo a literatura, ainda podem ser suficientes para causarem efeitos adversos em organismos.

### 3.1.4 - Características do $\beta$ -estradiol

O  $\beta$ -estradiol é um hormônio da classe dos esteróides. Os esteróides são lipossolúveis (por esse motivo atravessam facilmente a membrana celular) e incluem os hormônios do córtex adrenal, andrógenos (hormônios sexuais masculinos) e estrógenos (hormônios femininos) (Lehninger, 1985).

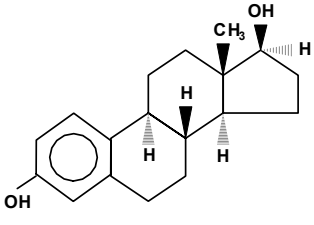
Dentro do sistema hormonal feminino existem dois tipos de hormônios ovarianos: os estrogênios e as progestinas. As progestinas estão relacionadas quase que totalmente com a preparação final do útero para a gravidez e das mamas para a lactação. A mais importante das progestinas é a progesterona. Os estrogênios favorecem, principalmente, a proliferação celular e o crescimento dos tecidos dos órgãos sexuais e de outros tecidos relacionados com a reprodução, sendo responsáveis pelo desenvolvimento da maioria dos caracteres sexuais secundários da mulher. Sem dúvida alguma, o estradiol é o estrogênio mais importante (Guyton, 1989).

Na mulher apenas três estrogênios ocorrem em quantidades significativas no plasma: o  $\beta$ -estradiol, a estrona e o estriol. A potência estrogênica do  $\beta$ -estradiol é 12 vezes maior que a da estrona e 80 vezes maior que a do estriol (Guyton, 1989).

Os estrogênios naturais, incluindo o  $\beta$ -estradiol, são usados na medicina humana, particularmente na terapia de reposição hormonal e para o tratamento de outras desordens ginecológicas. Eles também são usados no tratamento de câncer de próstata e de mama em mulheres na pós-menopausa (Johnson e Harvey, 2002).

As principais características físico-químicas do  $\beta$ -estradiol são apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Resumo das principais características do  $\beta$ -estradiol (Johnson e Harvey, 2002; Kimura *et al.*, 2004; McCallum, 2005 e Nghiem *et al.*, 2004a)

Nomes	17 $\beta$ -estradiol, estradiol, E2, oestradiol, $\beta$ -estradiol
Número do CAS <sup>(a)</sup>	50-28-2
Peso molecular	272,4 g/mol
Fórmula química	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
Solubilidade em água	13mg/L em 20°C
pKa (constante de dissociação ácida)	10,4
Comprimento da molécula (L)	1,285nm
Carga no pH 7	neutro
Coefficiente de partição octanol-água (log Kow)	4,01
Momento de dipolo	0,798 debye
Constante da lei de Henry	3,64.10 <sup>-11</sup> atm.m <sup>3</sup> /mol
Estrutura química	

(a) – O CAS (Serviço de Compêndio de Substâncias Químicas) é o órgão que faz o registro de todas as substâncias químicas desenvolvidas e utilizadas no mundo.

Segundo Jin *et al.* (2007) o coeficiente de partição octanol-água de 3,43 da estrona sugere que esta é prontamente adsorvida em materiais hidrofóbicos como macromoléculas em água e membranas poliméricas. Na Tabela 3.1 observa-se que o mesmo ocorre para o  $\beta$ -estradiol, já que um  $Kow > 2$  caracteriza uma substância como hidrofóbica (Kimura *et al.*, 2003a). O log D (fração ionizável+não-ionizável) para o  $\beta$ -estradiol é de 4,13 para uma faixa de pH de 1 a 9 e 3,94 no pH 10 (SciFinder, 2004).

A rota de entrada dos estrogênios naturais no meio aquático é principalmente por meio da excreção de animais e humana e subsequente transporte pelos efluentes de estações de tratamento de esgotos.



Geralmente a excreção de hormônios por mulheres saudáveis na pré-menopausa é reportada na faixa de 10 a 100 µg/dia. Depois da menopausa, a excreção fica entre 5 e 10 µg/dia. Mulheres grávidas podem excretar mais de 30 mg/dia, mas valores médios ficam em torno de 250 µg/dia (Johnson *et al.*, 1999 *apud* Danish EPA, 2003). Os valores para homens normais variam de 2 a 25 µg/dia (Williams *et al.*, 1996 *apud* Danish EPA, 2003). Mulheres em uso de pílulas anticoncepcionais usualmente excretam uma dose de 25 a 50µg/dia.

A bioacumulação de β-estradiol em organismos aquáticos é esperada que seja baixa por causa de seu baixo coeficiente de partição octanol-água (ver Tabela 3.1), mas poucos dados são relatados (Johnson e Harvey, 2002). No entanto, Johnson e Harvey (2002) relatam um estudo que foi conduzido por Larsson *et al.* (1999), no qual trutas dos dois sexos foram presas e colocadas a montante e jusante de uma estação de tratamento de esgotos domésticos sueca. Efluentes da ETE foram analisados em relação ao β-estradiol, estrona e etinilestradiol, e apresentaram concentrações da ordem de ng/L. Depois de 2 a 4 semanas de exposição, amostras da bile dos peixes foram coletadas. As biles dos peixes a jusante da estação de tratamento apresentaram os hormônios em concentrações  $10^4$ - $10^6$  vezes mais altas do que as concentrações na água.

## **3.2 - CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS**

### **3.2.1 - Cianobactérias**

Cianobactérias são microrganismos de origem extremamente remota, com registros fósseis que remontam há cerca de 3,5 bilhões de anos (Carmichael,1994). São geralmente aquáticas e realizam fotossíntese. Por esse motivo e por possuírem pigmento azulado (ficocianina), as cianobactérias eram conhecidas como algas azuis. No entanto, depois do advento da microscopia eletrônica verificou-se que esses organismos não eram algas, já que não eram eucariontes (membrana nuclear definida e presença de mitocôndrias e outras organelas), e sim, bactérias que são organismos mais simples do grupo procarionte, sem membrana envolvendo o material nuclear (Carmichael, 1994).

As cianobactérias constituem o grupo maior e mais diverso dos microrganismos procarióticos, incluindo cerca de 150 gêneros, com aproximadamente 2000 espécies

(Ceballos *et al.*, 2006). Apresentam formas variadas devido às adaptações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas adquiridas durante sua evolução, e diferentes níveis de organização (Bittencourt-Oliveira e Molica, 2003). São exemplos de gêneros unicelulares: *Synechococcus* e *Aphanothece*; formam estruturas coloniais (células individuais agregadas pela mucilagem de polissacarídeos) *Microcystis*, *Gomphospheria* e *Merismopedium*. Dentre as formas filamentosas destacam-se: *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Cylindrospermopsis* e *Nostoc*. Nas espécies filamentosas, a presença de heterocitos (células diferenciadas para fixação de nitrogênio) é um importante caráter taxonômico (Bittencourt-Oliveira e Molica, 2003).

Acredita-se que as cianobactérias foram as responsáveis pelo início da formação da atmosfera atual, rica em oxigênio, e pela evolução de todos os organismos fotossintetizantes (Bittencourt-Oliveira e Molica, 2003). Apesar da importância ambiental histórica, de existirem espécies benéficas, as quais produzem alguns metabólitos secundários com potencial de uso em fármacos, inclusive para cura de doenças como mal de Alzheimer (Carmichael, 1992 e 1994), e de sua aplicação biotecnológica (Falch *et al.*, 1992 *apud* Ceballos *et al.*, 2006), as cianobactérias têm sido mais conhecidas pelos desequilíbrios ecológicos que suas florações (decorrentes principalmente do aumento de cargas poluidoras nos ambientes aquáticos) causam e, principalmente, pela sua capacidade de sintetizar toxinas que podem prejudicar a saúde.

As cianobactérias se desenvolvem melhor e formam mais florações quando o ambiente aquático é rico em nutrientes (nitrogênio e fósforo), além de mais três condições: ventos fracos a moderados, temperatura da água de 15 a 30°C e pH alcalino (de 6 a 9) (Carmichael, 1994). Por essas características, a maioria dos reservatórios do Brasil é propícia ao desenvolvimento de cianobactérias durante o ano todo (Azevedo *et al.*, 1994).

As florações de cianobactérias podem causar gosto e odor desagradáveis na água, além de alterar o equilíbrio ecológico do ecossistema aquático. O maior problema, entretanto, está no fato de que as cianobactérias presentes podem produzir toxinas potentes (cianotoxinas) que causam intoxicações, com conseqüências nem sempre bem conhecidas (Azevedo e Brandão, 2003).

Diversas espécies potencialmente tóxicas já foram identificadas enquanto em outras, até hoje, não foram identificadas linhagens produtoras de toxinas. Linhagens (ou cepas) de uma mesma espécie podem ou não produzir cianotoxinas, em diferentes condições de pH, temperatura, etc (Ceballos *et al.*, 2006).

Sant'Anna e Azevedo (2000) realizaram uma compilação de dados de estudos sobre cianobactérias potencialmente tóxicas e sua distribuição geográfica no território brasileiro. De acordo com o estudo, todas as regiões da federação apresentam ocorrências de cianobactérias, entretanto esses valores representam somente os casos registrados na literatura específica. Certos estados como São Paulo e Rio Grande do Sul, apresentaram elevado índice de ocorrências dessas florações, entretanto muitos estados têm graves problemas de florações de cianobactérias não devidamente registrados. A espécie *Microcystis aeruginosa* apresentou o maior número de ocorrência no Brasil, além de possuir uma ampla distribuição nos estados brasileiros. Entretanto, identifica-se um aumento da presença de *Cylindrospermopsis raciborskii* em diferentes regiões brasileiras (Chellapa e Costa, 2003; Carvalho *et al.*, 1999; Silvestre *et al.*, 1999; Yunes *et al.*, 2003; Molica *et al.*, 2005).

Pelo menos um terço dos mais de 50 gêneros de cianobactérias encontradas em água doce apresentam produção de toxinas, chamadas cianotoxinas, mas não existe um método simples que distinga se um gênero, espécie ou cepa é tóxica ou não-tóxica. Pesquisadores geralmente concordam que 50 a 60% das florações de cianobactérias são tóxicas, por isso é preferível a prevenção de qualquer floração de cianobactérias para o controle da produção de cianotoxinas nas águas de abastecimento (Yoo *et al.*, 1995).

Para prevenir e minimizar esses efeitos, a Portaria nº 518 do Ministério da Saúde (Brasil, 2004) estabelece em seu Capítulo 5, Artigo 19, Inciso 1 que “o monitoramento de cianobactérias na água do manancial, no ponto de captação, deve obedecer frequência mensal, quando o número de cianobactérias não exceder 10.000 células/mL (ou 1 mm<sup>3</sup>/L de biovolume), e semanal, quando o número de cianobactérias exceder este valor.”

### 3.2.2 - Cianotoxinas

As cianotoxinas são compostos intracelulares ou particulados, ou seja, são produzidas e armazenadas no interior das células viáveis de cianobactérias. A liberação das cianotoxinas para o meio aquático, para formação da toxina dissolvida extracelular, ocorre principalmente durante o processo de senescência, morte e lise das células, ao invés de uma contínua excreção dos compostos (Sivonen e Jones, 1999).

Uma mesma cianobactéria pode produzir uma ou mais cianotoxinas. Entretanto, ainda não foram devidamente esclarecidas as causas de sua produção e sua função para célula produtora. Considera-se, como mais provável, que as cianotoxinas tenham função protetora contra a herbivoria, assim como muitos metabólitos secundários agem em plantas vasculares. (Carmichael, 1992).

Segundo sua estrutura química, as cianotoxinas se classificam em três grandes grupos: os peptídeos cíclicos, os alcalóides e os lipopolissacarídeos. As cianotoxinas também podem ser agrupadas de acordo com seu modo de toxicidade, as principais classes de cianotoxinas são: neurotoxinas, hepatoxinas e dermatoxinas.

As dermatotoxinas agem irritando a pele, os olhos e causando asma quando ocorre exposição por meio do contato com águas contaminadas por cianobactérias (Falconer, 1994). A cianobactéria marinha *Lyngbya majuscula*, por exemplo, libera cianotoxinas que causam irritações cutâneas agudas (eritema, bolhas e escamação) em períodos de mais de 12 horas de exposição a essa cianobactéria (Kuiper-Goodman *et al.*, 1999).

As hepatotoxinas são responsáveis pela maioria das intoxicações causadas por cianobactérias. Apresentam uma ação mais lenta que as neurotoxinas, mas podem causar a morte num intervalo de poucas horas a poucos dias, por choque circulatório ou pela interferência no funcionamento normal do fígado (Carmichael, 1994). As espécies já identificadas como produtoras dessas hepatotoxinas pertencem aos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Nostoc* e *Cylindrospermopsis* (Carmichael, 1992b).

No Brasil, a portaria nº 518/2004, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2004) estabelece o valor de 1µg/L como padrão de potabilidade para hepatotoxina do tipo microcistina nas

águas de abastecimento, sendo aceitável a concentração de até 10 µg/L de microcistinas em até 3 (três) amostras, consecutivas ou não, nas análises realizadas nos últimos 12 (doze) meses. Adicionalmente, recomenda-se que a concentração de cilindrospermopsina, também uma hepatotoxina, não exceda 15µg/L.

As neurotoxinas, grupo de alcalóides ou organofosforados, representam um grupo de cianotoxinas que agem sobre o sistema nervoso central e podem levar à parada respiratória, causando a morte em alguns minutos. Além de cianobactérias, os alcalóides neurotóxicos também podem ser produzidos por bactérias e plantas (Ceballos *et al.*, 2006).

As neurotoxinas produzidas por cianobactérias estão incluídas em um grande grupo de compostos nitrogenados heterocíclicos com peso molecular <1000 g/mol. Possuem estruturas químicas diversificadas e com diferentes efeitos tóxicos em mamíferos (Ceballos *et al.*, 2006).

Segundo vários autores (Carmichael, 1992a e 1992b; Sivonen e Jones, 1999; entre outros), as neurotoxinas já identificadas podem ser agrupadas em três famílias:

- Anatoxina-a (e homoanatoxina-a), que inibe o efeito da acetilcolina, são produzidas pelas espécies *Anabaena flos-aquae*, *Aphanizomenon flos-aquae* e *Oscillatoria sp.*;
- Anatoxina-a(s), um composto organofosforado com propriedades anticolinesterase, é produzida pela espécie *Anabaena flos-aquae*;
- Saxitoxinas, também conhecida como “veneno paralisante de moluscos” (PSPs), produzida pelos gêneros *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis*, e por certos microrganismos marinhos.

As saxitoxinas isoladas são oriundas de cianobactérias dos gêneros *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lyngbya*, *Cylindrospermopsis*, e, já confirmadas das espécies, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena circinalis*, *Lyngbya wollei* e *Cylindrospermopsis raciborskii*. Algumas dessas espécies podem produzir mais de um tipo de saxitoxinas (Ceballos *et al.*, 2006)

No Brasil, identifica-se um aumento da ocorrência de *Cylindrospermopsis*, produtora de saxitoxinas, desde a região nordeste até o sul, o que torna de extrema importância a análise

desse grupo de neurotoxinas em amostras de água para abastecimento público (Lagos *et al.*, 1999; Molica *et al.*, 2005).

Dentre os diversos tipos de cianotoxinas, são de interesse para este estudo as saxitoxinas, detalhadas a seguir.

### **3.2.3 - Características das Saxitoxinas**

Saxitoxinas, também conhecidas como “venenos paralisantes de moluscos” (toxinas do tipo PSP) é uma generalização para um grupo de neurotoxinas isoladas inicialmente de dinoflagelados marinhos que causam marés vermelhas, embora sejam encontradas em cepas de diversos gêneros de cianobactérias (Carmichael, 1994).

As saxitoxinas são grupos de alcalóides (contém em sua fórmula basicamente oxigênio, hidrogênio e carbono) carbamatos e decarbamoil que podem ser não sulfatados (saxitoxina), com um único grupamento sulfato (G-toxinas) ou dois grupamentos sulfatados (C-toxinas). O grupo decarbamoil está nas moléculas com denominação iniciada com as letras dc: dcSTX ou dcGTX. Novas toxinas (neotoxinas), de estrutura química relacionada com o tipo não sulfatado (saxitoxina) foram isoladas recentemente (Ceballos *et al.*, 2006).

A Figura 3.2 apresenta a estrutura geral das saxitoxinas. Nessa Figura as letras R1 a R5 correspondem a grupos químicos variáveis na molécula. A Tabela 3.2 relaciona as saxitoxinas.

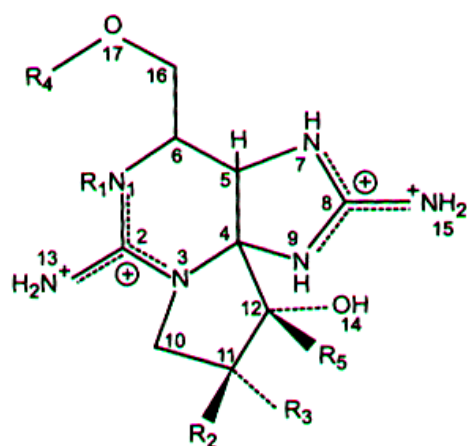


Figura 3.2 - Estrutura geral das saxitoxinas.

Tabela 3.2 - Tipos de saxitoxinas caracterizadas a partir de diferentes cepas de cianobactérias (baseado em Sivonen e Jones, 1999).

Nome da toxina	Grupos químicos variáveis nas toxinas				
	R1	R2	R3	R4	R5
STX	H	H	H	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX2	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX3	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX5	H	H	H	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH
C1	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH
C2	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH
neoSTX	OH	H	H	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX1	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX4	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX6	OH	H	H	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH
dcSTX	H	H	H	H	OH
dcGTX2	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	OH
dcGTX3	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	H	OH
LWTX1	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	COCH <sub>3</sub>	H
LWTX2	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	COCH <sub>3</sub>	OH
LWTX3	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	COCH <sub>3</sub>	OH
LWTX4	H	H	H	H	H
LWTX5	H	H	H	COCH <sub>3</sub>	OH
LWTX6	H	H	H	COCH <sub>3</sub>	H

Legenda: STX – saxitoxina  
GTX – goniautoxinas  
LWTX – toxinas de *Lyngbya wollei*  
dcSTX – decarbamoilsaxitoxinas  
C – C-toxinas  
neoSTX - neosaxitoxina

Llewellyn (2006) ainda cita mais seis tipos de saxitoxinas: dcneoSTX, GC1, GC2, GC3, dcGTX1, dcGTX4, C3, C4, e Zetekitoxina.

As saxitoxinas são moléculas tricíclicas e a sua estrutura base é uma tetrahidropurina com dois grupos guanidínicos (grupo funcional, geralmente de forte alcalinidade). O grupo 1,2,3-guanidino, a pH fisiológico (aproximadamente 7,4) possui carga positiva, enquanto o grupo 7,8,9 está parcialmente desprotonado a pH fisiológico.

Em soluções aquosas a STX possui dois pKa's de 8,22 e 11,28 os quais pertencem ao 7,8,9 e 1,2,3 grupo guanidino, respectivamente. Essa natureza polar explica a imediata solubilidade em água, menores solubilidades em álcoois e insolubilidade em solventes orgânicos (Llewellyn, 2006). A NeoSTX possui um adicional pKa (6,75) que pertence ao N-1 hidroxila e os pKas do 1,2,3 e 7,8,9 grupos guanidinos são alterados para 11,65 e 8,65, respectivamente. Para dcSTX os pKas são de 8,10 e 10,84 para os grupos 7,8,9 e 1,2,3 respectivamente (Llewellyn, 2006).

Os pesos moleculares das saxitoxinas são menores que 500g/mol, como apresentado na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Pesos moleculares de diferentes saxitoxinas (Llewellyn, 2006)

<b>Toxina</b>	<b>Peso molecular (g/mol)</b>
STX	299,134
dcSTX	256,128
neoSTX	315,286
GC1	471,093
GC3	376,150
GTX1	411,081
GTX2	395,086
dcGTX2	351,072
C1	473,027

O logaritmo do coeficiente de partição octanol-água (log P ou log Kow) da STX e da Neo-STX são respectivamente, -3,5 e -3,727 (Scifinder, 2007), indicando que essas variantes são hidrofílicas. O log D para a saxitoxina (STX) é sempre negativo numa faixa de pH de 1 a 10 (variando de -4,58 no pH 10 a -6,50 no pH1). Para Neo-STX esses coeficientes também são sempre negativos (SciFinder, 2004).



As saxitoxinas possuem toxicidades bastante variadas, sendo a saxitoxina (STX) a mais potente, seguidas da GTX-1, Neosaxitoxina (Neo-STX), dc-saxitoxina (dc-STX), outras variantes da G-toxinas e sendo as C-toxinas as menos tóxicas (Jones e Negri, 1997). A dose letal que causa morte a 50% da população de camundongos - DL50 (intraperitoneal) para a saxitoxina purificada é de 10µg/kg de peso corpóreo e, por consumo oral a DL50 é de aproximadamente de 263µg/kg de peso corpóreo (Chorus e Bartran, 1999).

Embora a Organização Mundial de Saúde (OMS) considere que ainda não há dados suficientes para o estabelecimento de um limite de concentração máximo aceitável para as saxitoxinas em água potável (Kuiper-Goodman, 1999), uma análise dos dados dos eventos de intoxicações humanas, demonstra que a maioria dos casos esteve associada ao consumo de aproximadamente 200µg de saxitoxinas por pessoa. Baseado nesses dados e considerando 60 Kg como peso corpóreo, 2L de água como consumo diário e fatores de incerteza para variações entre espécies distintas e entre organismos da mesma espécie, Fitzgerald *et al.* (1999) propuseram 3µg/L como o limite máximo aceitável de saxitoxinas em água para consumo humano. Esse valor foi incorporado à portaria nº 518/2004, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2004), onde recomenda-se que as análises para cianotoxinas incluam a determinação de saxitoxinas, observando, o valor limite de 3,0 µg/L expressos em equivalentes de STX.

As saxitoxinas agem nas membranas dos axônios nervosos inibindo a condução nervosa por bloqueamento dos canais de sódio, afetando a permeabilidade ao potássio ou a resistência das membranas, impedindo, assim, a comunicação entre o cérebro e as células musculares. Estudos de efeitos em gatos mostraram que a saxitoxina afeta o sistema nervoso central, produz aumentos da pressão arterial, falhas no funcionamento do coração e até paradas cardíacas (Andrinolo *et al.* 1999 *apud* Ceballos *et al.*, 2006).

Os sinais clínicos de intoxicação humana por saxitoxinas incluem: tontura, adormecimento da boca e extremidades, fraqueza muscular, náusea, vômito, sede e taquicardia (Carmichael, 1994; Kuiper-Goodman *et al.*, 1999). Os sintomas podem começar 5 minutos após a ingestão e a morte pode ocorrer entre 2 e 12 horas. Em caso de intoxicação com dose não letal, geralmente os sintomas desaparecem de 1 a 6 dias (Carmichael, 1994). Não existe conhecimento sobre os efeitos crônicos por falta de estudos de longa duração em animais (Ceballos *et al.*, 2006).

### 3.2.4 - Efeitos causados por cianotoxinas à saúde

A presença de cianotoxinas nos corpos d'água representa problema prioritariamente de saúde pública. A intoxicação por cianotoxinas ocorre principalmente por via oral e cutânea, através do consumo de água, ingestão de pescados contaminados e durante atividades recreacionais em corpos d'água. Entretanto, existem casos, ainda que raros, de exposição às cianotoxinas pela inalação (durante o banho e em certas atividades esportivas na água), por via intravenosa (hemodiálise) e pela alimentação direta de cianobactérias, pois em alguns países a dieta da população inclui algas e cianobactérias (Kuiper-Goodman *et al.*, 1994; Falconer *et al.*, 1999).

Além disso, existem diversos registros de amplificação biológica de cianotoxinas ao longo da cadeia alimentar de comunidades aquáticas, incluindo zooplâncton, mexilhões e peixes (Falconer *et al.*, 1994; Chorus e Bartram, 1999; Ceballos *et al.*, 2006). É difícil definir o nível-limite de toxinas bioacumuladas que pode afetar os seres humanos. Essa concentração dependerá da quantidade consumida no alimento contaminado, da severidade das florações tóxicas onde os peixes ou moluscos foram criados e da quantidade acumulada por estes. Recomendações preventivas e importantes a serem seguidas referem-se a não ingestão das vísceras e à preferência por peixes e mariscos de águas não eutrofizadas. (Ceballos *et al.*, 2006)

Com relação ao Brasil, o trabalho de Teixeira *et al.* (1993) descreve uma forte evidência de correlação entre a ocorrência de florações de cianobactérias, no reservatório de Itaparica (Bahia) e a morte de 88 pessoas, entre as mais de 2.000 intoxicadas, pelo consumo de água do reservatório, entre março e abril de 1988. A epidemia ocorreu logo após o alagamento do reservatório de Itaparica e durou, aproximadamente, dois meses. A análise da água revelou a presença de cianobactérias dos gêneros *Anabaena* e *Microcystis*, porém não foram realizadas análises nos órgãos das pessoas intoxicadas para confirmar a origem da epidemia.

Entretanto, o primeiro caso confirmado de mortes humanas causadas por intoxicação por cianotoxinas ocorreu no início de 1996, em Caruaru (PE), quando 130 pacientes renais crônicos, após terem sido submetidos a sessões de hemodiálise passaram a apresentar

sintomas de grave hepatotoxicose. Desses 130 pacientes, 60 vieram a falecer até 10 meses após o início dos sintomas. O episódio ocorreu, durante a época da estiagem, quando a clínica não recebeu água tratada. Cabe salientar que a hemodiálise representa um risco adicional neste caso, pois neste processo, as toxinas presentes na água entram diretamente na circulação, causando desde a falha do funcionamento do fígado até doenças neurotóxicas agudas, podendo levar o paciente à morte. Sendo assim, a hemodiálise foi provavelmente a via de contaminação, pois nenhum parente ou pessoas que entraram em contato com os pacientes foram afetados e ainda, as análises laboratoriais confirmaram a presença de microcistinas no carvão ativado utilizado no sistema de purificação de água da clínica, bem como em amostras de sangue e fígado dos pacientes intoxicados (Azevedo, 1996).

### **3.3 - PROCESSOS DE TRATAMENTO POR MEMBRANA – FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

#### **3.3.1 - Considerações iniciais**

A tecnologia de separação por membrana foi inicialmente comercializada para dessalinização de água do mar, no início da década de 60. Na década de 80, uma variante dessa tecnologia que opera a pressões menores (nanofiltração) começou a ser instalada em escala comercial para remoção de dureza de águas subterrâneas no estado da Flórida-EUA. No entanto, o grande avanço dessas variantes começou no início dos anos 90, quando foram lançadas no mercado de saneamento, membranas de separação de partículas (microfiltração e ultrafiltração) (Schneider e Tsutiya, 2001).

Hoje, em países desenvolvidos, sistemas de tratamento com membranas estão sendo projetados para substituir sistemas convencionais de tratamento de água em grandes escalas ( $7\text{m}^3/\text{s}$ ). Os principais fatores que impulsionam a adoção de tecnologias de membranas são (Schneider e Tsutiya, 2001, Nobrega *et al.*, 2005):

- Redução do custo de construção e operação. Apesar de ainda elevados, os custos vem diminuindo aproximadamente 20% nos últimos anos;
- Legislação mais restritiva. Os limites para patógenos e de contaminantes químicos em águas de consumo humano estão progressivamente sendo reduzidos. Em

países desenvolvidos a capacidade da tecnologia convencional para atender uma legislação mais restritiva está se esgotando;

- Simplicidade de operação e de ampliação de escala (os sistemas são modulares).

O uso dos processos de separação por membranas no campo do saneamento, entretanto, não se restringe ao tratamento de água de abastecimento. Uma grande demanda do setor de tratamento de efluentes vem crescendo. Reatores aeróbios e anaeróbios, utilizando membranas submersas acopladas vêm produzindo efluentes de alta qualidade. Utilizam-se membranas, também, no tratamento para reúso industrial, agrícola, recarga de aquíferos e outros usos caracterizados como não potáveis (Schneider e Tsutiya, 2001).

No Brasil, a tecnologia de membranas ainda não é utilizada em escala real para tratamento de água para abastecimento público. Entretanto, pesquisas voltadas para essa aplicação começam a surgir no país. São estudos em escala de bancada, por exemplo, o de Ribeiro (2002) que avalia a remoção de compostos orgânicos por ultrafiltração e nanofiltração do tipo fontral e em escala piloto (Mierzwa, 2006), utilizando ultrafiltração com módulo em espiral, como tratamento direto da água do reservatório Guarapiranga, em São Paulo.

Com relação à produção de membranas em escala comercial, ocorrem algumas iniciativas de grupos de pesquisa como, por exemplo, o grupo do Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ dentro de seu programa de incubadoras de empresas (Pan membranas seletivas) e o grupo do Laboratório de Membranas do Instituto Nacional de Energia Nuclear, ligado ao Ministério da Ciência e Tecnologia – MCT.

### **3.3.2 - Características físicas e químicas das membranas**

Membrana é um filme fino sólido que é capaz de separar materiais em função de suas características físicas e químicas quando uma força externa é aplicada a ela (Aptel e Buckley, 1996). Ela funciona como uma barreira seletiva, ou seja, não ocorre transformação química ou biológica de componentes durante a separação. O esquema básico de funcionamento é apresentado na Figura 3.3.

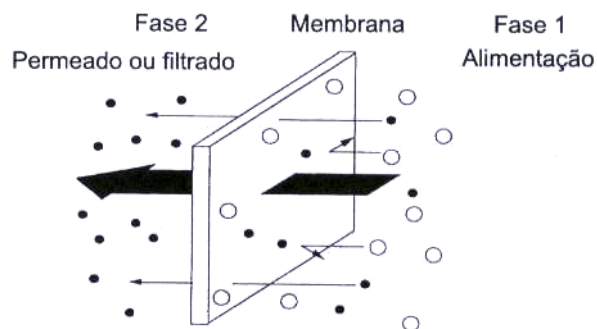


Figura 3.3 - Esquema básico de funcionamento de uma membrana (Aptel e Buckley, 1996)

A produção de membranas pode ser feita a partir de materiais orgânicos (polímeros) e inorgânicos (metais, cerâmicas, etc). O mercado de saneamento é dominado por membranas fabricadas com polímeros orgânicos, em função dos menores custos envolvidos (Schneider e Tsutiya, 2001).

O acetato de celulose foi o primeiro material de alto desempenho descoberto para uso na osmose reversa (Baker, 2004). O fluxo e a capacidade de rejeição desses polímeros têm sido ultrapassados pelas modernas membranas compostas. No entanto, segundo Baker (2004), as membranas de acetato de celulose ainda mantêm uma fração do mercado, pois são fáceis de ser confeccionadas e de baixo custo, mecanicamente fortes e resistentes à degradação por cloro e outros oxidantes, um dos problemas das membranas compostas. Apesar de sua sensibilidade à temperatura, pHs alcalinos e à degradação biológica, são amplamente usadas para dessalinização, desinfecção, clarificação (Aptel e Buckley, 1996).

Outra importante classe de polímeros são as poliamidas que também são usadas na dessalinização por causa de suas propriedades permosseletivas e melhores estabilidades térmicas, químicas e hidrolíticas que os acetatos. O grupo das amidas, no entanto, tem sensibilidade a degradação oxidativa e possuem menores tolerâncias a exposições ao cloro.

Outros polímeros orgânicos, também bastante utilizados, são: poliacrilonitrila, polissulfona (grande tendência à adsorção, mas boa estabilidade química, mecânica e térmica), polipropileno, etc.

Inicialmente as membranas orgânicas eram simétricas, com poros regulares, quase cilíndricos que atravessavam toda a estrutura das membranas. A produtividade e

porosidade dessas membranas eram muito pequenas pela necessidade de limitar o volume ocupado pelos poros, para evitar colapso das membranas quando pressurizadas.

Atualmente, são utilizadas membranas anisotrópicas caracterizadas por um gradiente de porosidade interno gerado pelo controle das condições de polimerização da membrana. A membrana, na forma de uma fina película filtrante, fica situada sobre uma estrutura mais grossa e bem mais porosa e resistente responsável pela estabilidade mecânica do conjunto. A resistência à separação e a seletividade são determinadas inteiramente pela fina película do topo, cuja espessura varia entre 0,1  $\mu\text{m}$  e 0,5  $\mu\text{m}$  e corresponde a cerca de 1 % da espessura do suporte poroso. Segundo Aptel e Buckley (1996), é comum a distinção entre dois tipos de membranas anisotrópicas: membranas assimétricas e compostas. As membranas assimétricas são membranas anisotrópicas preparadas com um único tipo de material. Nas membranas compostas o material utilizado na confecção do filme fino difere do polímero utilizado na camada suporte e geralmente esta camada porosa de suporte também é uma membrana assimétrica.

Fabricantes de membranas compostas, denominadas de “thin film composite” (TFC) adicionam grupos químicos funcionais como os sulfônicos e carboxílicos para melhorar a rejeição de solutos e ao mesmo tempo obter membranas mais finas e que exigem menores pressões (Bellona *et al.*, 2004).

### **3.3.3 - Tipos de processos de tratamento com membranas**

Existem diversos tipos de processos de separação por membranas que são classificados, principalmente, a partir dos seguintes parâmetros: força-motriz aplicada e mecanismos de separação.

Segundo AWWA (1998), as forças que geralmente são aplicadas à membrana para impulsionar a separação de materiais são: pressão, potencial elétrico, temperatura, gradiente de concentração. Dentre elas, a pressão e o potencial elétrico são as comumente usadas para o tratamento na área de saneamento e, portanto, de interesse para este trabalho. Os outros processos podem ser aplicados para separação de gases, líquido/ vapor, entre outros, e destacam-se em outros campos de atuação (por exemplo, medicina).

As operações que utilizam a diferença de pressão como força-motriz são: osmose reversa (OR), nanofiltração (NF), ultrafiltração (UF) e microfiltração (MF). A Figura 3.4 apresenta um esquema do funcionamento desses processos de separação por membrana. Nesses processos as membranas são permeáveis ao solvente (água), mas não às substâncias a serem removidas, separando, assim, a água de alimentação (água a ser tratada) em dois fluxos. O fluxo do permeado (OR, NF, UF) ou filtrado (MF) passa através da membrana e a corrente do concentrado (ou retido) contém as substâncias removidas da água de alimentação depois de serem rejeitadas pela membrana. Dentre os processos que utilizam o potencial elétrico como força-motriz, destaca-se, no saneamento, a eletrodialise. Nesse processo o soluto é que atravessa a membrana.

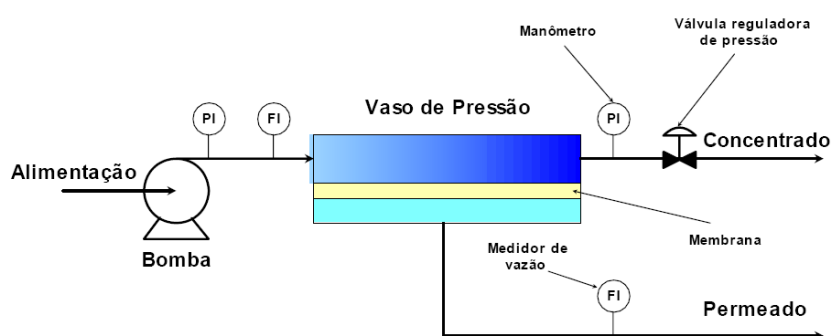


Figura 3.4 - Esquema do funcionamento dos processos de separação por membrana (Mierzwa, 2006)

Segundo Aptel e Buckley (1996), as diversas membranas funcionam por, basicamente, três tipos de mecanismos: separação baseada nas diferenças de tamanho das partículas, no qual a membrana exerce um efeito de peneira, separação baseada nas diferenças de solubilidade, difusão e adsorção dos materiais pela membrana (mecanismo de difusão), separação baseada nas diferenças de cargas elétricas (efeito eletroquímico), como ocorre na eletrodialise. No entanto, esses mecanismos ainda não são completamente entendidos.

Ainda segundo Aptel e Buckley (1996), a classificação pelos mecanismos de separação induz as três principais classes de estruturas de membranas: porosas (efeito de peneira), não-porosas ou densas (mecanismo de difusão, principalmente), que é o caso da osmose reversa e nanofiltração, e membranas eletricamente carregadas, também chamadas de membranas de troca iônica. As membranas de troca iônica são tipos especiais de membranas não porosas.

### 3.3.4 - Utilização dos processos de membrana no saneamento.

A escala geométrica dos contaminantes removidos nos processos de tratamento de água, e esgoto, segundo Schneider e Tsutiya (2001), varia de material macroscópico, material particulado microscópico (bactérias, algas, vírus, material coloidal), moléculas orgânicas (pesticidas, componentes de combustíveis, solventes, etc) e íons (metais pesados, dureza, salinidade excessiva). A Figura 3.5 apresenta os tipos de membranas utilizáveis no saneamento em termos do tamanho do contaminante considerado.

	Microscopia de Força Atômica		Microscópio Eletrônico		Microscópio Ótico		Visível a Olho Nu	
	Matéria Dissolvida		Colóides				Matéria Suspensa	
	Íons	Moléculas	Macromoléculas		Micropartículas		Macropartículas	
Peso Molecular [D] <sup>a</sup>	100	1000	10000	100000				
Tamanho [µm]	0,001	0,01	0,1	1	10	100	1000	
<b>Dimensão do Soluto ou da Partícula</b>	Saís Minerais		Proteínas		Algas e Protozoários			
	Ácidos Fúlvicos		Eritrócitos					
	Ácidos Orgânicos		Flocos de FeCl <sub>3</sub>		Macrófitas e Zooplânctons			
	Íons de Metais		Pirógenos		Areia			
	Pesticidas		Vírus		Bactérias e Microalgas			
	Aminoácidos		Colóide		Pólen			
	Polissacarídeos							
<b>Processo de Separação de Membranas</b>	Osmose Reversa		Nanofiltração		Microfiltração			
			Ultrafiltração					
	Diálise							
	Eletrodialise							
<b>Processo de Separação Físico-Químico</b>			Ultracentrifugação		Centrifugação			
			Coagulação/Floculação/Decantação/Sedimentação		Filtração Convencional			
<b>Processo de Separação com Troca de Fase</b>			Destilação/Concentração com géis					
<b>Processo de Separação Química</b>	Troca de Íons		Extração com Solventes		Resinas Macroporosas			
	Carvão Ativado							

(a) D= Dalton, medida de peso molecular e um D é aproximadamente 1 g/mol.

Figura 3.5 - Dimensões dos principais componentes microscópicos e moleculares presentes em águas naturais e tipos de membranas utilizáveis para a sua separação. (Schneider e Tsutiya, 2001 modificado).

Da Figura 3.5, observa-se que a grande vantagem de processos de membranas sobre sistemas convencionais de tratamento é a característica de barreira absoluta, sendo eficientes na separação de partículas sólidas de pequenas dimensões e compostos orgânicos



e inorgânicos dissolvidos, os quais são removidos de forma limitada pelo tratamento convencional. Além disso, possuem as seguintes vantagens com relação ao tratamento convencional: unidades mais compactas e mais fáceis de automatizar, produção de água tratada de alta qualidade capaz de atender aos parâmetros mais restritivos de legislação de água para abastecimento e, em geral, não é necessária a utilização de produtos químicos para o tratamento (Kawamura, 2000).

Uma outra vantagem é a simplicidade de operação e ampliação de escala. Os sistemas são modulares e os dados para o dimensionamento de uma planta podem ser obtidos a partir de escala piloto que operam com módulos de membranas com as mesmas características dos módulos industriais (Nóbrega *et al.*, 2005).

No entanto, algumas limitações devem ser salientadas. Dependendo das características da água bruta, algumas membranas necessitam de pré-tratamento, sofrem problemas de depósitos de solutos na membrana, entupimento de poros e de compactação, que diminuem a eficiência da membrana e podem inutilizá-las. Além disso, possuem custos elevados (principalmente no Brasil, que não produz membranas em escala comercial) e altos consumos de energia.

Sistemas de pré-tratamento podem melhorar o desempenho das membranas e protegê-las, principalmente nos processos de nanofiltração, osmose reversa e eletrodialise, visto que estes são utilizados para a separação de contaminantes solúveis (Mierzwa, 2006).

A seleção da membrana a ser utilizada depende, principalmente, do grau de purificação que se deseja alcançar e da qualidade da água bruta. Na Tabela 3.4 estão resumidas as principais características dos processos mais comuns de tratamento com membranas, utilizados no saneamento.

Tabela 3.4 - Características dos principais processos de membranas utilizados no tratamento de água e esgoto (Nóbrega *et al.*, 2005, Kawamura, 2000, Schneider e Tsutiya, 2001 e AWWA, 1998, Weber, 1972).

Processo	Pressão (kPa)	Poros ( $\mu\text{m}$ )	Materiais retidos
Osmose Reversa	1500 — 8000	< 0,001	Íons, praticamente toda a matéria orgânica, compostos inorgânicos (nitrato, nitrito, fosfato, fluoridos, etc), produtos químicos sintéticos.
Nanofiltração	500 — 2500	0,001 — 0,002	Dureza, compostos orgânicos (trialometanos e outros subprodutos da desinfecção; pesticidas, cor, etc), íons divalentes e trivalentes.
Ultrafiltração	100 — 700	0,001 — 0,1	Material removido na MF, colóides, totalidade de vírus, compostos orgânicos de alto peso molecular (em geral, acima de 500g/mol)
Microfiltração	50 — 200	0,1 — 5	Protozoários, bactérias, alguns vírus, turbidez, sólidos suspensos.

### 3.3.5 - Operação de sistemas de membranas

O módulo é o elemento básico de um sistema de membrana e congrega todas as estruturas necessárias para viabilizar a operação com membranas (membranas, estruturas de suporte da pressão ou corrente elétrica, canais de alimentação e remoção do permeado e do concentrado). Os módulos devem ser projetados de forma a maximizar a superfície da membrana por volume de módulo, limitar o acúmulo de material retido pela membrana e evitar a contaminação do permeado com material do concentrado. Além disso, os módulos devem ser de simples manuseio, permitir limpeza eficiente da membrana e de baixo volume morto.

O líquido pode ser bombeado através do módulo em direção paralela à membrana, operação em fluxo tangencial (*cross-flow*), ou perpendicular, operação em fluxo frontal ou convencional (*dead-end*), conforme representado na Figura 3.6.

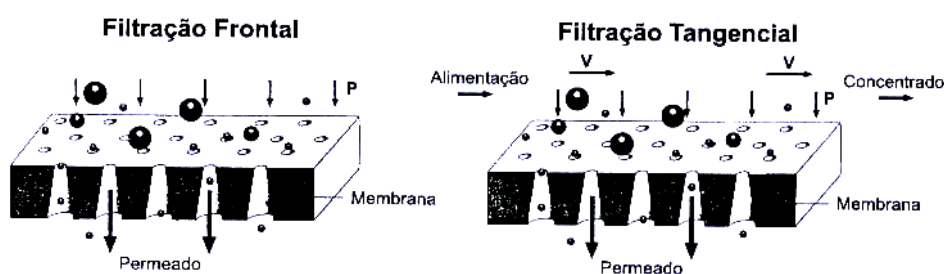


Figura 3.6 – Operação em fluxos frontal e tangencial (Schneider e Tsutiya, 2001)

Na operação convencional uma solução é pressionada contra a membrana. O solvente passa através da membrana e os solutos ficam retidos, acumulando-se próximo a superfície da membrana, no fenômeno chamado polarização da concentração. Trata-se de um modo de operação fundamentalmente transiente, uma vez que a polarização aumenta sempre e o fluxo de permeado decresce de modo contínuo com o tempo. Na operação tangencial, é possível minimizar esse efeito da polarização da concentração, em particular alterando a velocidade de escoamento da corrente de alimentação. Nesse caso, o que se observa é uma queda rápida e inicial no fluxo de permeado, devido à polarização da concentração, e uma vez mantida a velocidade de escoamento, o fluxo tende a não se alterar mais com o tempo. (Nobrega. *et al.*, 2005).

Os principais tipos de módulos são: tubulares, espirais, com fibras ocas, com placas e com discos rotatórios. Dentre eles, os comumente utilizados para o tratamento de água são os três primeiros (Aptel & Buckley, 1996). Diversos autores discutem características específicas de cada módulo (Aptel & Buckley, 1996; Baker, 2004; Schneider e Tsutiya, 2001; Wagner, 2001).

As principais características a serem consideradas no projeto do módulo da membrana são: controle das condições de escoamento para minimizar efeitos da polarização da concentração, facilidade de limpeza do módulo, uso de materiais de baixo custo quando possível, maior relação entre a área de membrana e volume do módulo.

Segundo Nobrega *et al.* (2005), os sistemas com membranas podem ser operados de modo contínuo, semicontínuo e descontínuo. As operações em modo descontínuo fornecem informações rápidas, mas o regime de transferência de massa é transiente. A célula de permeação, contendo a membrana, é alimentada com um volume definido, como ocorre na operação com fluxo frontal. Na operação em modo semicontínuo, utilizada neste trabalho de mestrado, um determinado volume de solução a ser processado escoar no interior de um módulo de membrana dando origem ao concentrado, que retorna ao tanque de alimentação e ao permeado, que é recolhido. Com o passar do tempo, a solução de alimentação vai se concentrando. Assim, podem ser obtidas curvas de fluxos de permeado e de rejeição segundo a concentração da espécie retida na membrana. Essas informações são fundamentais para o dimensionamento de uma unidade industrial. Industrialmente, os sistemas são modulares e operados de maneira contínua. O número de módulos e seus arranjos podem variar.

O rendimento (recuperação do sistema) dos módulos durante a operação do sistema, dado em porcentagem, é o quociente entre a vazão do permeado e a vazão de alimentação (AWWA, 1998). Segundo Mierzwa (2006), a taxa de recuperação de água é da ordem de 10%, ou seja, apenas um décimo da vazão alimentada é convertida em permeado, por isso é necessário estudar arranjos que permitam uma maior recuperação, o que é feito colocando-se membranas em série ou trabalhando-se com recirculação do concentrado. Mierzwa exemplifica, na Figura 3.7, alguns arranjos de membranas enroladas em espiral.

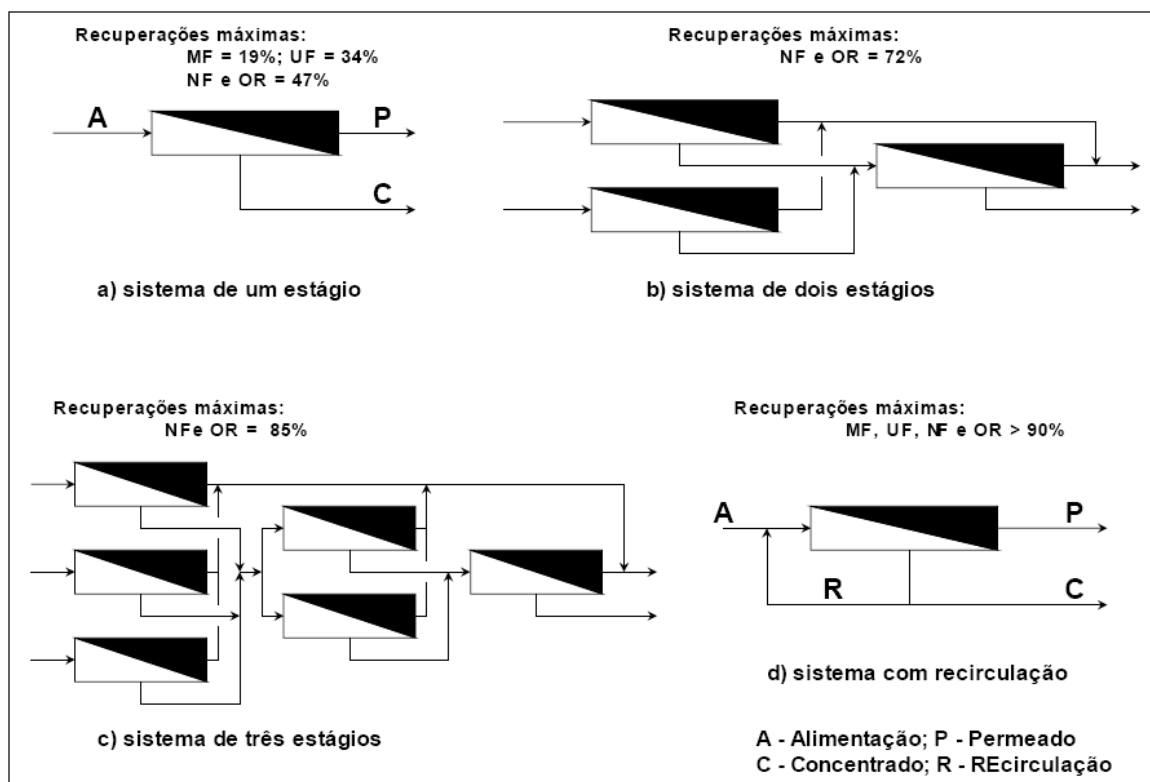


Figura 3.7 - Arranjos para os vasos de pressão e taxas de recuperação de água (Mierzwa, 2006).

A capacidade de produção das membranas varia com o tipo de processo adotado, osmose reversa, nanofiltração, ultrafiltração ou microfiltração. Na Tabela 3.5 são apresentados valores para as taxas de fluxos dos diferentes processos.

Tabela 3.5 - Valores típicos para taxa de fluxo em membranas (Wagner, 2001; Mierzwa, 2006)

Processo	Taxa de fluxo (L/m <sup>2</sup> /h)
Osmose reversa	15 a 25
Nanofiltração	20 a 30
Ultrafiltração	25 a 50
Microfiltração	Não há uma regra geral, podem ser considerados valores entre 50 e 70 <sup>a</sup>

(a) - Mierzwa (2006).

Segundo AWWA (1998), as taxas de fluxos para osmose reversa e nanofiltração especificados pelos fabricantes, a partir de ensaios padrões em laboratório, variam de 34 a 51 L/m<sup>2</sup>/h. No entanto, segundo esse autor raramente se atinge essas taxas durante a operação do sistema por causa dos fenômenos de polarização da concentração e problemas

como depósitos de solutos nas membranas e obstrução de poros. Taxas de fluxos tipicamente utilizadas para o tratamento de águas superficiais estão entre 14 a 20 L/m<sup>2</sup>/h.

Alguns fatores são determinantes no fluxo de água que passa através das membranas e, portanto, no seu rendimento. Quanto maior o volume de água que passa através da membrana por unidade de tempo, menor área de membrana será necessária para atender à vazão de projeto e mais econômico será o sistema. O fluxo, como pode ser visto na Equação 3.1, é condicionado, de forma geral, pela pressão e pela resistência da membrana à separação, que por sua vez é influenciada por características estruturais da membrana (porosidade, espessura da membrana, etc) e ao longo do tempo por fenômenos operacionais.

$$J = \frac{\Delta p}{\mu \cdot R_m} \quad \text{Equação (3.1)}$$

Onde: o fluxo (J) é diretamente proporcional à pressão através da membrana ( $\Delta p$ ), e inversamente proporcional à viscosidade dinâmica da água ( $\mu$ ) e à resistência da membrana à separação ( $R_m$ , em m<sup>-1</sup>).

De uma forma geral, principalmente para as membranas porosas de MF e UF, o fluxo de água é inversamente proporcional à espessura da membrana e tortuosidade de seus poros e diretamente proporcional à sua porosidade. Essa descoberta foi um dos fatores que impulsionaram o desenvolvimento da tecnologia de membranas compostas, onde a membrana filtrante, que determina o fluxo de água, é reduzida a um filme fino sobre estrutura mais porosa e com boa resistência. Os maiores fluxos são obtidos em membranas com grande quantidade de poros por unidade de área (porosidade alta).

O fluxo de água é, também, proporcional ao diâmetro médio dos poros. Cabe salientar que o diâmetro efetivo do poro de uma membrana não é igual ao diâmetro geométrico. Fatores eletrostáticos e as interações entre as moléculas de água com a superfície da membrana podem reduzir significativamente o diâmetro de poros.

A Equação 3.1 descreve o fluxo para uma membrana limpa. Nos processos reais existem equações que incluem fatores de resistência associados aos mecanismos de redução de

eficiência da membrana. Cabe salientar, que o fator temporal também deve ser considerado já que a compactação da membrana ao longo do tempo afeta sua resistência. Para cada tipo de membrana é utilizada uma formulação específica devido a maior ou menor influência desses fatores.

Existem diversos fatores que influenciam quantitativamente no fluxo de permeado e diminuem a eficiência da membrana, os principais são: temperatura, polarização da concentração, características da água bruta e biofilme.

O fluxo de permeado tende a aumentar com o decréscimo de viscosidade da água permeada que é afeta pela temperatura. Assim, de forma geral, taxas de fluxos maiores podem ser atingidas a temperaturas mais elevadas. Como referencial usualmente adota-se a temperatura de 20°C (Wiesner e Aptel, 1996). A temperatura também pode influenciar nas características do material formador da membrana e, conseqüentemente, na sua vida útil.

O fenômeno da polarização da concentração é um dos principais fatores de redução de fluxo através da membrana. Esse fenômeno refere-se ao aumento da concentração de solutos rejeitados pela membrana na camada-limite para valores acima dos que ocorrem na zona de mistura total do canal de alimentação, estabelecendo, assim, um gradiente de concentração da superfície da membrana em direção ao canal do concentrado. Esse efeito pode contribuir para formação de tortas de filtro, camadas de gel, sais precipitados ou de biofilmes microbianos.

A qualidade da água bruta também pode afetar o desempenho do tratamento com membranas. Dependendo da característica da água pode haver problemas de “fouling”, incrustações, etc. Segundo Nóbrega *et al.* (2005), alguns dos fenômenos que constituem o “fouling” são: entupimento de poros por moléculas e partículas em suspensão, adsorção na membrana de espécies presentes e depósitos de solutos na superfície da membrana. Esses fenômenos podem ser avaliados em testes específicos de determinação de índices de “fouling”. O índice mais utilizado, segundo AWWA (1998), é o SDI (“silt density index”). O índice é determinado pela avaliação da variação do fluxo de permeado por meio de um sistema com filtros de 0,45µm sob uma pressão de 207kPa, conforme descrito na norma ASTM D4189. A determinação dos índices de “fouling” é essencial em todos os projetos

de membrana. Águas com índices excessivos de “fouling” podem causar bloqueio irreversível de módulos e devem ser submetidas a algum tipo de pré-tratamento.

Em processos de osmose reversa e nanofiltração, por exemplo, deve-se evitar que a água de alimentação possua altas concentrações de matéria em suspensão, para prevenir problemas de depósito na superfície da membrana e bloqueio de poros. A precipitação de sais na superfície dessas membranas, principalmente, carbonatos de cálcio e sulfatos também deve ser considerada para se evitar problemas de incrustações.

O acúmulo de material oriundo da água de alimentação que fica retido na superfície da membrana gera as chamadas tortas de filtro. Sua formação é iniciada com partículas de diâmetros maiores que os dos poros da membrana. Essa primeira camada passa a atuar como uma membrana adicional. No entanto, a torta cresce também pela incorporação de colóides, partículas e moléculas de tamanho menor do que os poros que são retidos por uma variedade de processos (adsorção, retenção física em canais tortuosos, etc). A resistência causada por esse mecanismo pode agravar problemas de obstrução de membranas.

O termo biofilme refere-se a todas as situações onde a formação de um filme microbiano interfere com processos tecnológicos. Esse problema é um dos principais fatores de encarecimento do processo devido à redução do fluxo de operação, necessidade de implementação de pré-tratamento em nanofiltração e osmose reversa, custo de limpeza química, redução da vida útil das membranas, etc.

O biofilme difere do acúmulo passivo de outros materiais na superfície da membrana pela natureza dinâmica do biofilme microbiano. Os biofilmes além de poderem entupir os canais de alimentação podem degradar alguns materiais da membrana e contaminar o permeado.

A formação de biofilmes pode ser detectada de forma direta por microscopia ou indireta pela análise de material removido da superfície da membrana. Essas técnicas ficam restritas às situações de comprometimento irreversível da membrana. Durante a operação, a avaliação de biofilmes pode ser detectada indiretamente por contagem de microrganismos na entrada e saída dos módulos.



O controle do biofilme pode ser por meio de adoção de pré-tratamentos, seleção de membranas apropriadas, otimização da limpeza química, etc.

### **3.3.6 - Fatores que afetam a rejeição de solutos orgânicos no processo de nanofiltração**

A eficácia dos processos de separação é geralmente medida pelo parâmetro taxa de rejeição (R), também chamado de remoção ou retenção, que relaciona a concentração do material no permeado ( $C_p$ ) e sua concentração na alimentação ( $C_a$ ), conforme demonstrado na Equação 3.2,

$$R\% = 100 \cdot \left( 1 - \left( \frac{C_p}{C_a} \right) \right) \quad \text{Equação (3.2)}$$

Conforme apresentado no item, 3.3.3, a rejeição pelas membranas engloba mecanismos de exclusão física de partículas, difusão e adsorção nas membranas. Além disso, no caso do composto ser carregado, as interações eletrostáticas, também influenciam na remoção.

A forma com que os parâmetros e características da membrana e soluto influenciam nos mecanismos de remoção ainda é controversa e pouco entendida. No entanto, a compreensão dessas influências é fundamental para garantir o desempenho nos tratamentos por membrana, dando subsídios para a escolha da membrana mais apropriada para a qualidade da água que se quer tratar. A Tabela 3.6 apresenta algumas características da membrana e do contaminante que são importantes para avaliar o processo de remoção e em seguida, são discutidos alguns estudos que avaliaram a influência dessas características.

Cabe salientar que, além das características intrínsecas às membranas e solutos, fatores externos como as características da água de alimentação (pH, temperatura, dureza, presença de matéria orgânica e outros interferentes, etc) e fatores operacionais, como a pressão, velocidade tangencial e concentração do contaminante na alimentação, também influenciam o processo de remoção.

Tabela 3.6 - Parâmetros mais comumente utilizados para auxiliar no entendimento da remoção de contaminantes orgânicos por nanofiltração.

MEMBRANA		CONTAMINANTE ORGÂNICO	
parâmetro	importância	parâmetro	importância
Ângulo de contato	Usado para representar hidrofobicidade <sup>(a)</sup> da membrana. Ângulo igual a zero a membrana é totalmente hidrofílica. Em geral membranas com ângulos de contato entre 10° e 30° são consideradas hidrofílicas e entre 70° e 90°, hidrofóbicas.	log Kow - Coeficiente de partição octanol-água (razão da concentração de um composto nas duas fases imiscíveis: octanol e água)	É usado para representar a hidrofobicidade <sup>(a)</sup> . Kow>2 são considerados hidrofóbicos (Kimura et al. (2003a). No cálculo do log kow (ou log P) é considerado apenas a fração não ionizável do composto. Para medidas de log kow de solutos ionizáveis, o pH da fase aquosa é ajustado para que a fração não ionizável seja predominante. O cálculo do coeficiente de distribuição (log D) inclui a somatória de todas as formas do composto (ionizável + não-ionizável) e, portanto é específico para cada pH. As interações hidrofóbicas entre soluto e membrana podem interferir na adsorção e na difusão do soluto através da membrana.
Peso molecular de corte (MWCO) - peso molecular de um soluto que foi rejeitado em 90%	Usada pelos fabricantes para quantificar a rejeição da membrana. Não deve ser considerada como determinante na remoção e deve ser analisada em conjunto com outras características, já que alguns estudos mostram que moléculas com peso molecular maior que o MWCO podem ser fracamente removidas.	Peso molecular e geometria da molécula	Importantes, principalmente, quando o processo de remoção é dominado pelo peneiramento. Alguns estudos encontram melhores relações entre a membrana e o peso molecular e outros com outras características da membrana, como comprimento e largura da molécula.
Tamanho do poro e morfologia da membrana	Alguns estudos obtêm melhores correlações de remoção pela relação entre o tamanho do soluto e tamanho do poro da membrana ao invés de peso molecular de corte. O tamanho efetivo do poro pode ser alterado por possíveis obstruções do mesmo de acordo com as características da água de alimentação. Algumas vezes a alteração de pH da solução também influencia no tamanho efetivo do poro da membrana.	pKa – logaritmo da constante de dissociação ácida	A habilidade da molécula em perder prótons pode ser medida pelo pKa. Quanto menor o pKa, mais forte é o ácido (entende-se como ácido uma espécie que doa próton) e maior sua tendência em liberar próton (Bruice, 2006). Quando o pH da solução for igual ao pKa da substância que passa por dissociação, a concentração da substância na forma ácida e na básica serão iguais. A ionização de um composto altera seu comportamento físico e propriedades como a solubilidade. Filtrações em pHs maiores que o pKa da substância podem causar sua dissociação e aumento de carga, influenciando nas interações eletrostáticas entre membrana e soluto e, conseqüentemente, na remoção.
Rejeição ao sal - porcentagem de rejeição de um sal específico	Juntamente com o WMCO, é indicado pelo fabricante para quantificar a remoção. Da mesma forma que para o MWCO muitos estudos não confirmam a relação entre alta rejeição a sal com alta remoção dos contaminates.		
Potencial zeta	Reflete a carga da superfície da membrana que pode influenciar na remoção, por causa das interações eletrostáticas desta com o contaminante. Geralmente é influenciado pelo pH (Al-Amoudi <i>et al.</i> , 2007)		

(a) hidrofobia é uma propriedade da molécula em repelir a água. Geralmente hidrófobos não são eletricamente carregados (apolares) e não tem habilidade para formar pontes de hidrogênio. Assim, a água repele os hidrófobos para fazer pontes de hidrogênio com ela mesma. De uma forma geral, compostos hidrofóbicos tendem a ser apolares e hidrofílicos polares. (Wikipedia.org).

Segundo Schafer *et al.* (2003) o mecanismo de adsorção não está muito claro, mas pode refletir uma interação hidrofóbica com a superfície orgânica da membrana ou mais especificamente por interações como a ponte de hidrogênio. Angeson e Urase (2007) também acreditam que as interações hidrofóbicas entre o soluto e a membrana e as pontes de hidrogênio do soluto com os grupos funcionais da membrana podem influenciar no processo de remoção de contaminantes.

Segundo Nghiem *et al.* (2001) não existe uma clara correlação entre adsorção e remoção. O aumento da adsorção não necessariamente significa um aumento da rejeição. A influência da adsorção na rejeição é dependente da membrana e deve ser investigado para cada tipo de membrana. No entanto, Kiso *et al.* (2001 *apud* Bellona *et al.*, 2004) reportaram que a rejeição da maioria das moléculas hidrofóbicas por membranas de acetato de celulose aumenta com o aumento da afinidade do soluto pela membrana (expressado pelo Kow).

Segundo Nghiem e Schafer (2006) os compostos que possuem grupos hidroxila ou carbonila são capazes de realizar pontes de hidrogênio com membranas, e um Kow alto significa que são favoráveis a adsorverem em materiais hidrofóbicos. No entanto, os autores observaram que para uma das membranas avaliadas em seu estudo houve uma relação fraca entre a massa de perturbadores endócrinos adsorvidos e o Log Kow. Isso pode indicar que a adsorção é conduzida por interações hidrofóbicas somente até certo ponto. Outros parâmetros do soluto, como momento de dipolo e constante dielétrica, também podem influenciar a adsorção, mas são parâmetros mais difíceis de serem obtidas. A adsorção também depende de características da membrana como a natureza do material polimérico e sua hidrofobicidade.

Alguns estudos indicam que a capacidade adsortiva da membrana se torna saturada com o tempo, visto que a solução é continuamente filtrada através da membrana e o mecanismo de peneiramento passa a ter um papel predominante na remoção em longo período (Nghiem *et al.*, 2004). Muitos estudos que examinaram adsorção de compostos hidrofóbicos em membranas de nanofiltração e osmose reversa mostraram que a adsorção de contaminantes não é considerada um mecanismo de remoção de longo-período (Nghiem *et al.*, 2002, 2003; Kimura *et al.*, 2003a,b). Assim, segundo Kimura *et al.* (2003a), não é razoável contar com a capacidade de adsorção das membranas de nanofiltração no cálculo

da remoção, pois essa capacidade é finita. Uma forma de analisar e eliminar a influência da adsorção na contabilização da remoção é pela coleta de amostras do concentrado e do permeado nas condições de equilíbrio das concentrações (*steady-state*). Nghiem *et al.* (2003) lembra que a massa adsorvida nas membranas pode ser liberada em certas ocasiões, fazendo da adsorção de compostos estrogênicos um risco para o tratamento.

Kimura *et al.* (2003a) verificaram que a adsorção de compostos hidrofóbicos em tratamento por nanofiltração/Osmose reversa em operação com fluxo tangencial foi significativa para compostos neutros e as condições de operação, como o fluxo de permeado tem significativo efeito no grau de adsorção do composto.

Em estudo realizado por Yoon *et al.* (2007), a remoção de diversos perturbadores endócrinos, em fluxo frontal com membrana composta de poliamida aromática, aumentou com o aumento do valor do log Kow (hidrofobicidade). Isso indicou que a remoção de membranas hidrofóbicas foi influenciada pela adsorção.

Por outro lado, em estudo realizado por Moons e Bruggen (2006), o composto mais hidrofílico, a salicina, apresentou maior porcentagem de remoção do que os compostos hidrofóbicos, como estrona e  $\beta$ -estradiol. Além disso, segundo os autores, a influência da hidrofobicidade é maior para compostos com menores pesos moleculares que o peso molecular de corte da membrana.

Braeken *et al.* (2005) também verificaram que solutos hidrofóbicos em geral exibem menores rejeições se comparados com solutos hidrofílicos de mesmo tamanho principalmente se o peso molecular do soluto for menor que o MWCO da membrana. Verliefde *et al.* (2007) verificaram que o valor de remoção decai com o aumento da hidrofobicidade para compostos neutros e com carga positiva. Isso porque os solutos podem adsorver e então permear através da membrana. Para solutos de carga negativa não houve uma clara relação entre hidrofobicidade e rejeição, as repulsões eletrostáticas impedem o soluto de se aproximar da membrana, inibindo as interações hidrofóbicas entre a membrana e o soluto. Essas interações também aumentam quanto mais hidrofóbica for a membrana. Os autores também verificaram que a remoção de compostos positivos aumentou com o aumento da concentração de alimentação por causa da proteção contra o

efeito de cargas, levando a menores forças de atração. O efeito parece ser menos pronunciado nos compostos negativos.

Para compostos não carregados e hidrofílicos, o impedimento físico parece ser o mecanismo que mais predomina. Solutos hidrofílicos de cargas negativas podem também ser removidos por repulsão eletrostática das superfícies da membrana carregadas negativamente (Bellona *et al.*, 2004).

Interações eletrostáticas entre a carga do soluto e a membrana porosa têm sido reportadas como importante mecanismo de remoção. A maioria das membranas de filme fino compostas tem suas superfícies carregadas negativamente para minimizar a adsorção de substâncias que obstruem a membrana (carregadas negativamente) presentes na água de alimentação e para aumentar a rejeição de sais dissolvidos. A carga negativa da superfície da membrana é usualmente causada por grupos de sulfonas e/ou ácidos carboxílicos que são desprotonados em pH neutro (Bellona *et al.*, 2004). Estudos têm mostrado que o pH tem efeito na carga da membrana devido à dissociação de grupos funcionais. Nos estudos de Teixeira *et al.* (2005) e Al-Amoudi *et al.* (2007) o potencial zeta de diversas membranas compostas se tornou mais negativo com o aumento do pH.

O impacto do pH na carga da superfície da membrana pode também influenciar na rejeição e fluxo do permeado. Teixeira *et al.* (2005) verificaram que o máximo fluxo de permeado e mínima rejeição foram obtidas para a membrana não carregada. Com o aumento do pH e, conseqüente aumento da carga negativa da membrana, no entanto, o fluxo decaiu e a rejeição aumentou. O estudo desses autores, no entanto, foi para avaliação do tratamento de água com dureza elevada e as espécies removidas incluíam os íons de cálcio, magnésio e também íons monovalentes, como de potássio e cloreto. Segundo Bellona *et al.* (2004) a literatura mostra que o efeito da carga da membrana na rejeição é mais estudado para compostos inorgânicos do que para compostos orgânicos. Manttari *et al.* (2006) estudaram, além da rejeição de compostos inorgânicos (sais monovalentes), a rejeição de um composto orgânico hidrofílico (glucose) por diversas membranas, em sua maioria de poliamida sobre suporte de polissulfona. Esses autores verificaram que, para algumas membranas, o aumento do pH aumentou o fluxo de permeado e a rejeição da glucose caiu. Para outras membranas a permeabilidade manteve-se estável numa faixa de valor de pH entre 2 e 11. Esses autores concluíram que se a membrana possui grupos dissociáveis em

sua superfície, então a membrana pode tornar-se mais aberta em pHs elevados. Esse fenômeno pode ser resultado do aumento do tamanho do poro causado pela repulsão eletrostática entre grupo funcional ácido dentro da membrana.

Kimura *et al.* (2003a) verificaram que a carga das moléculas afeta a rejeição das membranas. Avaliando um contaminante neutro e um carregado negativamente com pesos moleculares semelhantes, os autores observaram que rejeições maiores foram obtidas no caso do composto negativamente carregado por causa da repulsão eletrostática entre a molécula e a membrana. Segundo Manttari e Nystrom (2006), compostos capazes de dissociarem-se foram melhores retidos quando o valor do pH da solução aumentou.

Nghiem *et al.* (2006) verificaram a influência das interações eletrostáticas na remoção de fármacos por nanofiltração. Maiores remoções foram obtidas em maiores pHs, exceto para uma substância que se manteve neutra em toda faixa de pH e, portanto, teve sua remoção constante. A transformação da carga neutra para negativa quando o valor de pH foi elevado acima dos seus valores de pKas, fez com que a repulsão eletrostática entre eles e a membrana favorecesse a remoção. Além disso, no valor de pH mais elevado, a adsorção tendeu a diminuir.

Para fármacos de cargas positivas, Verliefde *et al.* (2007), verificaram que a força atrativa entre a superfície da membrana negativa e os fármacos causa um aumento da concentração na superfície da membrana, levando a menores rejeições. A alta afinidade entre a carga positiva e a membrana permite que os solutos se aproximem da membrana mais facilmente e por isso a permeação é facilitada. Os compostos negativos apresentaram maiores remoções e os neutros, remoções intermediárias. Para compostos neutros foi verificado um aumento da rejeição com aumento do peso molecular, enquanto que para os compostos carregados não houve uma clara relação entre o peso molecular e a rejeição porque nesse caso os efeitos da carga predominaram. Para os compostos neutros a rejeição é principalmente determinada por peneiramento e efeitos hidrofóbicos.

A quantificação do peso molecular, geometria do soluto, juntamente com o tamanho do poro da membrana e o grau de rejeição a sais também são importantes. No entanto, estudos verificaram relações distintas desses parâmetros com a rejeição.

Alguns autores verificaram que o tamanho molecular foi melhor indicador do que o peso molecular quanto ao potencial de um composto ser removido pelos processos de separação por membrana. Segundo Agenson e Urase (2007), o peso molecular convencional não leva em consideração a forma e os grupos funcionais das moléculas, e é sempre deficiente na explicação da rejeição do soluto. O tamanho molecular funcionou melhor para a predição da rejeição dos compostos estudados. Nessa linha, Berger *et al* (1997 *apud* Bellona *et al.*, 2004) determinaram que a estrutura molecular, como o número de grupos metila do composto, pode ser importante parâmetro na predição de rejeição de moléculas não carregadas. Moléculas não carregadas com muitos grupos metila tiveram mais altas rejeições que a com menores números desse grupo.

A característica de rejeição de uma membrana de nanofiltração é usualmente expressa pelo fabricante por meio do peso molecular de corte (MWCO). No entanto, a variação nas características do soluto, solvente e parâmetros da operação dificultam a comparação entre os fabricantes. Van der Bruggen *et al* (1998 e 1999 *apud* Bellona *et al.*, 2004) demonstraram que o MWCO de uma membrana de nanofiltração foi pouco relacionado com a rejeição dos compostos estudados.

Outro parâmetro característico da membrana, o grau de rejeição a sais pode ser um parâmetro para auxiliar na estimativa de remoção de alguns compostos. Tanto o MWCO quanto o grau de rejeição a sais devem ser considerados na seleção da membrana porque membranas com mesmo MWCO podem ter graus de rejeição a sais bem diferentes.

Segundo Agenson *et al.* (2003), as membranas com rejeição a sal mais alta retiveram mais os contaminantes do que as com baixa rejeição a sal, dentre 36 contaminantes orgânicos estudados. Mas em alguns casos a rejeição não foi tão alta quanto à porcentagem de rejeição ao sal. Schafer *et al.* (2003) também encontraram uma pior remoção de estrona para membranas com menores rejeições a sódio. No entanto, esses autores encontraram, também, remoções altas para membranas com rejeições a íons não tão altas. Em Kimura *et al.* (2004) uma membrana de acetato de celulose com rejeição mais alta a sal que outra membrana de poliamida apresentou remoções piores de  $\beta$ -estradiol e outros compostos.

Porosidade é outro parâmetro usado nos estudos prévios de estimativa de separação de compostos orgânicos. É expressa como densidade de poros ou número efetivo de poros na

superfície da membrana. Kosutic *et al.* (2000 *apud* Bellona *et al.*, 2004) estudaram a porosidade de algumas membranas de osmose reversa e nanofiltração de poliamida composta. Os autores concluíram que a estrutura porosa da membrana foi dominante na determinação do desempenho da membrana e que a rejeição do soluto poderia ser explicada por parâmetros de porosidade. O número efetivo de poros na fina camada superficial de membranas de osmose reversa e nanofiltração aumentam com o aumento da pressão. Algumas membranas foram mais sensíveis à troca de pressões do que outras. Avanços recentes na microscopia, com microscópios eletrônicos e de força atômica podem prover diretamente a caracterização do tamanho do poro com análise de imagens.

Quanto aos fatores externos, a composição da água de alimentação pode ter um efeito significativo na adsorção e rejeição. Esse assunto é complexo e envolve os aspectos de depósitos de material na superfície da membrana, entupimento de poros, concentração dos compostos alvos, competição com outros compostos presentes na água, entre outros, que são específicos de cada água bruta. Alguns desses aspectos serão abordados no item 3.4, quando se considera a remoção dos perturbadores endócrinos por meio de processos de membranas.

Bellona *et al.* (2004) fizeram uma ampla revisão dos fatores que influenciam na rejeição e propuseram um diagrama (Figura 3.8) para ilustrar a variedade de características físico-químicas de solutos e membranas importantes na definição da rejeição por membranas de alta pressão (nanofiltração e osmose reversa). De acordo com o diagrama, se as características físico-químicas do soluto e membrana são conhecidas os fatores que regem a rejeição poderiam ser predeterminados um grau de rejeição baixo, moderado ou alto de acordo com os parâmetros.



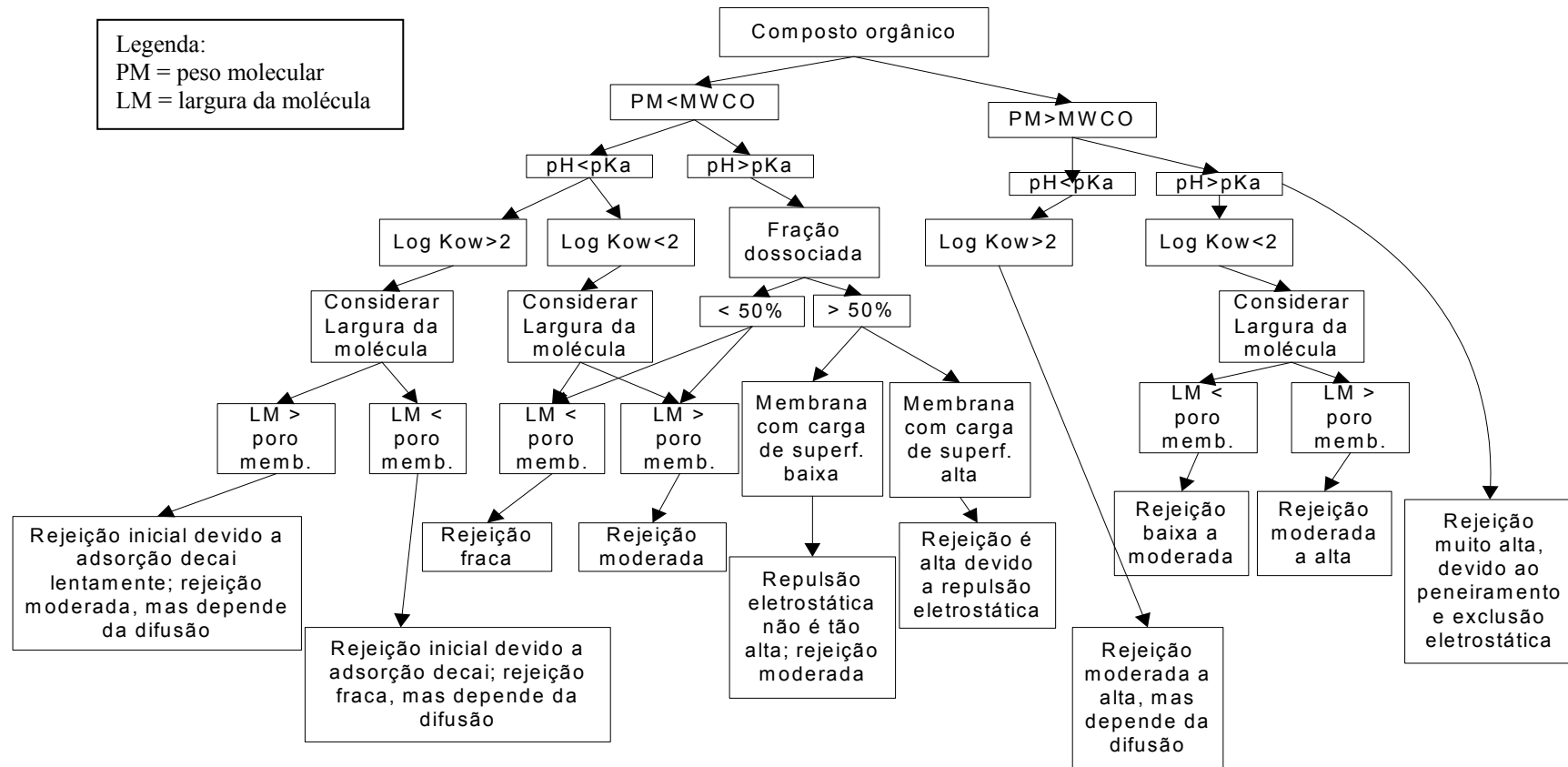


Figura 3.8 - Diagrama de rejeição para micropoluentes orgânicos (para membranas de osmose reversa e nanofiltração) baseado nas propriedades dos solutos (Bellona *et al.*, 2004, modificado)

### 3.4 - REMOÇÃO DE PERTURBADORES POR PROCESSOS DE TRATAMENTO COM MEMBRANAS

Porcentagens variadas de remoção de perturbadores endócrinos em ETEs têm sido encontradas, no entanto, os níveis de eficiência ainda são considerados insuficientes para evitar que essas substâncias causem impactos negativos em peixes. Nesse contexto, processos de tratamento com membrana, principalmente osmose reversa e nanofiltração, tem sido objeto de pesquisas com resultados favoráveis.

A Tabela 3.7 apresenta as eficiências de remoção de contaminantes por processos de separação por membranas e as características de diversos trabalhos encontrados na literatura. Schafer *et al.* (2003), por exemplo, encontraram valores de remoção de estrona por membrana de nanofiltração e osmose reversa entre 95 e 99%. A remoção de estrona por um tipo de membrana de poliamida com suporte de polissulfona (TFC-S) foi reportada por Nghiem *et al.* (2002) como sendo entre 90% a 100%.

Excelentes remoções podem ocorrer em determinadas condições, mas diversos fatores, ainda pouco entendidos, podem influenciar no desempenho dos tratamentos por membranas. As características da membrana, tais como: material da membrana; taxas de fluxo; resistência à obstrução de poros, à adsorção de espécies e à depósitos de solutos na sua superfície; bem como a qualidade da água de alimentação, pressão de operação, entre outros, podem interferir na eficiência do tratamento.

Kimura *et al.* (2004) verificaram maiores eficiência de remoção para 11 compostos químicos, entre eles o  $\beta$ -estradiol, nas membranas de osmose reversa de poliamida apesar de a remoção não ter sido completa (57 a 91%), do que nas membranas de acetato de celulose. Weber *et al.* (2004) verificaram que a remoção de esteróides pela membrana de nanofiltração de poliamida (LFC1) foi maior que 99% enquanto que a remoção por uma membrana de polietersulfona hidrolisada (PES 10) ficou entre 40 e 90%. O ângulo de contato das membranas era praticamente o mesmo e esses autores atribuíram as diferenças de remoções à diferença de material das membranas que implicaram em tamanhos de poros e permeabilidades diferentes.

Tabela 3.7 - Eficiência de remoção de perturbadores endócrinos e condições dos estudos – exemplos da literatura

Referência	Tipo de membrana	Contaminante/concentração inicial	Água de estudo	Características operacionais	Eficiência de remoção
Schafer <i>et al.</i> (2003)	8 membranas de nanofiltração/osmose reversa. Todas de poliamida sobre suporte de polissulfona	Estrona (100 ng/L)	Mili-Q+ base eletrolítica (NaHCO <sub>3</sub> +NaCl+CaCl <sub>2</sub> )	Fluxo convencional, pressão=500kPa e 1000kPa (para se obter valores de fluxos compatíveis entre as membranas)	95 a 99%, com exceção da membrana XN40 (80%)
Nghiem <i>et al.</i> (2002)	Osmose reversa: TFC-S-Composta: poliamida sobre suporte de polissulfona X-20 – poliamida-ureia composta	Estrona (100ng/L)	Mili-Q+ base eletrolítica (NaHCO <sub>3</sub> +NaCl)	Fluxo convencional, pressão=500kPa (TFC-S) e 1000kPa (X-20)	Cerca de 95% para X-20 cerca de 100% para TFC-S (caiu 10% com pH>10,5)
Nghiem <i>et al.</i> (2004)	Nanofiltração/Osmose reversa: -4 membranas de poliamida sobre suporte de polissulfona e 4 de poliamida-ureia composta	β-estradiol e estrona (separadamente)(100ng/L)	1) Mili-Q+ base eletrolítica (NaHCO <sub>3</sub> +NaCl); 2) efluente de trat. secundário de ETE+ base eletrolítica; 3) água superficial sintética(matéria orgânica natural concentrada)+ base eletrolítica	Fluxo tangencial, pressão=1000kPa, 5horas de ensaio	Estrona na água tipo 1 - de 43% a 90% para poliamida-uréia e 34 a 97% para as outras (β-estradiol cerca de 3% de diferença).
Kimura <i>et al.</i> (2004)	Osmose Reversa: XLE-Poliamida SC-3100 – acetato de celulose	11 contaminantes, entre eles o 17β-estradiol (100µg/L)	contaminante+água Mili-Q (contaminantes separados em cada água)	Fluxo tangencial, 500kPa, 24 horas de ensaio	57 a 83% para XLE e 0 a 29% para SC-3100. As remoções máximas foram para o β-estradiol
Weber <i>et al.</i> (2004)	Nanofiltração: LFC1-Poliamida PES-10-polietersulfona hidrolisada	8 hormônios, entre eles o 17β-estradiol (100µg/L)	hormônio+água Mili-Q	Separação em reator de membranas, pressão=2500kPa	>99% para LFC1 e entre 40 e 90% para PES-10
Yoon <i>et al.</i> (2006)	Nanofiltração – composta poliamida aromática; Ultrafiltração – poliamida sobre polietersulfona	52 compostos. Grupo I- compostos mais polares, menos volátil e menos hidrofóbicos, inclusive o estradiol (16 a 94ng/L) grupo II - menos polar, mais volátil e mais hidrofóbico (52 a 234 ng/L)	4 tipos: 1) matéria orgânica natural isolada +água deionizada+contaminante, 2,3 e 4) três diferentes mananciais que abastecem ETAs pré-filtradas em 0,7µm +contaminante	Fluxo convencional, pressão=724 a 779 kPa para nanofiltração e 445-504kPa para ultrafiltração	44 a 93% para nanofiltração e <40% para ultrafiltração
Nghiem <i>et al.</i> (2003)	2 membranas de nanofiltração de poliamida sobre polissulfona	estrona e β-estradiol (100 ng/L)	Mili-Q+ base eletrolítica (NaHCO <sub>3</sub> +NaCl)+ hormônio (analisados em separado)	Fluxo convencional, pressão=500kPa	Cerca de 55% (pH12) a 93%(pH3) para uma membrana e 87% (pH12) e 100% (pH3) para a outra.
Jin <i>et al.</i> (2007)	2 membranas de nanofiltração: Poliamida composta (DL Osmonics) Acetato de celulose (CK-Osmonics)	estrona (100ng/L)	1)Mili-Q+ base eletrolítica (NaHCO <sub>3</sub> +NaCl)+ estrona 2) Mili-Q+ base eletrolítica +estrona+ mat. org. dissolvida	Fluxo tangencial, ensaio de 24 horas	17% (DL) a 8,9%(CK) para água tipo 1) e 16,7 a 48% (DL) e 10,3 a 22,5% (CK) a depender da mat. org. usada para água tipo 2)
McCallum (2005)	4 de nanofiltração – composta de poliamida 2 de ultrafiltração-polissulfona e outra de filme fino de material não indicado	β-estradiol (100µg/L)	buffer de fosfato +mili-Q+β-estradiol	Fluxo tangencial, pressão=138kPa e 965kPa para ultrafiltração e 483kPa e 965kPa para nanofiltração	Pouca ou nenhuma rejeição na ultrafiltração; 70 a >97% na nanofiltração (estado de equilíbrio)
Kimura <i>et al.</i> (2003b)	2 de nanofiltração/osmose reversa de poliamida	9 compostos (100µg/L)	Mili-Q+composto(analisados separadamente)	Fluxo tangencial, pressão=551kPa	91 a 96% - compostos com carga negativa e 12 a 99% - compostos não carregados

No caso do estudo apresentado por Weber *et al.* (2004) foi avaliada, também, a relação de variações na pressão do permeado e alterações na permeabilidade da membrana. Os resultados preliminares indicaram que pressões mais altas podem causar perda na remoção. Similarmente, Nghiem *et al.* (2004) verificaram que para uma membrana composta de poliamida-uréia a remoção de hormônios diminuiu quando se aumentou a pressão de operação (remoção caiu 15% quando a pressão aumentou de 1000kPa para 2500kPa).

O mecanismo de remoção das membranas tem sido alvo de pesquisas. O peso molecular dos solutos orgânicos e a remoção de sal pelas membranas de nanofiltração e osmose reversa podem ser prognósticos insuficientes da remoção, sendo necessário a consideração da adsorção pela membrana. A remoção desses compostos por membranas de osmose reversa e nanofiltração pode ser governada por uma complexa interação química entre soluto-membrana. O transporte através da membrana pode sempre ser descrito em termos da afinidade do material da membrana e o transporte difusivo dentro da membrana (Wiesner e Aptel, 1996).

Nghiem *et al.* (2002) investigaram a adsorção e remoção de duas membranas de osmose reversa, TFC-S e X-20 de mesmo material, sendo a primeira com maior fluxo na água pura (portanto, provavelmente poros maiores). Enquanto o processo de adsorção parece ter governado a remoção de estrona pela TFC-S, o mecanismo de peneiramento foi responsável pela remoção de estrona pela X-20. Isso porque foi especulado que o poro da X-20 é provavelmente menor que a molécula de estrona, não favorecendo a difusão de estrona da água para a membrana. Segundo os autores, parece que a adsorção de traço de contaminantes nas membranas é um efeito que ocorre nos estágios iniciais da separação. Schafer *et al.* (2003) também verificaram que o efeito de peneiramento e adsorção em membranas de nanofiltração e osmose reversa são importantes, sendo que o mecanismo de peneiramento é dominante em membranas de poros menores.

Esses estudos consideraram apenas o estágio inicial, antes do equilíbrio. No entanto, Kimura *et al.* (2004) atribuíram a rejeição de diversos compostos, inclusive hormônios, ao peso molecular (efeito peneira) no estado de equilíbrio de membranas de poliamida. Para membranas de acetato de celulose, a polaridade indicou melhor as tendências de remoção dos compostos selecionados.

Yoon *et al.* (2006) analisaram a remoção por nanofiltração e ultrafiltração de 52 perturbadores com diferentes propriedades químicas e que foram divididos em dois grupos. O Grupo I (compostos mais polares, menos voláteis e menos hidrofóbicos) teve menor remoção que o grupo II (menos polar, mais volátil e mais hidrofóbico), indicando uma remoção governada pela adsorção hidrofóbica. No entanto, no estado de equilíbrio de operação a exclusão por tamanho (efeito peneira) pode ser dominante para a remoção. As membranas de nanofiltração foram mais eficientes na remoção do que aquelas de ultrafiltração, implicando que a remoção é influenciada pelo poro da membrana. A remoção pela nanofiltração foi entre 44 e 93%, (exceto para um composto o naproxeno) e a remoção por ultrafiltração foi, em geral, menor que 40% (exceto triclosan 87%, oxybenzeno 77% e progesterona 56%).

A influência do pH foi analisada por Nghiem *et al.* (2002). Nesse estudo, a remoção da membrana do tipo TFC-S caiu 10% quando o pH excedeu o valor de pKa (constante de dissociação ácida) da estrona, que é igual a 10,5. A remoção da membrana X-20 não foi afetada pela mudança de pH.

Segundo Nghiem *et al.* (2003) em fluxo frontal (dead-end) a remoção do estrona, assim como a adsorção, decaem bastante com pH acima do pKa. Os autores explicam que as pontes de hidrogênio são responsáveis pelo mecanismo de adsorção da estrona pela membrana. Os grupos hidroxila da estrona (e também do  $\beta$ -estradiol) são os mais prováveis pontos da interação com a membrana, devido à estrutura ressonante de grupos aromáticos. Quando dissociado (pH acima do pKa), estrona perde seu próton e se torna incapaz de estabelecer pontes de hidrogênio com os grupos funcionais da membrana, resultando numa redução da adsorção e segundo ele da remoção (Nghiem *et al.*, 2002 e 2003). Nghiem *et al.* (2004) estudaram oito tipos de membranas de nanofiltração e osmose reversa e verificaram que os mecanismos de separação da estrona e  $\beta$ -estradiol são similares.

Nghiem *et al.* (2004) voltam a destacar que grupos funcionais do  $\beta$ -estradiol podem facilitar a formação de pontes de hidrogênio entre molécula e superfície da membrana. Teoricamente o  $\beta$ -estradiol pode funcionar como um doador de próton.

As concentrações de perturbadores encontradas no ambiente são muito pequenas e de difícil análise. Face essa dificuldade é comum utilizar-se concentrações mais elevadas

desses compostos em experimentos controlados que utilizam membranas. No entanto, especula-se que o uso de altas concentrações pode não necessariamente refletir o comportamento do poluente.

Schafer *et al.* (2003) verificaram que numa faixa de 1 a 1000 ng/L o efeito da concentração de  $\beta$ -estradiol na alimentação é mínimo quando os valores de remoção foram comparados em membranas de poliamida sobre suporte de polissulfona. No entanto, esse estudo só considerou a rejeição no estágio inicial e não no equilíbrio. Kimura *et al.* (2003b) salientam que experimentos conduzidos em concentrações diferentes podem dar resultados diferentes já que o transporte de soluto através das membranas pode ser governado pela difusão, que é altamente dependente da concentração. Esses autores verificaram que a remoção de diversos micropoluentes orgânicos por nanofiltração e osmose reversa foi maior em experimentos conduzidos com concentração inicial de 100 $\mu$ g/L do que com a concentração de 100 ng/L.

Vale observar que parece haver uma contradição entre os resultados obtidos por Kimura *et al.* (2003b) e os efeitos da difusão. O aumento da concentração de contaminante na alimentação tende a favorecer a difusão e, portanto, em condições de equilíbrio, tende a promover o aumento da concentração de contaminante no permeado, diminuindo a eficiência de remoção pela membrana.

Schafer *et al.* (2003) salientam que efeitos da presença de matéria orgânica nos efluentes no grau de remoção do estrona devem ser avaliados, ou seja, a qualidade da água de alimentação pode influenciar na eficiência de remoção da membrana. A matéria orgânica pode competir por pontos adsorptivos da superfície da membrana e resultar em menores graus de remoção do contaminante. Alternativamente, contaminantes como o estrona podem se ligar à matéria orgânica podendo favorecer as retenções. Nghiem *et al.* (2004) verificaram que a remoção do estrona aumentou com a presença de matéria orgânica na água estudada. Yoon *et al.* (2006) ao analisarem a nanofiltração e ultrafiltração de perturbadores usando quatro tipos de água de alimentação (ver tabela 3.7), também verificaram que a remoção pode ser influenciada pela qualidade da água.

Jin *et al.* (2007) verificaram, por sua vez, que a remoção do estrona é alterada na presença de matéria orgânica dissolvida. Tanto para uma membrana de acetato de celulose quanto

para uma membrana de poliamida as remoções foram mais altas na presença de matéria orgânica dissolvida (polissacarídeos e substâncias húmicas) do que para a estrona livre. Entre as diferentes substâncias que representaram a matéria orgânica dissolvida houve diferenças na remoção, dependendo da interação dessa substância com a estrona e a membrana, como características hidrofóbicas ou hidrofílicas, podendo melhorar ou piorar sua remoção. Segundo os autores, na presença de matéria orgânica com mais grupos fenólicos, e conseqüentemente, mais facilidade de realizar pontes de hidrogênio com a estrona, a remoção de estrona foi maior do que na presença das outras matérias orgânicas.

Quanto à influência da velocidade tangencial na remoção do  $\beta$ -estradiol, a literatura é controversa. McCallum (2005) observou menores remoções do  $\beta$ -estradiol, no estado de equilíbrio, com a velocidade de 0,13 m/s (70% de remoção), do que para a velocidade de 0,4 m/s (80-85%), sendo esta última a mesma utilizada nesta pesquisa de mestrado. Nghiem *et al.* (2004) não verificaram alteração na remoção do estrona (hormônio com estrutura muito similar ao  $\beta$ -estradiol) numa faixa de variação de 0,073m/s a 0,24m/s.

### **3.5 - REMOÇÃO DE SAXITOXINAS POR PROCESSO DE TRATAMENTO COM MEMBRANAS**

A remoção de cianotoxinas por processos de tratamento por membranas ainda não foi profundamente estudada. Os estudos de remoção de cianotoxinas por processos de nanofiltração têm se limitado, principalmente, às microcistinas e anatoxina-a e mesmo assim ainda são poucos os trabalhos publicados. Nenhum trabalho com remoção de saxitoxina por processos de membrana foi encontrado. Poucos trabalhos sobre remoção de cianobactérias também foram publicados.

Teixeira e Rosa (2005) avaliaram a remoção de microcistina dissolvida em três tipos de água (ozonizada e do decantador de uma ETA e contaminada com matéria orgânica natural) pelo processo de nanofiltração sob pressão de 1000kPa e fluxo tangencial. Todas as variantes de microcistinas (MC-LR, MC-LY e MC-LF) foram quase completamente removidas (>97%). As microcistinas revelaram uma forte tendência à obstrução da membrana para concentrações elevadas de 150  $\mu\text{g/L}$ , sendo este comportamento atenuado para concentrações menores, de 16  $\mu\text{g/L}$ .

Posteriormente, Teixeira e Rosa (2006) analisaram, além da remoção da microcistina, a remoção da neurotoxina, anatoxina-a, por nanofiltração em membranas compostas de amida de polipiperazina sobre suporte de polisulfona e poliéster (MWCO=150 g/mol) e verificaram que essa toxina também foi quase completamente removida. A água de estudo foi preparada com efluente do decantador de uma ETA, adicionado de matéria orgânica natural. Esses autores avaliaram a influência de características químicas da anatoxina-a (alcalóide positivamente carregado, 166g/mol) e da hepatotoxina microcistina (peptídeo cíclico, carregado negativamente e de cerca de 1000 g/mol) na eficiência de remoção dessas toxinas. A remoção da Anatoxina-a foi governada por interações eletroestáticas e por impedimento físico (peneiramento), enquanto que para a microcistina este último foi o principal mecanismo. As duas toxinas foram quase completamente removidas, mesmo com variações na qualidade da água, taxa de recuperação de água e diferentes valores de pH.

Segundo Gijsbertsen-Abrahamse *et al.* (2006), a ultrafiltração é capaz de remover microrganismos em geral (>99,99%). No entanto, no caso de cianobactérias é possível a liberação de cianotoxinas das células devido à lise que a bomba de alimentação pode causar. As toxinas dissolvidas foram melhores removidas com a nanofiltração do que com a ultrafiltração. Nesse estudo, com membranas de nanofiltração em espiral a rejeição de microcistinas foi de pelo menos 99% e para anatoxina-a, (menor peso molecular - 165g/mol), com o peso molecular menor que o de corte da membrana utilizada (200g/mol) a rejeição foi ainda de 96%. Os autores observaram, ainda, um decaimento na concentração de alimentação com o tempo, principalmente com relação à anatoxina-a, o qual atribuíram a adsorção da toxina na membrana.

Os autores salientam, ainda, que a rejeição foi alta, mas deve-se lembrar que foi resultado em escala pequena. A recuperação do permeado foi de 10%. Numa escala real a recuperação será de cerca de 75%, resultando em mais altas concentrações de compostos dissolvidos no concentrado. A transferência de massa dos compostos através da membrana de nanofiltração, não depende só do tamanho das moléculas, mas também de outras propriedades físicas e na escala real, com aumento da concentração de dissolvidos no concentrado é importante que essas propriedades sejam conhecidas.



## 4 - METODOLOGIA

Neste trabalho, as eficiências de remoção do hormônio  $\beta$ -estradiol e das saxitoxinas por nanofiltração foram avaliadas em escala de bancada por um sistema de separação em membranas de fluxo tangencial (“cross-flow”). O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Água – LAA do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília - UnB.

Os contaminantes foram escolhidos por serem pouco estudados no Brasil, serem suspeitos de estar associados a problemas de saúde humana, poder estar presentes em um mesmo manancial. Além disso, apesar de possuírem naturezas bem diferentes, os dois contaminantes são orgânicos e possuem pesos moleculares próximos. Assim, podem ser verificadas algumas influências da estrutura molecular na remoção de contaminantes orgânicos pela nanofiltração.

Foram realizados experimentos que consistiram da avaliação do comportamento de duas diferentes membranas de nanofiltração quando alimentadas com dois tipos de água conforme descrito a seguir.

Tipo I: água deionizada contaminada com  $\beta$ -estradiol;

Tipo II: água deionizada contaminada com saxitoxina;

A concentração do hormônio  $\beta$ -estradiol na água do Tipo I foi constante de aproximadamente 10  $\mu\text{g/L}$ . Na água do Tipo II a concentração de saxitoxina foi variável, dependendo da concentração resultante do cultivo da cianobactéria.

Além da avaliação da influência dos diferentes materiais constituintes das membranas, também foi investigado o efeito da variação de pH na eficiência de remoção dos poluentes.

A seguir, é detalhada a concepção do equipamento de bancada, materiais utilizados, bem como o desenvolvimento dos experimentos realizados.

## 4.1 - EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

### 4.1.1 - Sistema experimental de separação por membrana

O tipo de fluxo escolhido para os experimentos de nanofiltração foi o tangencial, utilizado em diversos trabalhos de bancada (Nghiem *et al.*, 2004; McCallum, 2005; Kimura *et al.*, 2004) e em escala real. Esse tipo de operação possui, em geral, uma recuperação quantitativa da água de alimentação menor que a obtida no fluxo frontal, no entanto, a operação em fluxo tangencial resulta em menos problemas de depósitos na membrana.

O esquema geral do sistema de separação por membranas utilizado no trabalho é apresentado na Figura 4.1. Na Figura 4.2 é apresentada uma foto do sistema montado. O sistema consiste, portanto, de uma célula de separação operada em fluxo tangencial, manômetro, rotâmetro, reservatório de alimentação, bomba centrífuga e um inversor de frequência.

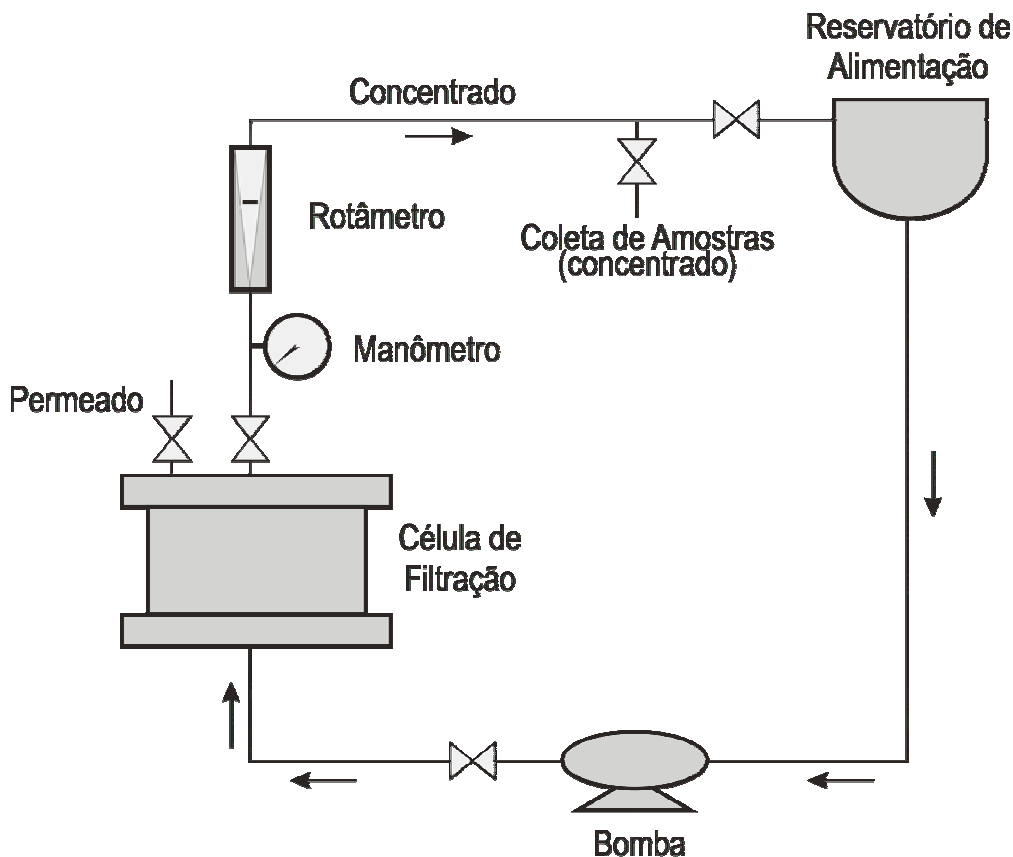


Figura 4.1 - Esquema simplificado do sistema de nanofiltração

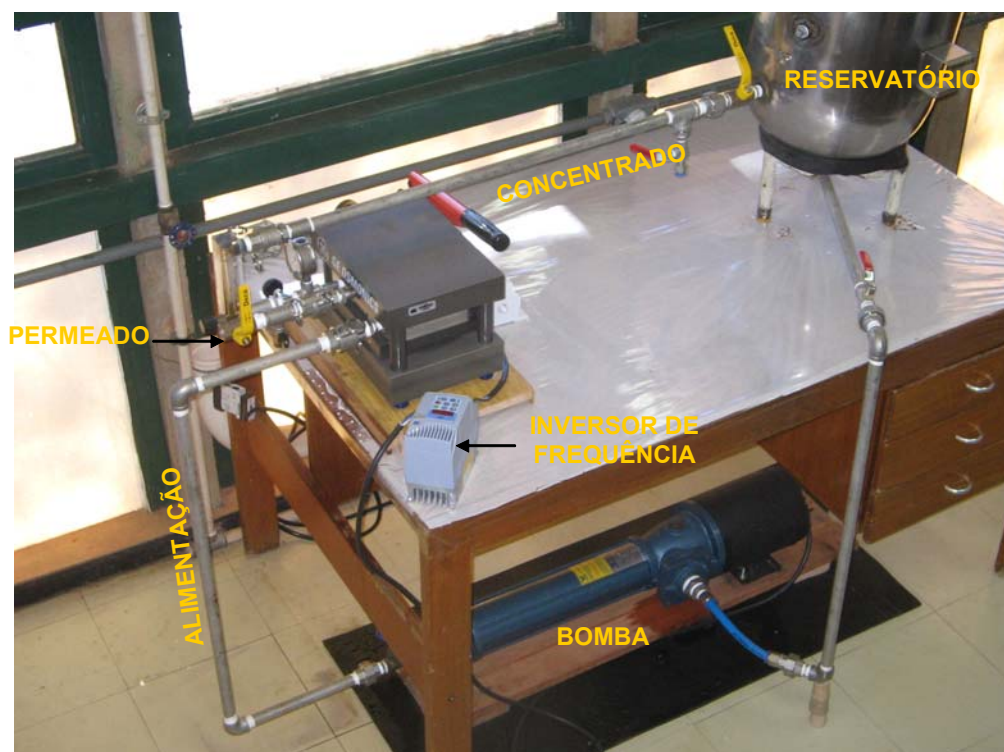


Figura 4.2 - Vista geral do sistema de nanofiltração

A célula de separação, coração do sistema experimental, é da marca Osmonics, modelo Sepa II-Cross-Flow e foi importado da empresa Sterlitech. O detalhe e os componentes da célula são apresentados na Figura 4.3.

A célula de separação é toda confeccionada em aço inox, com exceção do espaçador, carreador do permeado e membranas. O espaçador utilizado nesse trabalho possui espessura de 1,65mm e sua estrutura em forma de rede promove turbulência no canal do concentrado e reduz a polarização da concentração de soluto próximo à superfície da membrana (Figura 4.3c). O carreador do permeado conduz a água permeada para o centro da parte superior da célula onde se localizam os orifícios para saída do permeado (Figura 4.3d). A dimensão da membrana a ser acoplada na célula é de 19,1 x 14cm, no entanto a área efetiva de separação é de 140 cm<sup>2</sup>. A célula de separação é inserida em um suporte que é pressurizado, por meio de uma bomba hidráulica manual, para evitar que a célula se abra durante a operação (Figura 4.3b). A pressão máxima suportada pela célula é de 6900kPa.

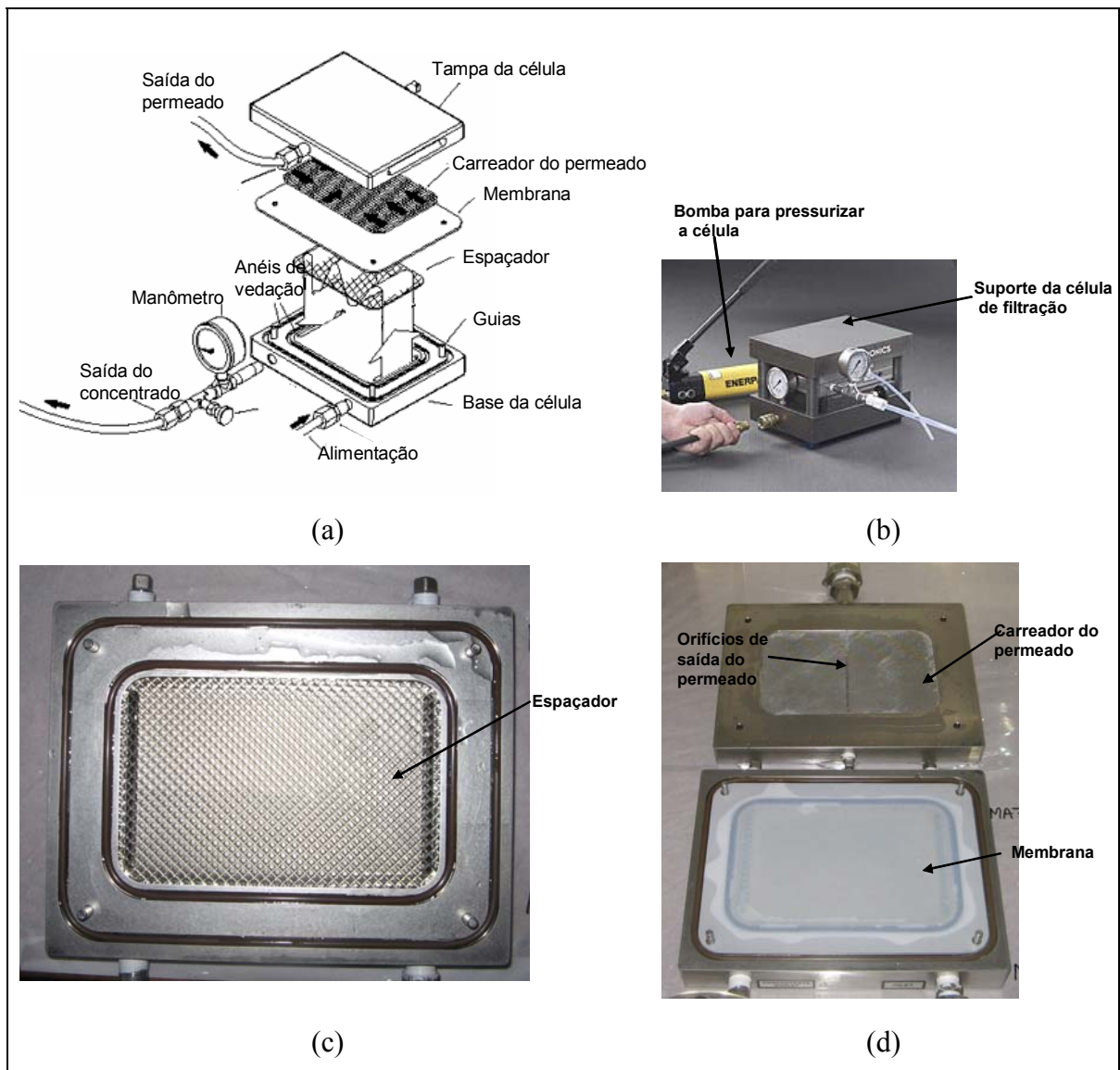


Figura 4.3 - Célula de separação tangencial. (a) componentes da célula de separação. (b) Suporte da célula de separação. (c) base da célula, detalhe do espaçador. (d) célula de separação com carreador de permeado e membrana instalados

Do reservatório de alimentação, confeccionado em aço inox, com capacidade de até 20 L, a água é conduzida sob pressão para a célula de separação em membrana. A pressão de trabalho, 689kPa (100psi), é mantida por uma bomba centrífuga de 16 estágios da marca Vanbro, que atinge uma pressão máxima de 116 mca para uma vazão de 0,8 m<sup>3</sup>/h. A pressão era controlada por um manômetro e registro instalados na tubulação de saída do concentrado (Figuras 4.2 e 4.3a). Após passar pela célula de separação, o concentrado retornava ao reservatório de alimentação. Como a vazão de permeado era baixa, grande parte do volume era coletado para realização das análises e por isso não foi prevista uma tubulação de retorno para essa fração. As tubulações utilizadas no sistema, bem como, o reservatório e conexões (com exceção dos registros), foram de aço inox para minimizar

perdas por adsorção do contaminante na tubulação. Não foi previsto dispositivo de medição de vazão para o permeado, a qual foi estimada por medidas volumétricas.

#### 4.1.2 - Membranas

Foram testados dois tipos de membranas poliméricas de nanofiltração fabricadas pela DESAL-Osmonics adquiridas da mesma empresa da qual foi importado o equipamento de separação. As principais características das membranas estão apresentadas na Tabela 4.1. Neste trabalho, a membrana de acetato de celulose foi designada como tipo A e a membrana composta como tipo B.

Tabela 4.1 - Principais características das membranas utilizadas nos ensaios de nanofiltração.

Designação da membrana	YMCKSP1905 - Tipo A	YMDKSP1905 - Tipo B	Referências
Material constituinte	acetato de celulose <sup>a</sup>	membrana composta - TFC (filme fino de poliamida sobre suporte de polissulfona <sup>b</sup> )	a- Fabricante b-Bowen <i>et al.</i> , (2002); Wagner, (2001); Mazzoni e Bandini (2006);
Potencial Zeta (mV)	-6,0 <sup>c</sup> (pH=7)	-15 (pH=6,5) <sup>d</sup> neutro (pH=3,9) <sup>e</sup> -23,0 (pH=10,35) <sup>f</sup>	c – Jin <i>et al.</i> (2007) d, e, f – Al-amoudi <i>et al.</i> (2007).
Ângulo de contato (°C)	54,2 <sup>g</sup>	58,3 <sup>h</sup>	g - Jin <i>et al.</i> (2007) h – Norberg <i>et al.</i> (2007).
Rejeição	92% - Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	98%-(MgSO <sub>4</sub> )	Fabricante
Peso molecular de corte (g/mol)	560 <sup>i</sup>	150-300 para solutos orgânicos não carregados	i - Jin <i>et al.</i> (2007) para pH=7
Fluxo típico em determinada pressão	47,5 L/m <sup>2</sup> /h em 220psi (1517kPa)	37,4 L/m <sup>2</sup> /h em 100psi (689kPa)	Fabricante
Faixa de pH em 25°C	2-8	2-11	Fabricante

Como pode ser observado na Tabela 4.1, a seleção das membranas utilizadas nesta pesquisa foi feita com intuito de se obter características de materiais diferentes para avaliar a influência do composto formador na remoção dos poluentes. Para facilitar questões de importação optou-se em escolher as membranas dentre aquelas existentes na mesma empresa da qual foi adquirido equipamento de separação.

### 4.1.3 - Contaminantes

Os contaminantes orgânicos analisados nesta pesquisa foram o hormônio  $\beta$ -estradiol e as saxitoxinas STX, Neo-STX e dc-STX.

O perturbador endócrino estudado, o hormônio  $\beta$ -estradiol, foi adquirido da empresa Sigma, na forma sólida e solúvel em água (produto E4389, lote número 065K1250). Originalmente, o  $\beta$ -estradiol é pouco solúvel em água, mas esse produto adquirido para os ensaios possui moléculas de ciclodextrinas (oligossacarídeos cíclicos) que facilitam sua dissolução em água. O  $\beta$ -estradiol fica encapsulado pela ciclodextrina, deixando a molécula solúvel em água. Quando esse complexo é diluído em grande volume de água o processo é revertido e o  $\beta$ -estradiol é liberado para a solução.

Optou-se por esse composto porque dispensa o uso de solventes como metanol, ou etanol para dissolução do hormônio, o que facilita o preparo da amostra e minimiza o risco de ataque da membrana por esses solventes.

O frasco de 2,1 gramas do hormônio solúvel possuía, efetivamente, 100mg de  $\beta$ -estradiol. Preparou-se, então, uma solução estoque pela diluição das 2,1 gramas em 100 ml de água deionizada, o que resulta numa concentração total de 21 mg/mL e uma concentração de  $\beta$ -estradiol de 1mg/mL.

A contaminação com o hormônio na água em estudo foi feita a partir da solução estoque para alcançar uma concentração de cerca de 10  $\mu$ g/L de  $\beta$ -estradiol. Como os ensaios foram realizados com um volume total inicial de 15 L, eram colocados nesse volume 150 $\mu$ L da solução estoque. As concentrações usualmente encontradas na natureza são da ordem de ng/L e alguns trabalhos têm realizado seus experimentos com 100 ng/L (Nghiem *et al.*, 2001, 2003 e 2004). No entanto, uma concentração maior foi escolhida para facilitar os ensaios quanto ao aspecto de detecção, dispensando necessidade de etapa de extração e concentração, e também por ter sido observado a utilização de concentrações de até 100  $\mu$ g/L em algumas pesquisas sobre o tema (Weber *et al.*, 2004 e Kimura *et al.*, 2004).

As saxitoxinas estudadas na água do Tipo II foram extraídas de células de cepas tóxicas de *Cylindrospermopsis raciborskii* (cepa T3) que foram cultivadas no próprio Laboratório de

Análise de Água – LAA do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília-UnB (Figura 4.4). Essa cepa foi inicialmente fornecida pelo Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias (LETC) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ, tendo sido isolada no ano de 1996 no reservatório de água da represa Billing no estado de São Paulo.

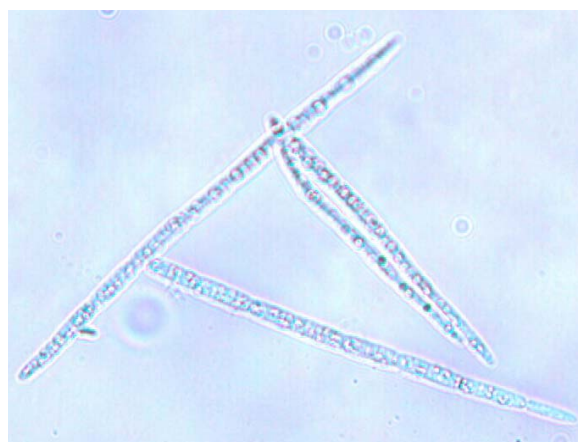


Figura 4.4 - Vista geral do cultivo de *Cylindrospermopsis raciborskii* do Laboratório de Análise de Águas da UnB.

Para liberação da toxina intracelular a ser usada nos experimentos, as células de *Cylindrospermopsis raciborskii* eram submetidas ao processo de gelo/degelo por três vezes consecutivas. Esse processo provoca o rompimento da membrana celular (lise) e conseqüentemente a liberação de toxina e de outros compostos intracelulares para o meio líquido. Fotos do cultivo antes e após a lise das células são apresentadas, respectivamente, nas Figuras 4.5 e 4.6



(a)



(b)

Figura 4.5 – Cultivo de *Cylindrospermopsis raciborskii* (T3) antes do processo de lise. (Microscópio óptico, aumento de 100 vezes (a) e 200 vezes (b))

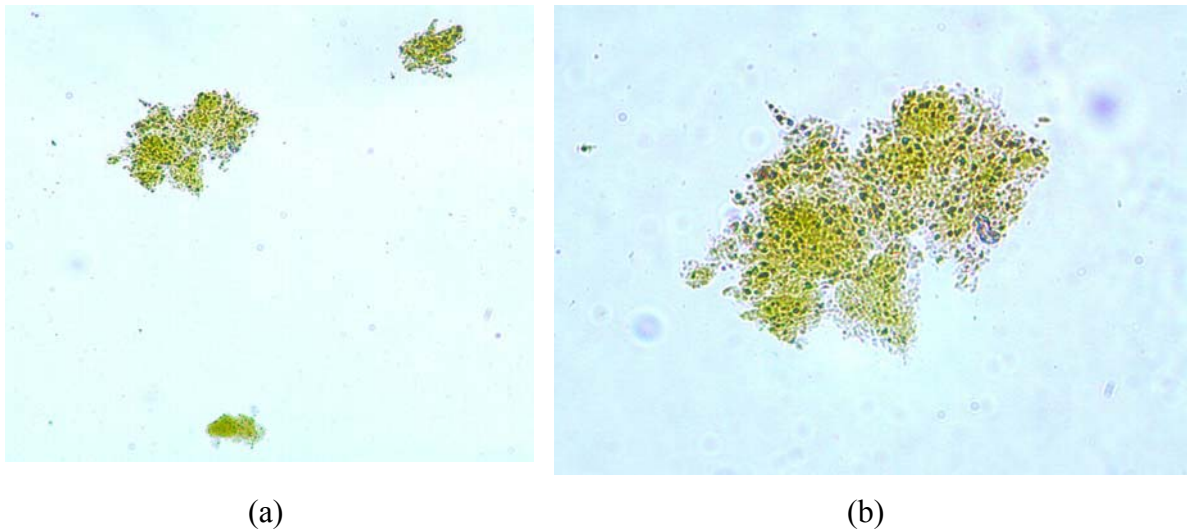


Figura 4.6 - Cultivo de *Cylindrospermopsis raciborskii* (T3) após lise pelo processo de gelo/degelo. (Microscópio óptico, aumento de 100 vezes (a) e 200 vezes (b))

Após o processo de lise, o líquido era submetido a uma seqüência de separação (ver figura 4.7) para remoção dos fragmentos de células lisadas e para evitar a obstrução da membrana durante o processo de nanofiltração. A separação era realizada em filtro de 8  $\mu\text{m}$ , em seguida por membrana com retenção de 1  $\mu\text{m}$  de microfibras de vidro e por último em membrana de éster de celulose com retenção de 0,45  $\mu\text{m}$ . O material filtrado era armazenado no congelador e era retirado para descongelamento um dia antes de sua utilização nos ensaios. O procedimento de separação consumia tempo significativo e era bastante oneroso em função do número de membranas de 0,45  $\mu\text{m}$  gasto. Esse processo, juntamente com a produção do cultivo, limitou o número de experimentos realizados.



Figura 4.7 – Bancada de separação



A concentração da saxitoxina adotada nos experimentos variou a depender do cultivo utilizado para sua produção. Trabalho anterior (Silva, 2005), que utilizou a mesma cepa, indicava que a concentração de saxitoxinas, produzida a partir da lise do cultivo, variava entre 50 e 80µg/L. Levando em consideração esse dado e os limites de detecção do CLAE, optou-se em utilizar para os experimentos de nanofiltração uma água de estudo com 50% do cultivo filtrado e 50% de água deionizada, ou seja, 7,5L de cada um desses componentes.

## **4.2 - DESENVOLVIMENTO DOS EXPERIMENTOS**

### **4.2.1 - Considerações Gerais**

Os ensaios de nanofiltração foram concebidos de forma a possibilitar a avaliação do comportamento da remoção dos contaminantes sob variações de material da membrana e do valor de pH da água de estudo. O desenvolvimento experimental do trabalho foi iniciado com uma etapa preliminar de instalação e teste do sistema e só depois foram iniciados os ensaios de nanofiltração, propriamente ditos.

Foram realizados ensaios para as duas águas de estudo conforme apresentado no fluxograma da Figura 4.8. Na primeira etapa foram realizados todos os ensaios com a água contaminada com β-estradiol e na segunda etapa com a contaminação do material filtrado após processo de lise da *Cylindrospermopsis raciborskii*, incluindo as saxitoxinas. Na fase 1 das duas etapas, as duas membranas foram testadas nas amostras sem correção de pH. Para a água de estudo tipo I o valor de pH era 5 e valor de pH de 7 foi encontrado na água de estudo tipo II. Na fase 2 das duas etapas, a membrana que apresentou melhor remoção de cada composto na fase 1, foi utilizada para os ensaios de verificação da influência do pH na remoção dos contaminantes. Para cada ensaio foi utilizada uma membrana nova para que a comparação entre os resultados fosse realizada sob condições iniciais similares entre as membranas.

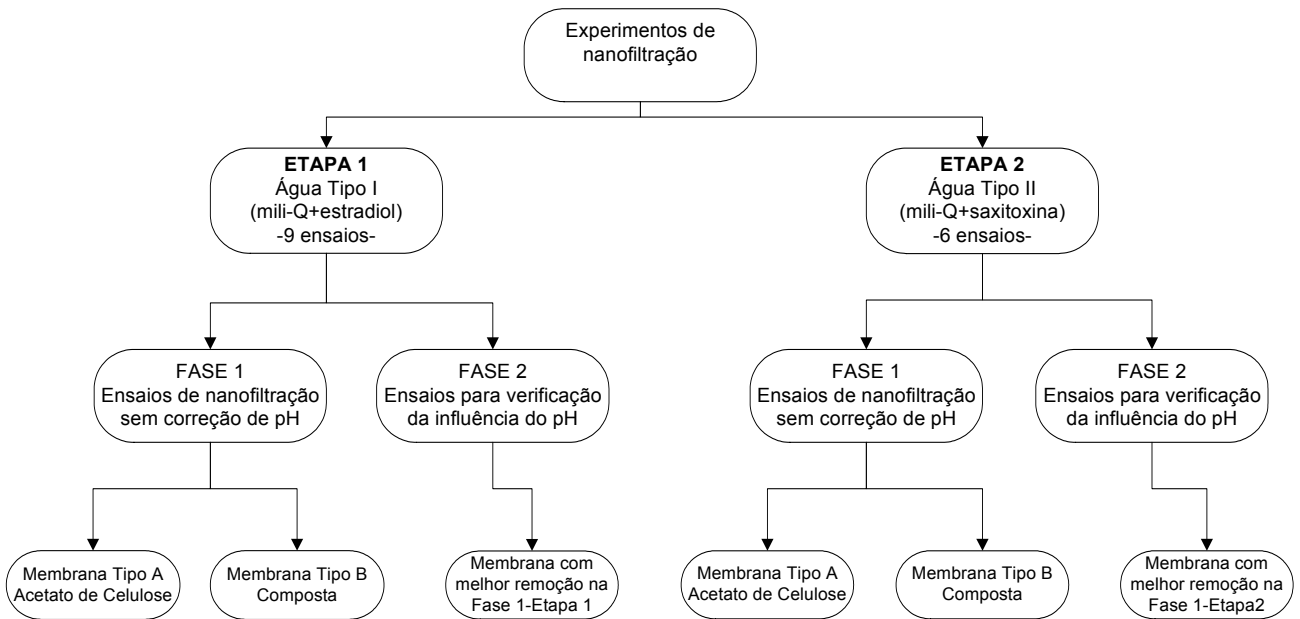


Figura 4.8 - Distribuição dos experimentos de nanofiltração.

Os ensaios foram realizados em sala climatizada (com temperatura em torno dos 22°C) e ao longo dos ensaios eram monitorados a temperatura do ambiente, a temperatura e o valor de pH da água no reservatório de alimentação. Os ensaios da Fase 1 (sem correção do pH) foram, primeiramente, realizados para a membrana de acetato de celulose (tipo A) e depois para a membrana composta (tipo B).

Conforme apresentado na Figura 4.9, de uma forma geral o desenvolvimento dos ensaios englobou a seguinte rotina experimental: preparação do sistema de separação, que incluiu a limpeza da bomba e preparação da célula de separação com colocação da membrana, espaçadores e carreador do permeado; condicionamento da membrana; ensaio de nanofiltração propriamente dito; ensaio de dessorção (em casos específicos) e detecção do contaminante em estudo em cada etapa,  $\beta$ -estradiol e saxitoxinas. A seguir cada uma dessas fases é descrita com mais detalhes.

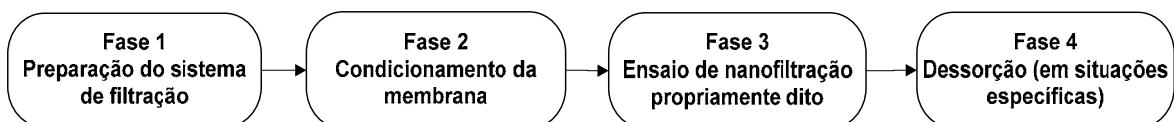


Figura 4.9 - Rotina dos ensaios de nanofiltração

**Fase 1 – Preparação do sistema de separação:** A limpeza da bomba era executada imediatamente antes de cada ensaio. O procedimento consistia em colocar 20 litros de água destilada no tanque de alimentação e ligar a bomba de forma que a água passasse pela tubulação e pela bomba para depois ser descartada. Esse procedimento era repetido duas vezes. O objetivo dessa fase era a retirada de eventuais resíduos de amostra de ensaios anteriores depositados na bomba. Após a limpeza, toda água restante era retirada da tubulação e tanque para se iniciar o ensaio. Antes do início do ensaio a membrana era lavada com água deionizada, para remover a cobertura de proteção, e colocada na célula de separação juntamente com o espaçador (1,65mm) e carreador do permeado.

A rotina adotada nos ensaios de nanofiltração tomou como base os procedimentos descritos por Nighiem *et al.* (2004), McCalum (2005), Kimura (2004) e Angenson *et al.* (2003) e consistiu das seguintes fases.

**Fase 2 - Condicionamento da membrana:** Depois da preparação do sistema, o reservatório de alimentação era preenchido com 15 L de água mili-Q e a membrana era comprimida por uma hora sob pressão constante de 1000kPa e vazão do concentrado de 3,6 L/min com intuito de se obter um fluxo mais estabilizado. Nessa fase, a vazão do permeado também era medida por método volumétrico (medida do volume de permeado em uma proveta a cada 15 minutos) para se obter o fluxo da membrana em água limpa.

**Fase 3 – Ensaio de nanofiltração propriamente dito:** Depois de esvaziado, o reservatório de alimentação era preenchido com um volume de 15 L da água de estudo e a mesma era filtrada na pressão de trabalho (689kPa) em vazão constante de concentrado de cerca 3,6 L/min, o que considerando a dimensão do espaçador e membrana resulta numa velocidade tangencial de aproximadamente 0,4 m/s.

A água de estudo era preparada após a fase 2 em um recipiente de vidro com capacidade para 20 litros, onde eram colocados o contaminante e água mili-Q nas quantidades específicas para cada água de estudo, completando um volume de 15L. No caso dos ensaios para avaliação da influência do valor de pH, o valor de pH da água de estudo era corrigido com NaOH ou HCl, de acordo com a necessidade. Antes do início do ensaio propriamente dito, retirava-se uma amostra do tanque para controle da concentração inicial do ensaio.

Durante todos os ensaios a pressão de trabalho foi mantida constante, assim como a temperatura da água no reservatório de alimentação, que ficou em torno de 25°C. O procedimento foi o mesmo em todos os ensaios com os dois tipos de membrana e para cada ensaio foi utilizada uma nova membrana.

A pressão de trabalho foi escolhida com base nos limites usuais adotados para nanofiltração em baixa pressão e em trabalhos da mesma natureza (Nghien *et al.* 2001,2003 e 2004; Kimura *et al.*, 2004).

**Fase 4 - Dessorção:** Essa fase da rotina experimental foi realizada em alguns ensaios, adotando procedimento descrito por McCalum (2005) com o objetivo de monitorar a dessorção do contaminante da membrana. Após o término da fase 3 o reservatório de alimentação e tubulações de alimentação eram drenadas e enxaguadas com água mili-Q e a membrana foi mantida na célula de separação. O reservatório foi, então, preenchido com 15 litros de água deionizada e realizou-se uma separação mantendo-se os mesmos parâmetros da fase 3, ou seja, pressão de 689kPa e fluxo de concentrado de 3,6 L/min. Durante o primeiro minuto de operação, o concentrado foi descartado para limpar a célula de separação e tubulação do concentrado. Da mesma forma que na fase 2, antes do início da separação retirou-se uma amostra do tanque para controle negativo da concentração no tanque de alimentação.

Durante todos os ensaios foram coletadas amostras do permeado e do concentrado a cada duas horas (com exceção do primeiro experimento da água de Estudo tipo I). Por causa de sua vazão baixa, as amostras de permeado foram compostas, ou seja, coletava-se continuamente o permeado numa proveta e a cada duas horas retirava-se uma alíquota do volume total coletado nas duas horas. As amostras do concentrado foram pontuais, coletadas em proveta por meio de um registro aberto a cada duas horas somente para retirada da amostra. O tempo de duração dos ensaios variou, conforme explicado nos itens 4.2.3 e 4.2.4.

Como já foi mencionado, a vazão do permeado foi monitorada por medida volumétrica em função do tempo e a vazão do concentrado, mantida constante, foi monitorada por um rotâmetro.

Todos os experimentos foram executados com recirculação total do concentrado, a menos das quantidades retiradas para amostragem. Apesar de a maioria dos trabalhos da literatura recircularem, também, o permeado, optou-se em descartar o volume de permeado que não fosse coletado para amostra para uma simulação mais próxima do que acontece em escala real.

Para análise dos dados e verificação da eficiência de remoção, a taxa de remoção ou rejeição (R) foi calculada para cada intervalo de tempo da amostragem utilizando-se a Equação 3.2. Cabe observar que uma aproximação foi adotada, já que no caso do presente trabalho, foram utilizados dados da concentração de amostras coletadas do concentrado ao invés de amostras coletadas da alimentação. No entanto, devido à baixa recuperação de água e o fato de o concentrado ser recirculado, essa diferença pode ser desprezada.

As medidas das concentrações dos contaminantes nas amostras foram obtidas pelo método ELISA, para o  $\beta$ -estradiol e pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE para as saxitoxinas, conforme descrito no item 4.3. Depois de cada ensaio as amostras eram mantidas congeladas até serem analisadas por esses métodos. Esse período de armazenamento (o usual foi a análise no dia seguinte ao ensaio) nunca ultrapassou uma semana em nenhum dos ensaios, minimizando, assim, influência de possíveis degradações.

Outra observação importante, é que como os ensaios foram realizados em operação semi-contínua e o volume do permeado não foi retornado para o reservatório de alimentação, e portanto, há uma pequena diferença entre o volume inicial e o volume final de alimentação. Como essa diferença foi pequena, já que a recuperação foi baixa, essa diferença foi desprezada no caso deste estudo já que a importância maior foi dada a valores comparativos de remoção dos contaminantes.

#### **4.2.2 - Etapa Preliminar**

Após a importação e chegada do equipamento, foi iniciada a etapa de montagem do sistema experimental. Como a nanofiltração utiliza pressões elevadas (em torno de 1000kPa), para funcionamento do sistema foi necessário a utilização de tubulações, conexões e uma bomba com características compatíveis com essas pressões.

Quanto às tubulações e conexões, para minimizar a adsorção do contaminante no sistema, optou-se por peças em aço inox. Houve dificuldade de se encontrar essas peças em Brasília, principalmente conexões, que tiveram que ser adquiridas de uma empresa em São Paulo. A confecção das roscas nas tubulações para encaixe das conexões foi realizada na própria Universidade de Brasília.

Inicialmente, optou-se por aproveitar uma bomba da marca Leeson/Procon de 1HP, já existente no laboratório de Análise de Água da UnB e que fazia parte de um sistema de Osmose Reversa (portanto com características suficientes para nanofiltração) doado ao LAA. Como a bomba era importada e sua ligação era em corrente contínua, com voltagem e amperagem não comumente utilizadas no Brasil (24 volts, 50 A), houve a necessidade de confecção de uma fonte específica para ligação elétrica da bomba. Infelizmente, após diversas tentativas foi descartada a hipótese de uso dessa bomba, pois o ajuste da fonte não ficou adequado, o que estava comprometendo o funcionamento da bomba, que esquentava excessivamente e não suportaria o tempo de execução dos ensaios.

Assim, foram pesquisados diversos tipos de bombas e optou-se pela aquisição de uma nova bomba centrífuga com 16 estágios, que após diversos contatos, foi gentilmente cedida para Universidade de Brasília pela empresa Vanbro. Com todo o sistema de separação instalado, foram iniciados os testes preliminares que tinham objetivo de avaliar a ocorrência de vazamentos e o comportamento térmico do sistema trabalhando sob pressão. A preocupação especial com o comportamento térmico do sistema estava associada ao fato de que havia recirculação do concentrado e com isso a possibilidade de ocorrência de aquecimento excessivo na água de estudo. De fato, essas suspeitas se mostraram com fundamento uma vez que no primeiro teste com circulação de água mili-Q, a temperatura da água de estudo no reservatório de alimentação atingiu cerca de 40°C em apenas 20 min, com uma vazão de concentrado de cerca de 4 L/min.

Assim, novos testes, que incluíam a avaliação de um sistema simples de controle de temperatura no reservatório de alimentação, foram realizados. Optou-se, também, por utilizar um inversor de frequência para controlar a rotação da bomba e evitar um aquecimento excessivo do motor por causa de eventuais estrangulamentos no registro para controle da vazão.

Esses testes foram realizados com 15 L de água mili-Q filtrados através de membrana de acetato de celulose, mais sensível à temperatura, durante 5 horas, uma hora sob pressão de 1000kPa (a ser utilizada no condicionamento da membrana) e o restante, na pressão de trabalho de cerca de 689kPa. A vazão do concentrado foi de cerca de 4 L/min (controlada pelo rotâmetro). Foi testada a utilização de gelo dentro de alguns recipientes e intervalos de tempo adequados para a troca desse agente refrigerante.

Com objetivo de manter a temperatura da água no reservatório em torno de 25°C ao longo da duração de cada ensaio, concluiu-se que a forma de refrigeração utilizada seria por meio da introdução de um recipiente cilíndrico de inox, para evitar contaminação da amostra, no reservatório de alimentação (Figura 4.10). Esse recipiente era preenchido com água e cubo de gelo (de aproximadamente 2L), que era trocado a cada 30/35min. Com essa conformação obteve-se uma temperatura de 25°C (no máximo 26°C) para a pressão de trabalho. Para a pressão de 1000kPa a temperatura ficou em média igual a 27°C. Como essa pressão seria utilizada num período curto de tempo (1 hora) e só para condicionamento da membrana optou-se em não mudar a refrigeração escolhida.

Cogitou-se, também, a utilização de outras opções de refrigeração que poderiam ser mais eficientes, como o uso de serpentinas. No entanto, a viabilização dessa opção demandava tempo e recursos financeiros não disponíveis naquele momento.

Durante os testes também, foram realizados os últimos ajustes na instalação para correção de vazamentos ainda existentes.



Figura 4.10 - Fotos do esquema de refrigeração da água de estudo

### 4.2.3 - Etapa 1-Ensaio de nanofiltração para água do Tipo I

Os procedimentos e rotina de ensaios executadas na Etapa 1 foram as descritas no item 4.2.1 com as especificidades descritas a seguir.

Como comentado no item 4.1.3 a água de estudo da Etapa 1 foi contaminada com 10 $\mu$ g/L de  $\beta$ -estradiol, portanto a preparação da água de estudo consistia da colocação de 150  $\mu$ L em 15L de água mili-Q.

Nos ensaios da Fase1-Etapa1 o pH da água de estudo não foi corrigido, ficando em torno de 5 e monitorado a cada 2 horas. Após execução de todos os ensaios dessa Fase, a membrana que apresentou melhor remoção de  $\beta$ -estradiol foi utilizada para se testar a influência do pH na eficiência de remoção do contaminante.

Os testes para avaliação da influência do pH foram realizados com pH em torno de 10,5. Esse valor de pH foi escolhido com base nos resultados dos estudos realizados por Nghiem *et al.* (2003) e Bellona *et al.*, (2004) que indicavam que a adoção de um valor de pH da solução acima do valor de pKa da substância (10,4 é o valor do pKa do estradiol), a adsorção da substância era reduzida e a eficiência de remoção é prejudicada. O estudo de Nghiem *et al.* (2003) sugeria que o  $\beta$ -estradiol poderia ter o mesmo comportamento que a estrona que foi o composto avaliado em seu estudo. No entanto, cabe salientar que esse valor de pH não é comumente usado para o tratamento de água para abastecimento e foi utilizado neste trabalho para avaliação e entendimento do impacto de um valor de pH elevado nos mecanismos de remoção da membrana.

Para se obter o valor de pH próximo de 10,5, o valor de pH da amostra foi corrigido com adição de solução 1M NaOH. Todos os outros procedimentos descritos nas fases da rotina de ensaios (item 4.2.1) foram realizados. A Fase 4 da rotina experimental (Dessorção) foi realizada apenas em ensaios realizados com valor de pH igual a 5.

Para o primeiro ensaio da Fase1-Etapa1 (pH $\approx$ 5) a duração total foi de 4 horas com retirada de amostra a cada uma hora. Nos ensaios seguintes, esse tempo foi ampliado para até 12 horas em função da verificação de que em quatro horas a remoção do  $\beta$ -estradiol não alcançava uma estabilidade. Em todos os outros ensaios as amostras foram retiradas a cada



duas horas. O volume de cada amostra do concentrado e do permeado retirado para quantificação do  $\beta$ -estradiol foi de 10 mL.

Amostras do tanque de alimentação, depois do início do ensaio, foram retiradas somente nos dois primeiros ensaios. Depois disso, optou-se, por causa da facilidade na retirada da amostra, por coletar somente amostras do concentrado, já que as duas representavam quase a mesma informação.

#### **4.2.4 - Etapa 2 - Ensaios de nanofiltração para água do Tipo II**

A água de estudo da Etapa 2 foi contaminada com solução produzida a partir da lise e posterior separação do cultivo de *Cylindrospermopsis raciborskii*, que contém saxitoxinas e outros compostos intracelulares. Como mencionado no item 4.1.3, a concentração das saxitoxinas na água de estudo variou em função do cultivo da cianobactéria, e a preparação da água de estudo consistiu na mistura de 7,5L de água mili-Q e 7,5L do cultivo submetido a lise e remoção de resíduos por separação.

Na Etapa 2, o pH da água de estudo na Fase 1 (sem correção de pH) ficou em torno de 7. Durante a Fase 2 - Etapa 2 a influência do pH foi avaliada, para a membrana com melhor remoção de saxitoxinas na Fase 1, em dois ensaios realizados com pH da água de estudo corrigidos para valor de pH igual 5 (com aplicação de HCl) e valor de pH igual a 10,5 (com aplicação de NaOH). Esses valores de pH foram escolhidos para permitir melhor comparação dos ensaios de remoção de saxitoxinas com os resultados da água contaminada com  $\beta$ -estradiol. O ensaio de Dessorção (fase 4 da rotina de experimental) foi realizado somente para os ensaios em pH 5 e 10,5.

Baseando-se nos ensaios realizados com  $\beta$ -estradiol, o tempo de duração dos ensaios com água contendo saxitoxinas (Fase1-Etapa2) foi de 10h. Esse tempo foi posteriormente reduzido para 8h nos ensaios com correção do pH (Fase 2), visto que a remoção das saxitoxinas parecia alcançar um equilíbrio mais rapidamente do que o  $\beta$ -Estradiol. A retirada das amostras para análise foi sempre a cada duas horas.

Nos ensaios da Fase 2-etapa2 foi, também, realizada uma avaliação da degradação natural das saxitoxinas. Antes do início do experimento foi retirada do tanque de alimentação uma

amostra de 100 ml e colocada num bequer que ficou sobre agitação durante todo experimento. Alíquotas de 10 ml desse bequer foram retiradas no início e final do experimento para verificar se o valor de pH, por si, favorecia na degradação da toxina. Esse controle foi realizado com base nas informações da literatura de que sob condição de pH alcalino as saxitoxinas tornam-se mais instáveis.

### **4.3 - MÉTODOS ANALÍTICOS**

#### **4.3.1 - ELISA**

O método de detecção do hormônio  $\beta$ -estradiol adotado neste trabalho foi o ELISA (“Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay”), por causa de sua alta sensibilidade e pela rapidez na execução dos ensaios e análises. Rubio *et al.* (2002), por exemplo, analisaram, com excelentes resultados quanto acurácia e sensibilidade o uso do ELISA para detecção do  $\beta$ -Estradiol. Foram adquiridos Kits ELISA comerciais específicos para análise do  $\beta$ -estradiol e foram seguidos os procedimentos fornecidos pelo manual do fabricante.

Os kits são fabricados pela “Japan Enviro Chemical” conhecida como “Environmental Diagnosis”. A reatividade do Kit é de 100% para o  $\beta$ -estradiol e com limites de detecção entre 0,05 a 1,00  $\mu\text{g/L}$ . O manual do kit recomenda um pré-tratamento da amostra por meio de separação, no entanto como a água de estudo era preparada com água mili-Q tal procedimento não se fazia necessário.

A base de detecção dos imunensaios é a capacidade de anticorpos em reconhecer e formar complexos estáveis com antígenos. Imunoensaios empregam anticorpos como reagentes analíticos. Os anticorpos específicos são capazes de se ligar ao analito, no caso o  $\beta$ -estradiol, da amostra, enquanto os conjugados antígeno-enzima competem com o analito pelos sítios de ligação disponíveis nos anticorpos (Figura 4.11).

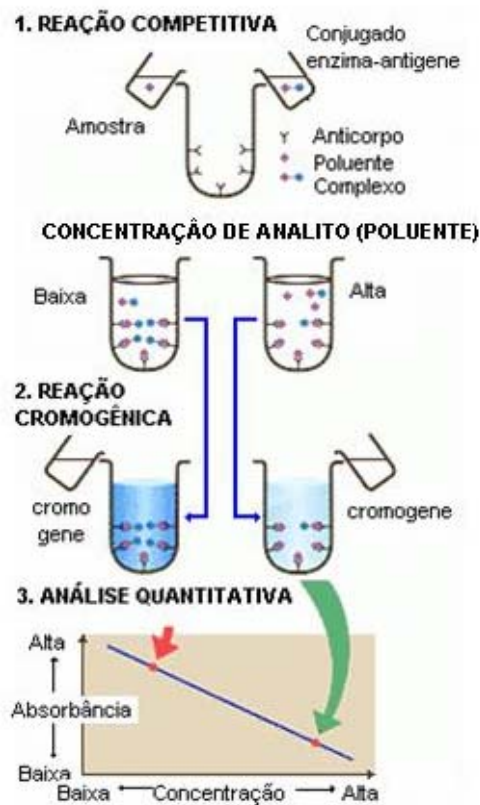


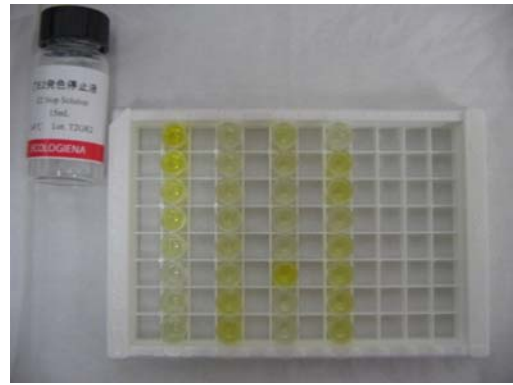
Figura 4.11 - Etapas do ensaio ELISA (Japan EnviroChemicals, 2005 - modificado).

Assim, o procedimento do ensaio consiste em colocar uma mistura de amostra e conjugado antígeno-enzima numa placa sensibilizada com o anticorpo e incubá-la por um período determinado para garantir que todos os sítios de ligação foram ocupados. Em seguida, é promovida uma lavagem da placa para retirada do excesso de analito e conjugado antígeno-enzima que não se ligaram aos anticorpos, para evitar interferências na análise. Após a lavagem, adiciona-se um substrato de cor (Figura 4.12a). Esse substrato em presença da enzima do conjugado promove a coloração da mistura, assim quanto menor a concentração de  $\beta$ -estradiol, mais intensa é a cor, pois os sítios dos anticorpos estarão ocupados com o conjugado antígeno-enzima. Após período de incubação, deve ser adicionada uma solução de parada (Figura 4.12b) para cessar a ação da enzima que promove a cor e permitir a leitura da intensidade de cor.

A intensidade da cor é quantificada pela medida da densidade ótica da mistura (absorbância). Para fazer essa medida, utilizou-se de uma leitora ELISA (Bio-Rad, modelo 550) e um filtro especial para leitura em comprimento de onda de 450nm. Na Figura 4.13, tem-se a ilustração da leitora ELISA utilizada nos ensaios.



(a)



(b)

Figura 4.12 - Vista da placa de Elisa (a) após adição do substrato de cor, (b) após adição da solução de parada



Figura 4.13 - Leitor de ELISA

Com o valor da densidade ótica é possível determinar a concentração do contaminante presente na amostra. Para isso deve-se traçar, para cada ensaio proposto, a curva de calibração padrão. Essa curva relaciona de forma inversamente proporcional a concentração do contaminante e a densidade ótica, dentro do intervalo limite de análise proposto pelo kit. O kit fornece cinco calibradores ( $0,00 \mu\text{g } \beta\text{-estradiol/L}$ ;  $0,05 \mu\text{g } \beta\text{-estradiol/L}$ ;  $0,15 \mu\text{g } \beta\text{-estradiol/L}$ ;  $0,40 \mu\text{g } \beta\text{-estradiol/L}$  e  $1,00 \mu\text{g } \beta\text{-estradiol/L}$ ).

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

Nesse trabalho não foi necessário fazer extração/concentração das amostras, tendo em vista que os experimentos foram previamente elaborados para que se atingissem concentrações residuais dentro dos limites dos kits.

### 4.3.2 - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE

No caso das saxitoxinas, o método utilizado para análise foi o da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detector de fluorescência, por ser o método analítico mais comumente empregado (Oshima *et al.*, 1995).

A metodologia usada para detecção de saxitoxinas baseou-se na rotina descrita por Oshima *et al.* (1995). A única diferença entre o método proposto por Oshima *et al.* (1995) e o empregado neste trabalho reside na utilização da coluna C-18 ao invés da C-8, pelo fato da coluna C-18 ter demonstrado uma maior capacidade de separação das frações cromatográficas, quando testes foram realizados no Laboratório de Toxinologia/UnB para análise de saxitoxinas (Arantes, 2004).

O sistema CLAE para análise de saxitoxinas consiste de três bombas (Shimadzu LC-20AT), uma para alimentação da fase móvel, uma para injeção do reagente oxidante e a outra para injeção do reagente acidificante; um injetor de amostra com loop de 20 $\mu$ L; uma coluna de fase reversa (Fusion-RP 80A, C-18, 150 x 4,6 mm, 4 micron - Phenomenex); um reator pós-coluna constituído de um tubo de Teflon aquecido a 80°C (Forno Shimadzu CTO-20A) e um detector de fluorescência (Shimadzu RF-10AXL). Além de um sistema de controle (Shimadzu CBM-20A) e um degasseificador (Shimadzu DGU-20A5). A Figura 4.14 apresenta uma foto do equipamento utilizado e a Tabela 4.2 mostra as principais características do método.



Figura 4.14 - Equipamento de CLAE utilizado na pesquisa

Tabela 4.2 - Condições que foram adotadas para a análise de saxitoxinas (Oshima et al., 1995).

<b>Parâmetro</b>	<b>Condição ou descrição</b>
<i>Coluna</i>	Coluna de fase reversa C-18 - phenomenex
<i>Fase móvel (para saxitoxinas)</i>	
Vazão	0,8 mL/min
Composição	Heptanosulfonato de sódio (2mM) em tampão fosfato de amônio (30mM), pH 7,1
<i>Reagente oxidante</i>	
Vazão	0,4 mL/min
Composição	Ácido periódico (7mM) em tampão fosfato de sódio (10mM ), pH 9,0
Reação	Tubo de Teflon (10m, 0,5mm d.i) aquecido a 80°C
<i>Acidificante</i>	
Vazão	0,4 mL/min
Composição	Ácido Acético (500mM)
<i>Deteccção</i>	
Excitação	330 nm
Emissão	390 nm

Para realização da análise, injeta-se um volume de 20 µL da amostra no equipamento de CLAE. A amostra é conduzida até a coluna por meio da fase móvel. As substâncias que constituem a fase móvel, que são apresentadas na Tabela 4.6, permitem que as saxitoxinas e compostos interferentes adsorvam na coluna, promovendo a separação desses compostos em um dado tempo de retenção, o que permite sua posterior deteção.

A amostra após passar pela coluna, recebe continuamente o agente oxidante e durante a passagem pelo tubo de Teflon é oxidada formando produtos que apresentam fluorescência, o que permite a deteção das saxitoxinas no fluorímetro. O reagente acidificante é utilizado para parar a reação antes da deteção no fluorímetro. A informação obtida no detector é enviada para um microcomputador acoplado ao aparelho de CLAE e obtém-se uma curva (cromatograma), cuja área sob os picos específicos, identificados pelo tempo de retenção, fornece a concentração das saxitoxinas presentes na amostra. A Figura 4.15 apresenta, de forma esquemática, o sistema CLAE descrito.

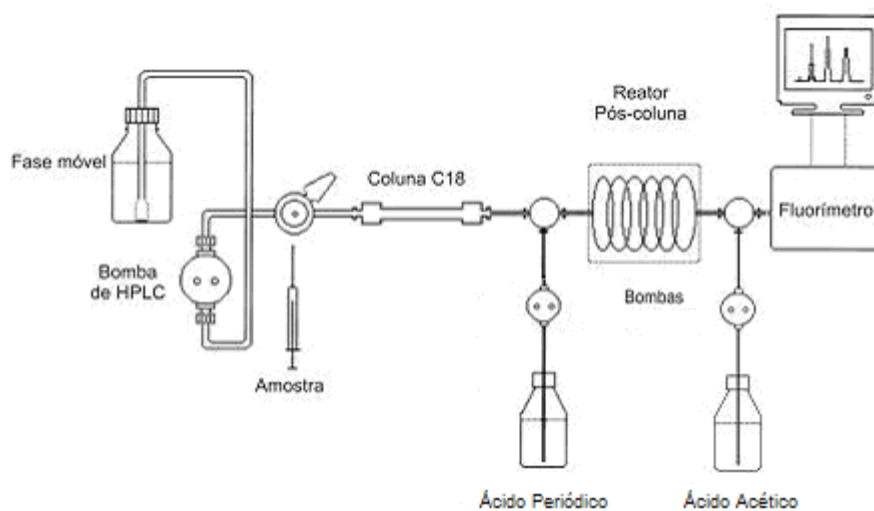


Figura 4.15 - Sistema de CLAE com reator pós-coluna para a análise de saxitoxinas (Chen e Chou 2002, modificado)

Para quantificação das saxitoxinas, faz-se necessária a construção de curvas de calibração para cada variante das saxitoxinas, utilizando-se padrões com concentrações conhecidas.

Nesta pesquisa foram construídas e analisadas as curvas de calibração da saxitoxina (STX), dc-saxitoxina (dc-STX) e neo-saxitoxina (Neo-STX). Apesar de indícios de que a cepa T3 da *Cylindrospermopsis raciborskii* cultivada no LAA também produza GTX, confirmada por testes feitos com um padrão de GTX e a comparação dos tempos de retenção deste e de uma amostra do experimento, essa toxina não foi avaliada visto que a fase móvel utilizada não permite a separação das variantes de GTX e sua quantificação.

O limite mínimo de detecção do CLAE utilizado foi de  $6\mu\text{g/L}$  para a Neo-STX e de  $3\mu\text{g/L}$  para a STX e dc-STX. Devido aos baixos limites, as amostras não foram submetidas ao processo de concentração e, também, pela não existência de um método padronizado ou reconhecidamente efetivo para concentração de saxitoxinas. O único pré-tratamento realizado precedendo a injeção da amostra no equipamento, foi a separação em filtro de PVDF (fluoreto de polivinilideno) com  $0,22\mu\text{m}$  de abertura para retirada de possíveis particulados que podem prejudicar a coluna cromatográfica.

## 5 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 5.1 - ETAPA 1 - ENSAIOS DE NANOFILTRAÇÃO PARA ÁGUA DO TIPO I (MILI-Q + $\beta$ -ESTRADIOL)

#### 5.1.1 - Considerações iniciais

Primeiramente, foram realizados os ensaios com a membrana de acetato de celulose (tipo A), cujas características foram descritas no item 4.1.2. A Tabela 5.1 apresenta algumas características dos quatro ensaios realizados. A pressão de trabalho foi de 689kPa e a vazão de alimentação constante e igual a 3,6 L/min, o que, levando em consideração as dimensões da célula de separação e espaçador, resulta numa velocidade tangencial de aproximadamente 0,4 m/s.

Tabela 5.1 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo I, pH em torno de 5 e membranas de acetato de celulose (tipo A)

	Ensaio MAC1	Ensaio MAC2	Ensaio MAC3	Ensaio MAC4
Duração do ensaio (h)	4	6	6	10
Valor de pH	5,0 -5,5	4,8-5,5	4,9-5,5	4,8-5,4
Temperatura da água no reservatório durante o ensaio propriamente dito	23°C-25°C	24°C -25°C	24°C -25°C	24°C -26°C
Vazão do permeado durante a condicionamento <sup>(a)</sup> (mL/min)	6,0	6,7	6,4	6,5
Média da vazão do permeado durante ensaio (mL/min)	2,8	3,4	3,5	3,5
Concentração final do permeado ( $\mu\text{g/L}$ )	0,44	2,64	2,3	2,45
Concentração inicial do concentrado ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>(b)</sup>	9,0	8,6	16,4	7,2
Concentração final do concentrado ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>(c)</sup>	3,6	5,0	4,4	5,5

(a) condicionamento realizado durante 1 hora com água mili-Q sob pressão de 1000kPa; (b) medida pela amostra coletada no reservatório; (c) medida pela amostra coletada no concentrado.



Cada ensaio foi realizado com uma membrana nova e valor de pH em torno de 5, valor este do pH natural da água mili-Q, uma vez que não houve correção de pH nessa fase. A temperatura da água foi mantida próxima a 25°C por meio de processo de controle. O volume de amostra coletado para análise da concentração de  $\beta$ -estradiol pelo ELISA foi de 10mL para cada amostra, tanto do permeado, quanto do concentrado. Importante observar que embora a proposta original fosse de realizar os ensaios com uma concentração de 10  $\mu\text{g/L}$  na água de estudo, isso não aconteceu, provavelmente devido a falhas na medição do volume de solução estoque de  $\beta$ -estradiol a ser adicionada à água mili-Q. A concentração inicial em nenhum dos casos alcançou os 10  $\mu\text{g/L}$ , ficando em sua maioria, entre 7 e 9  $\mu\text{g/L}$ . A concentração inicial do concentrado no ensaio MAC3 fugiu à tendência dos demais ensaios, o que pode ser devido a erros de diluições durante a determinação do  $\beta$ -estradiol pelo método ELISA.

A vazão do permeado apresentada na Tabela 5.1 para cada ensaio de nanofiltração propriamente dito foi calculada pela média das medições dos volumes de permeado produzidos em cada intervalo de tempo das amostragens. Durante os ensaios, observou-se, que na primeira hora de operação o volume de permeado era menor do que nas horas seguintes, pois o sistema ainda não se encontrava estabilizado. Observação válida também para os resultados da membrana composta (Tipo B) apresentados no item 5.2.

Levando em consideração a área efetiva de separação de 140  $\text{cm}^2$  da membrana e a vazão de 3,5  $\text{mL/min}$  (valor predominante nos ensaios), obtém-se uma taxa de fluxo de permeado de 15  $\text{L/m}^2\cdot\text{h}$ . Considerando a vazão do concentrado, que foi mantida aproximadamente constante em todos os experimentos (3,6  $\text{L/min}$ ), a taxa de recuperação de água (vazão permeado/vazão concentrado) nos ensaios da água tipo I com a membrana de acetato de celulose foi cerca de 0,1%, considerada muito baixa se comparada a módulos comerciais (10% ou mais dependendo do arranjo adotado, segundo Mierzwa, 2006)

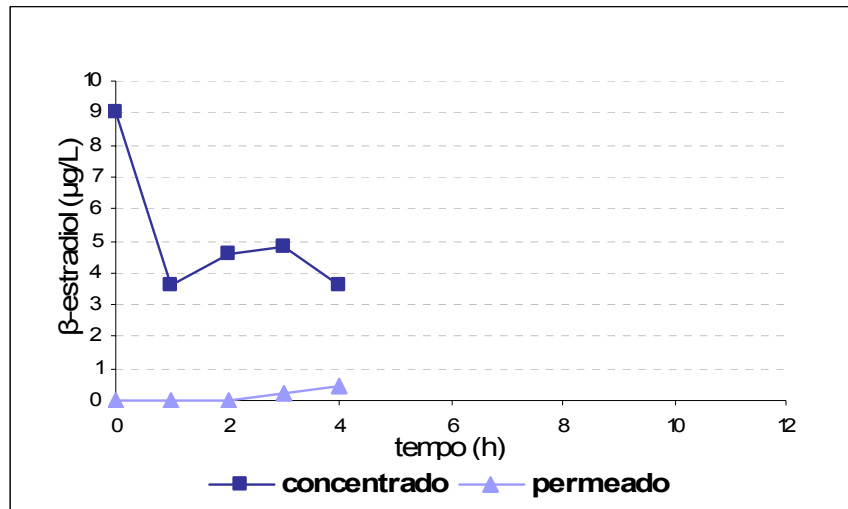
Uma recuperação um pouco maior, sem alteração da pressão e do espaçador da membrana, poderia ter sido alcançada se a vazão de alimentação (concentrado) fosse menor. No entanto, optou-se por uma vazão maior e, portanto, uma velocidade tangencial maior para se evitar os efeitos da polarização da concentração na superfície da membrana. Cabe salientar, que a vazão de alimentação não altera diretamente a vazão do permeado, então, como a vazão de permeado já é baixa seria necessário uma redução muito grande para uma

vazão de concentrado de cerca de 0,035L/min para se obter um recuperação de 10%, o que reduziria muito a velocidade.

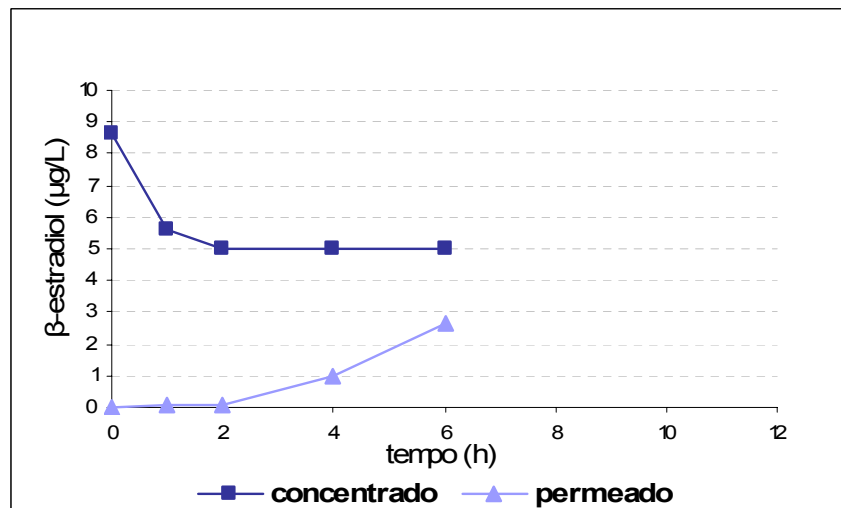
Quanto à influência da velocidade tangencial na eficiência de remoção do  $\beta$ -estradiol, a literatura é controversa, como discutido no Capítulo 3. McCallum (2005) observou menores remoções do  $\beta$ -estradiol em membranas de nanofiltração do tipo composta de poliamida, no estado de equilíbrio, com a velocidade tangencial de 0,13 m/s (70% de remoção), do que para a velocidade de 0,4 m/s (80-85%), sendo esta última a mesma velocidade tangencial adotada no presente trabalho. Nghiem *et al.* (2004a) não verificaram alteração na remoção do estrona (hormônio com estrutura similar ao do  $\beta$ -estradiol) por membrana de nanofiltração do tipo composta de poliamida-uréia numa faixa de variação de 0,073m/s a 0,24m/s.

As Figuras 5.1 e 5.2 apresentam as concentrações de  $\beta$ -estradiol no permeado e no concentrado ao longo da duração de cada ensaio apresentado na Tabela 5.1.

Como pode ser visto na Figura 5.1(a), a concentração de  $\beta$ -estradiol no permeado e no concentrado não atingiram um estado de equilíbrio após 4 horas de duração do ensaio. Dessa forma, com o objetivo de se atingir estado de equilíbrio e buscar obter um valor de remoção de estradiol mais próximo do real, aumentou-se o tempo de duração do ensaio para até dez horas (ver Tabela 5.1).

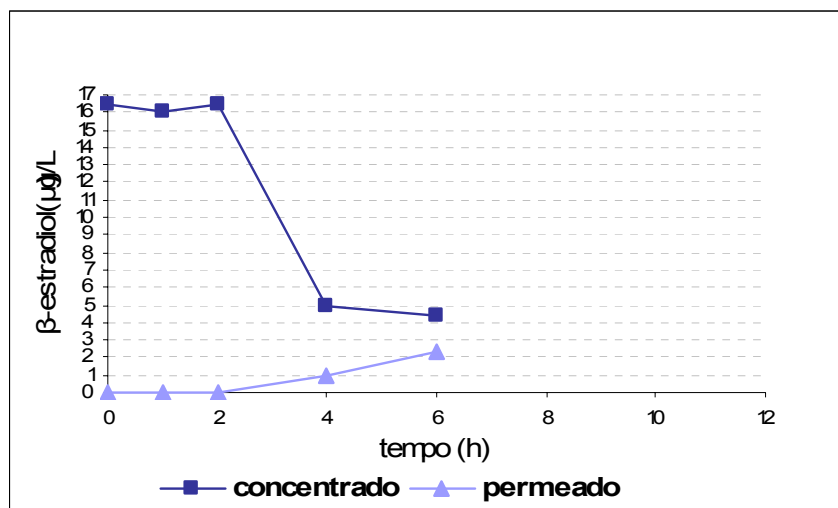


(a)

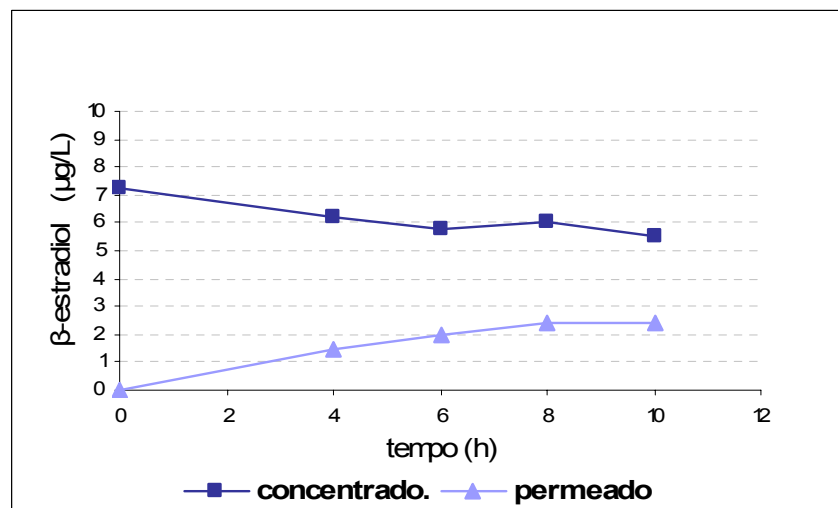


(b)

Figura 5.1 - Ensaios de nanofiltração para água tipo I (mili-Q+  $\beta$ -estradiol) e membrana de acetato de celulose (tipo A), velocidade tangencial= 0,4m/s, pressão=689kPa, pH  $\approx$  5.  
(a) ensaioMAC1, (b) ensaioMAC2.



(a)



(b)

Figura 5.2 - Ensaio de nanofiltração para água tipo I (mili-Q+  $\beta$ -estradiol) e membrana de acetato de celulose (tipo A), velocidade tangencial= 0,4m/s, pressão=689kPa, pH  $\approx$  5. (a) ensaioMAC3, (b) ensaioMAC4

Apesar de resultados absolutos diferentes, as curvas mostradas nas Figuras 5.1 e 5.2 apresentam comportamentos qualitativos semelhantes. A concentração de  $\beta$ -estradiol no permeado foi bastante baixa nas duas primeiras horas e cresceu com o tempo de duração do ensaio até que se aproximou de um equilíbrio em torno da oitava hora, mantendo a concentração em torno de 2,5  $\mu\text{g/L}$  entre a oitava e décima hora (Figura 5.2 (b)). A concentração de  $\beta$ -estradiol no concentrado apresentou um decaimento sensível com relação à concentração inicial, o que sugere a ocorrência de adsorção de  $\beta$ -estradiol na membrana, aspecto que é discutido com mais detalhe no item 5.1.2. Esse decaimento, de um modo geral, foi mais acentuado nas duas primeiras horas.

Como pode ser visto dos resultados mostrados nas Figuras 5.1 e 5.2, durante os ensaios foram coletadas somente amostras do permeado e concentrado, optando-se por não coletar amostras do reservatório de alimentação, com exceção de uma amostra para controle da concentração inicial. Como houve recirculação do concentrado, as informações obtidas das amostras do concentrado e do reservatório seriam a mesma. Isso pôde ser confirmado durante a realização de um dos ensaios no qual se coletou as amostras tanto do concentrado como do reservatório de alimentação (Figura 5.3). Na Figura 5.3 pode-se observar que as concentrações são bem semelhantes.

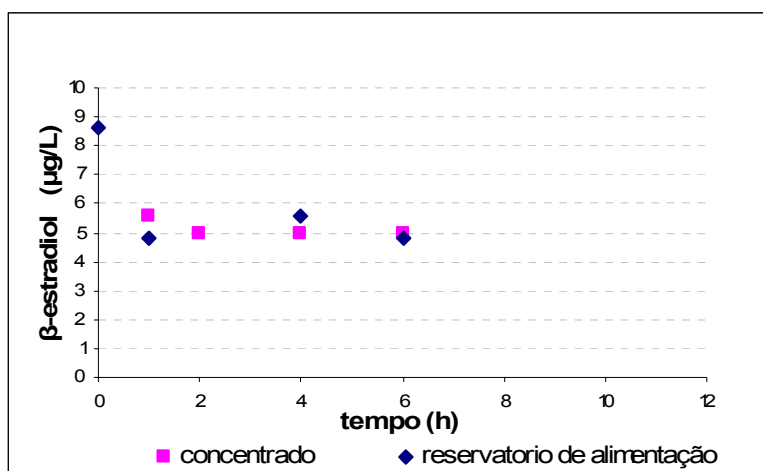


Figura 5.3 - Comparação entre amostras retiradas do concentrado e reservatório de alimentação

Da mesma forma que para a membrana de acetato de celulose (tipo A), os ensaios para a membrana composta (tipo B), cujas características foram apresentadas no item 4.1.2, foram realizados sob pressão de trabalho de 689kPa, vazão do concentrado igual a 3,6 L/min e valor de pH em torno de 5. No entanto, para membrana tipo B os ensaios já tiveram, inicialmente, durações maiores. A Tabela 5.2 apresenta algumas características dos três ensaios realizados.

Comparando-se a Tabela 5.2 com a Tabela 5.1, pode-se observar que a produção de água na membrana composta (vazão do permeado) foi, em geral, um pouco maior que na membrana de acetato de celulose tanto para água limpa, durante o condicionamento, quanto para água contaminada com β-estradiol, durante o ensaio propriamente dito. A taxa de fluxo de permeado para a membrana composta durante o ensaio apresentou um valor mínimo de 15,9 L/m<sup>2</sup>.h no ensaio MCP1 e um valor máximo de 18,9 L/m<sup>2</sup>.h no ensaio MCP3. No entanto, o aumento não foi suficiente para notadamente afetar a taxa de

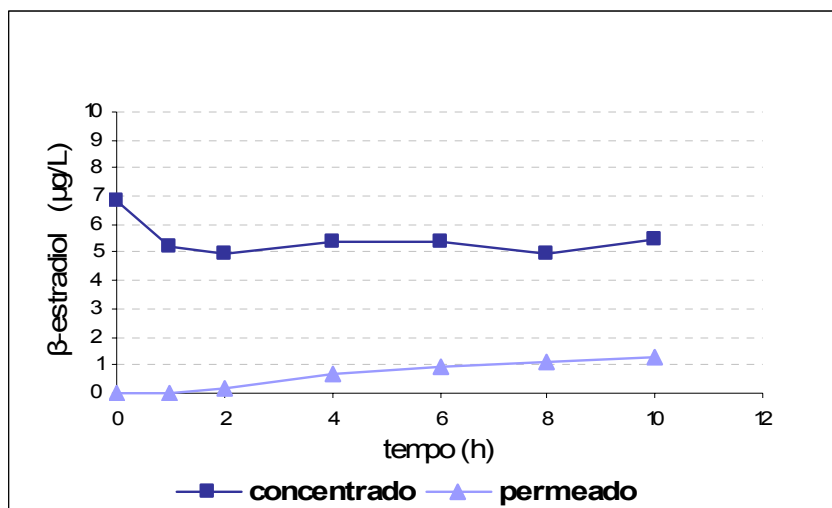
recuperação de água que continuou baixa, em cerca de 0,1%. Houve uma diferença de cerca de 19% entre a vazão do permeado da membrana utilizada no ensaio MCP3 e no ensaio MCP2. Acredita-se que essa diferença possa ocorrer entre membranas de lotes e cortes diferentes.

Tabela 5.2 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo I, valor de pH em torno de 5 e membranas compostas (tipo B)

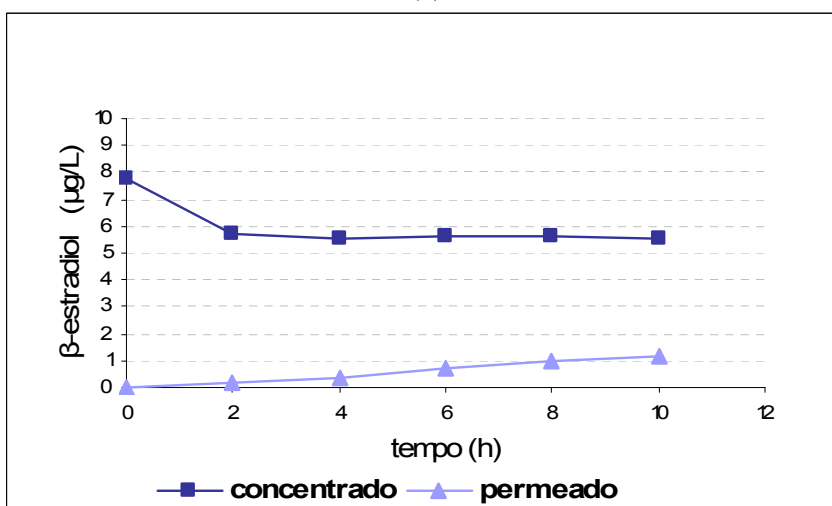
	Ensaio MCP1	Ensaio MCP2	Ensaio MCP3
Duração do ensaio (h)	10	10	12
Valor de pH	4,7-5,5	4,8-5,6	5,0-5,8
Temperatura da água no reservatório durante o ensaio propriamente dito	24°C-25°C	24°C-25°C	24°C-26°C
Vazão do permeado durante o condicionamento (mL/min)	7,3	5,9	7,2
Média da vazão do permeado durante ensaio (mL/min)	4,0	3,7	4,4
Concentração final do permeado ( $\mu\text{g/L}$ )	1,3	1,2	2,6
Concentração inicial do concentrado ( $\mu\text{g/L}$ )	6,8	7,8	9,6
Concentração final do concentrado ( $\mu\text{g/L}$ )	5,5	5,5	6,4

Outra observação, válida tanto para os ensaios com a membrana de acetato de celulose (tipo A) quanto para os ensaios com a membrana composta (tipo B), é que não houve redução da vazão de permeado, que se manteve praticamente constante ao longo do tempo de duração do ensaio, com exceção da primeira hora quando o sistema estava em fase de estabilização. Como os outros parâmetros operacionais (pressão e velocidade tangencial) foram mantidos constantes, isso indica que não houve problema de depósitos na membrana e obstruções de poros e nem alterações em suas características físicas que pudessem alterar a vazão. Esse comportamento era esperado já que a concentração de  $\beta$ -estradiol era baixa e para composição da água de estudo foi utilizada água deionizada, não havendo particulados, matéria orgânica ou outras substâncias que pudessem causar depósitos na membrana.

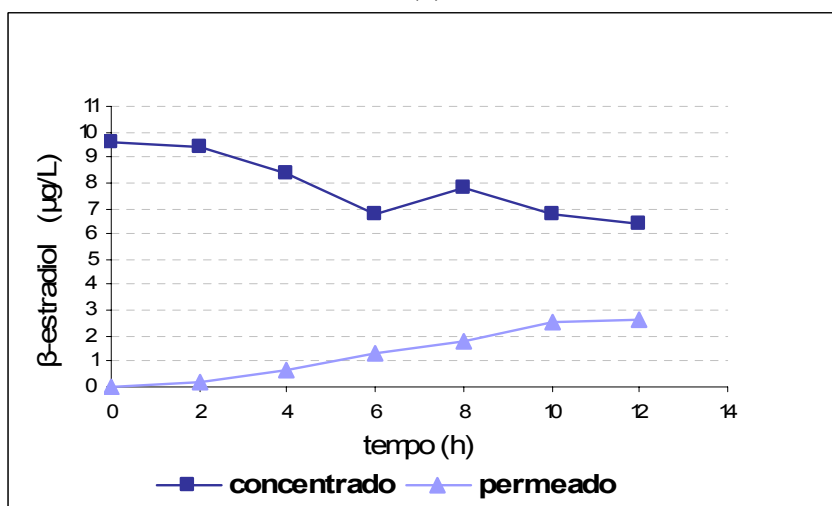
A Figura 5.4 apresenta as concentrações de  $\beta$ -estradiol no permeado e no concentrado ao longo da duração de cada ensaio com a membrana composta (tipo B).



(a)



(b)



(c)

Figura 5.4 - Ensaio de nanofiltração para água tipo I (mili-Q+  $\beta$ -estradiol) e membrana composta (tipo B), velocidade tangencial=0,4m/s, pressão=689kPa, pH $\approx$ 5. (a) ensaio MCP1, (b) ensaio MCP2, (c) ensaio MCP3

Os resultados dos ensaios com a membrana composta (Figura 5.4) também apresentaram comportamentos qualitativos similares entre si, sendo que o ensaio MCP1 e MCP2 foram mais semelhantes, parecendo traduzir melhor o comportamento desta membrana composta do que o ensaio MCP3, apesar de que seriam necessários mais repetições dos ensaios para essa confirmação. A concentração de  $\beta$ -estradiol no permeado, da mesma forma que para membrana de acetato de celulose (tipo A), cresceu com o tempo de duração do ensaio, tendendo a um equilíbrio entre a oitava e décima hora. A concentração de  $\beta$ -estradiol no concentrado também apresentou uma diminuição com relação à concentração inicial, o que sugere adsorção de  $\beta$ -estradiol, também, na membrana composta. Essa diminuição foi mais acentuada nas duas primeiras horas, com exceção do ensaio MCP3 (Figura 5.4c). A concentração inicial em nenhum dos casos alcançou os 10  $\mu\text{g/L}$  previstos, como mostra a Tabela 5.2.

### **5.1.2 - Eficiência de remoção e mecanismos**

Como visto no Capítulo 3, a adsorção e peneiramento são os mecanismos que geralmente fundamentam o processo de remoção de contaminantes orgânicos em membranas de nanofiltração. Além, disso, se o contaminante for eletricamente carregado poderá haver interações eletrostáticas que interferem na remoção.

A partir dos dados e das observações iniciais sobre os ensaios, descritas no item 5.1.1, são discutidos no presente item as hipóteses sobre os mecanismos atuantes na remoção do  $\beta$ -estradiol pelas membranas estudadas e alguns fatores que podem ter influenciado esses mecanismos. Salienta-se que seria necessário um número maior de repetições dos ensaios, talvez com duração ainda maior, para se chegar a uma conclusão definitiva a cerca do comportamento das membranas e do  $\beta$ -estradiol no processo de remoção deste contaminante.

A remoção de  $\beta$ -estradiol pelas membranas estudadas neste trabalho foi calculada com base na equação 3.2. A Figura 5.5 apresenta as curvas de remoção de  $\beta$ -estradiol ao longo do tempo de duração do ensaio MAC4, para a membrana de acetato de celulose (tipo A) e do ensaio MCP2 para a membrana composta (tipo B). Dentre os ensaios realizados, esses dois foram selecionados, pois parecem melhor representar o comportamento das



membranas. Além disso, no caso da membrana tipo A, os ensaios de menores durações resultariam numa superestimação da remoção da membrana.

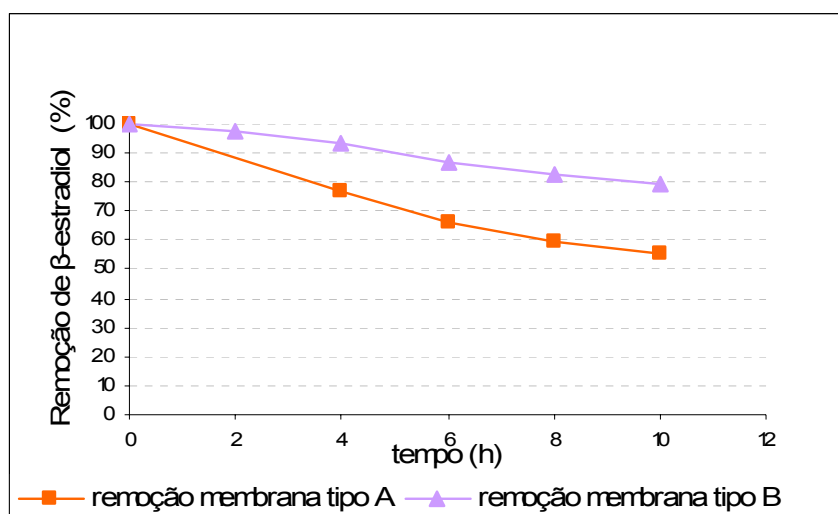


Figura 5.5 - Remoção de  $\beta$ -estradiol para água tipo I (mili-Q+  $\beta$ -estradiol), velocidade tangencial=0,4m/s, pressão=689kPa, pH $\approx$ 5. Ensaio MCA4 para membrana de acetato de celulose (tipo A) e ensaio MCP2 para membrana composta (tipo B)

A membrana composta (tipo B) apresentou maior porcentagem final de remoção do  $\beta$ -estradiol (aproximadamente 79%) do que a membrana de acetato de celulose (tipo A) (aproximadamente 55%). Provavelmente, os valores calculados ainda são superestimados, pois como se observa na Figura 5.4, não se chegou a uma estabilização plena na remoção.

Jin *et al.* (2007) utilizaram para a remoção do hormônio estrona (estrutura molecular parecida com o  $\beta$ -estradiol), a mesma membrana de acetato de celulose utilizada no presente estudo e uma membrana composta de poliamida do mesmo material e fabricante da membrana utilizada no presente trabalho, mas de modelo diferente (MWCO=490g/mol). Nesse estudo, os autores também obtiveram melhor eficiência de remoção para a membrana composta do que para a membrana de acetato de celulose. No entanto, as remoções foram menores do que as do presente trabalho, cerca de 17% de remoção de estrona para a membrana composta e 9% para a membrana de acetato de celulose. É interessante observar, também, que o padrão de comportamento da concentração do permeado e do concentrado ao longo do tempo foi similar ao do presente trabalho (diminuição da concentração do concentrado e aumento da concentração do permeado), no entanto, o equilíbrio na concentração do concentrado e do permeado no trabalho de Jin *et al.* (2007), diferentemente do presente trabalho, foi alcançado com cerca de 10h de duração

para as duas membranas estudadas. Cabe salientar que no estudo dos autores citados, a concentração inicial da estrona era menor que no presente trabalho (100 ng/L) e não foram informados dados de pressão de trabalho e velocidade tangencial para comparações mais detalhadas.

A partir da análise das curvas apresentadas nas Figuras 5.1, 5.2, 5.4 e 5.5 verifica-se que alcançar o estado de equilíbrio nos ensaios é uma condição importante para se verificar a real capacidade de remoção da membrana, principalmente se o contaminante apresentar tendência a adsorver na membrana, como já discutido por diversos autores (McCallum, 2005; Kimura *et al.*, 2004, Agenson *et al.*, 2003; Nghiem *et al.*, 2004a). As durações dos ensaios no presente trabalho foram limitadas pela disponibilidade e custos do kit ELISA utilizado para determinação da concentração de  $\beta$ -estradiol. O tempo inicial de duração dos ensaios no presente trabalho baseou-se no relato de alguns autores (McCallum, 2005; Nghiem *et al.*, 2004a), que utilizaram membranas do mesmo material das utilizadas neste trabalho (porém de fabricantes diferentes) e obtiveram o estado de equilíbrio em torno de 4 ou 5h de duração na remoção de hormônios similares. No entanto, McCallum (2005) no primeiro ensaio, para uma membrana de poliamida, utilizou uma duração de ensaio mais longa (24h) para identificar o tempo em que a remoção de estradiol estaria estabilizada (cerca de 4h). Sugere-se que esse procedimento seja adotado em trabalhos futuros para verificar a remoção do  $\beta$ -estradiol, no estado de equilíbrio.

No caso dos ensaios realizados no presente trabalho com valor de pH da água em torno 5, os mecanismos que parecem ter influenciado na remoção do  $\beta$ -estradiol foram a adsorção e o peneiramento, já que nesse valor de pH o  $\beta$ -estradiol é neutro e, portanto, não há tendência a haver interações eletrostáticas entre este contaminante e as membranas.

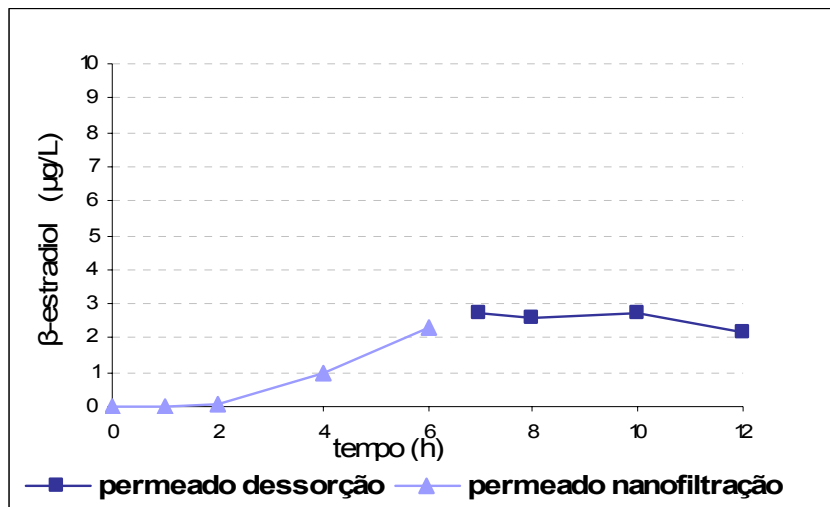
O fenômeno da adsorção de  $\beta$ -estradiol ocorreu para os dois tipos de membranas estudadas, o que pôde ser visualizado pela diminuição na concentração do concentrado ao longo do tempo de duração dos ensaios (Figuras 5.1, 5.2 e 5.4). Como o sistema foi construído em aço inox, e considera-se que a adsorção pelo sistema é desprezível, pode se considerar que foi adsorvida na membrana uma massa total igual a diferença verificada entre a massa do concentrado no início e no final do ensaio (somado a esta última a massa total do permeado, que era um valor muito pequeno).

Para a membrana de acetato de celulose (tipo A) no ensaio MAC4, a massa adsorvida de  $\beta$ -estradiol foi de aproximadamente 34  $\mu\text{g}$ , ou seja, uma adsorção de 0,24  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  de membrana. Para a membrana composta (tipo B) no ensaio MCP2 a adsorção de  $\beta$ -estradiol foi de aproximadamente 45  $\mu\text{g}$ , ou seja, uma adsorção de 0,32  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  de membrana. Observa-se também que a maior adsorção ocorreu, em geral, nas duas primeiras horas de ensaio. Para a membrana composta (tipo B), por exemplo, nas duas primeiras horas, houve uma redução de cerca de 33  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -estradiol na massa do concentrado, cerca de 75% do total adsorvido pela membrana.

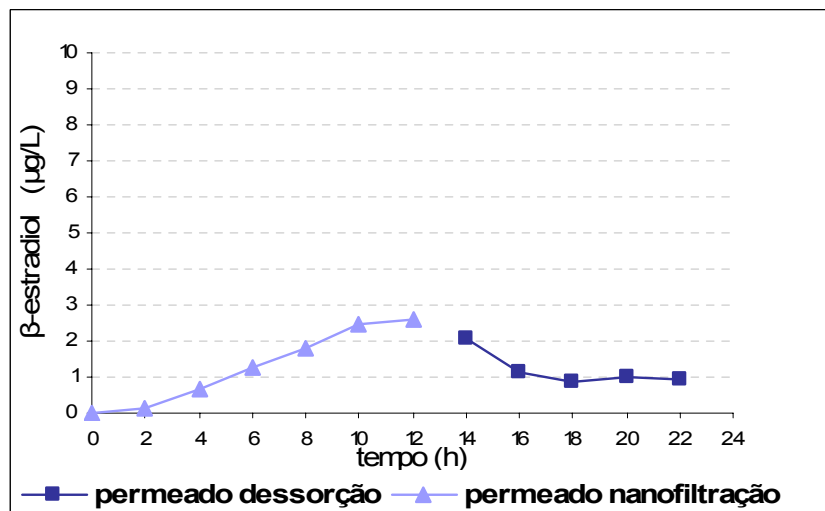
Esses valores não devem ser considerados em termos absolutos, pois se acredita que estão subestimados já que, principalmente para a membrana de acetato de celulose, a concentração do concentrado permaneceu com tendência decrescente até o tempo final do ensaio o que sugere que a adsorção do contaminante na membrana poderia ser maior. Outra observação, é que uma pequena parte da adsorção do  $\beta$ -estradiol possa ter ocorrido no espaçador e carreador de permeado, partes do sistema de separação que não são produzidas em aço inox. Segundo fabricante, a presença desses elementos no sistema de fluxo tangencial utilizado neste trabalho procura simular unidades em escala real que utilizam membranas em espirais, onde esses elementos (espaçador e carreador de permeado) podem ser considerados, portanto, parte da membrana. Aconselha-se que em estudos específicos sobre adsorção de contaminantes em membranas de nanofiltração sejam realizadas análises mais detalhadas para se saber a real taxa de adsorção do contaminante especificamente na membrana e no aparato experimental, o que não era objetivo do presente trabalho.

McCallum (2005) em seu trabalho com nanofiltração em membranas compostas de poliamida para remoção de  $\beta$ -estradiol, estimou a massa adsorvida na membrana por meio de um ensaio que denominou de ensaio de dessorção. Alimentando água deionizada no sistema por um período de tempo similar ao de operação, o autor sugere que a massa de  $\beta$ -estradiol presente no permeado resultante desse processo equivale a dessorção do  $\beta$ -estradiol adsorvido na membrana durante o ensaio para verificação da remoção do  $\beta$ -estradiol. No caso dos experimentos de McCallum (2004) os resultados da massa adsorvida estimada pelo ensaio de dessorção e pela diferença na concentração do concentrado durante o ensaio de separação foram similares.

No presente trabalho, dois ensaios de dessorção foram realizados para a membrana de acetato de celulose e um para membrana composta. Além das amostras do permeado, foram retiradas amostras iniciais e finais do tanque para se confirmar a concentração nula de  $\beta$ -estradiol na água de alimentação e concentrado. Em todos os casos essas concentrações foram abaixo de  $0,8 \mu\text{g/L}$  de  $\beta$ -estradiol. O primeiro ensaio realizado foi descartado já que as concentrações de  $\beta$ -estradiol nas amostras do permeado ficaram acima do limite de detecção do ELISA, pois não foram realizadas as diluições necessárias. Os resultados dos outros dois ensaios são apresentados na Figura 5.6.



(a)



(b)

Figura 5.6 - Ensaios de dessorção. Velocidade tangencial=0,4 m/s. pressão=689kPa, pH  $\approx$ 5. (a) Ensaio MAC3, membrana de acetato de celulose (tipo A); (b) Ensaio MCP3, membrana composta (tipo B)

Para a membrana tipo A, a soma das massas foi de apenas 3 µg e para a membrana tipo B foi de 3,2 µg, portanto muito inferior ao calculado pela diferença entre a massa do concentrado no início e no final do ensaio. Isso pode ter ocorrido pelo fato de que, o tempo de duração do ensaio de dessorção não foi suficiente para promover a dessorção de todo β-estradiol. Apesar disso, o fato da concentração de β-estradiol no permeado no ensaio de dessorção ser significativa, indica a possibilidade do β-estradiol difundir, permear através da membrana e contaminar o permeado. Nghiem *et al.* (2003) também salientam que a massa de hormônios adsorvida nas membranas pode ser liberada, fazendo da adsorção de compostos estrogênicos na membrana um risco para o tratamento de água.

De acordo com diversos autores (Schafer *et al.*, 2003, Nghiem *et al.*, 2003), o mecanismo de adsorção de hormônios não é muito claro, mas pode ser resultado de interações hidrofóbicas entre a superfície orgânica da membrana e o hormônio ou pode ser descrito por interações mais específicas, como as pontes de hidrogênio, sendo os grupos hidroxila e carbonilas dos hormônios os prováveis radicais envolvidos nessa interação devido à estrutura ressonante de grupos aromáticos desses compostos. No presente trabalho, os grupos hidroxilas presentes no β-estradiol podem ter favorecido a formação de pontes de hidrogênio e, portanto, provavelmente colaboraram para adsorção do β-estradiol na membrana.

Apesar da influência significativa da adsorção nas duas membranas analisadas no presente trabalho, segundo diversos autores (Nghiem *et al.*, 2004, Jin *et al.*, 2007) à medida que a capacidade adsorptiva da membrana vai atingindo a saturação com o tempo de separação, o mecanismo de peneiramento passa a dominar o processo de remoção de hormônios em condição neutra. Como o peso molecular de corte da membrana de acetato de celulose (tipo A) é maior que o peso molecular do β-estradiol, ela não foi capaz de promover uma maior remoção por meio do peneiramento, apresentando uma porcentagem de remoção de β-estradiol menor do que a apresentada pela membrana composta (tipo B).

### **5.1.3 - Influência do pH na remoção do β-estradiol**

Para a membrana composta (tipo B), que apresentou uma maior remoção de β-estradiol, foram realizados duas réplicas de ensaios para avaliar a influência do valor de pH na remoção do β-estradiol. O valor de pH adotado foi de cerca de 10,5. Os resultados

encontram-se detalhados na Tabela 5.3. Cabe salientar que o valor de pH foi selecionado com o objetivo de manter o pH da solução acima do pKa do  $\beta$ -estradiol (10,4). No entanto, verificou-se que durante o ensaio houve uma diminuição do valor do pH que exigiu correção ao longo do ensaio.

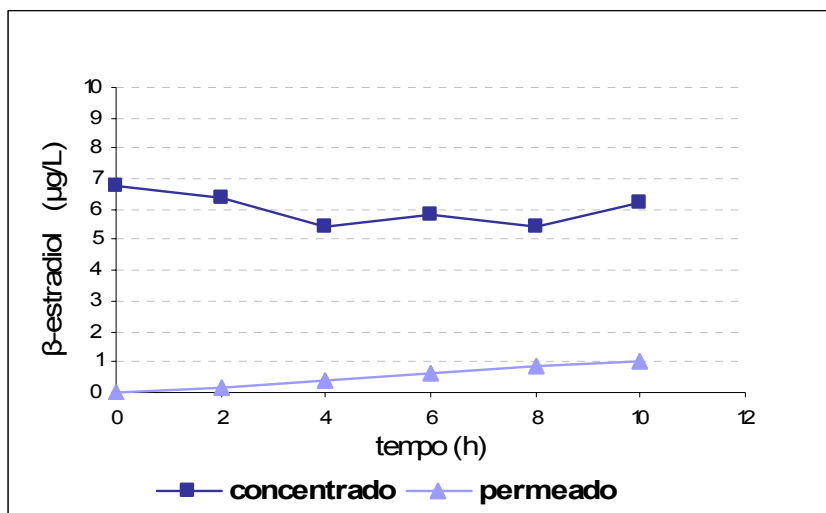
Observando-se a Tabela 5.3, percebe-se que a vazão do permeado durante o ensaio MCP4 foi maior do que no ensaio MCP5, mas acredita-se que sejam diferenças normais entre diferentes lotes das membranas, já que o fluxo no condicionamento em água limpa também foi maior. A vazão do permeado manteve-se constante durante toda a duração de cada um dos dois ensaios propriamente dito (MCP4 e MCP5), como ocorreu para os demais ensaios com os dois tipos de membrana utilizados neste trabalho. Além disso, como pode ser visto na comparação entre a Tabela 5.2 e 5.3, a vazão do permeado não foi notadamente alterada com o aumento do valor de pH, já que as vazões do permeado para os ensaios com valor de pH em torno de 10,5 (MCP4 e MCP5) foram próximas às vazões do permeado dos ensaios para a membrana composta (tipo B) sem correção do pH (Tabela 5.2).

Tabela 5.3 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água Tipo I, valor de pH em torno de 10,5 e membranas compostas (tipo B)

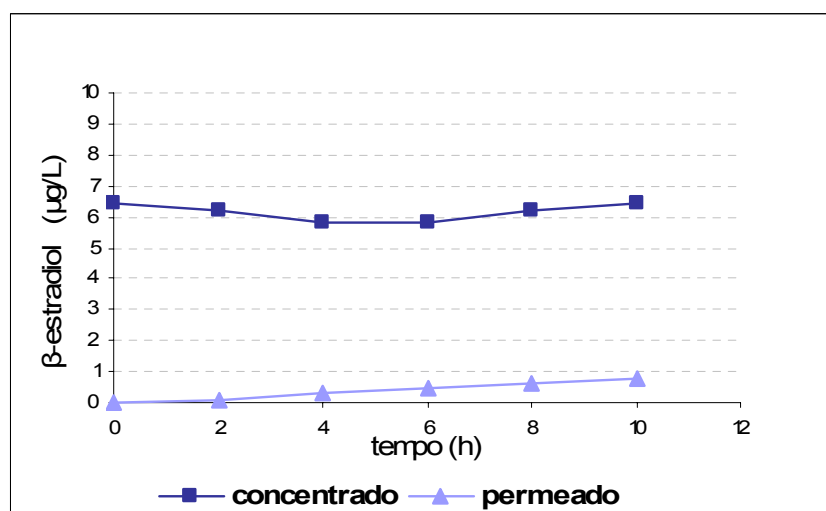
	Ensaio MCP4	Ensaio MCP5
Duração do ensaio (h)	10	10
Valor de pH	10,3-10,7	10,4-10,8
Temperatura da água no reservatório durante o ensaio propriamente dito	24°C-25°C	25°C-26°C
Vazão do permeado durante o condicionamento <sup>(a)</sup> (mL/min)	8,0	5,7
Média da vazão do permeado durante ensaio (mL/min)	5,3	4,0
Concentração final do permeado ( $\mu\text{g/L}$ )	1,05	0,8
Concentração inicial do concentrado ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>(b)</sup>	6,8	6,4
Concentração final do concentrado ( $\mu\text{g/L}$ ) <sup>(c)</sup>	6,2	6,4

(a) condicionamento realizado durante 1 hora com água mili-Q sob pressão de 1000kPa; (b) medida pela amostra coletada no reservatório; (c) medida pela amostra coletada no concentrado.

A Figura 5.7 apresenta as concentrações de  $\beta$ -estradiol no permeado e no concentrado ao longo da duração dos dois ensaios realizados com a membrana composta (tipo B) para valor de pH em torno de 10,5.



(a)



(b)

Figura 5.7 - Ensaios de nanofiltração para água tipo I, com alteração de pH (10,5) para membranas compostas (Tipo B). Velocidade superficial=0,4m/s, pressão=689kPa. (a) ensaio MCP4 (b) ensaio MCP5

Na Figura 5.7, observa-se que o comportamento qualitativo das duas réplicas foi similar, a concentração do permeado foi crescente ao longo do tempo de duração dos ensaios e a concentração do concentrado apresentou uma tendência à estabilidade. Comparando-se a Figura 5.7 com a Figura 5.4, observa-se que a grande diferença entre os resultados dos ensaios da membrana composta (tipo B) com valor de pH em torno de 5 e os ensaios com essa membrana no valor em torno de 10,5 foi o comportamento da concentração do

concentrado, indicando que no valor de pH 10,5 houve menor adsorção de  $\beta$ -estradiol na membrana composta do que nos ensaios dessa membrana com valor de em torno de pH 5.

A curva de remoção de  $\beta$ -estradiol calculada a partir do ensaio MCP5 é mostrada na Figura 5.8. Comparando a Figura 5.8 com a Figura 5.5, percebe-se que a remoção de  $\beta$ -estradiol pela membrana composta (tipo B) foi um pouco maior com o valor de pH mais elevado, aproximadamente 87%, do que para o valor de pH em torno de 5 (79%).

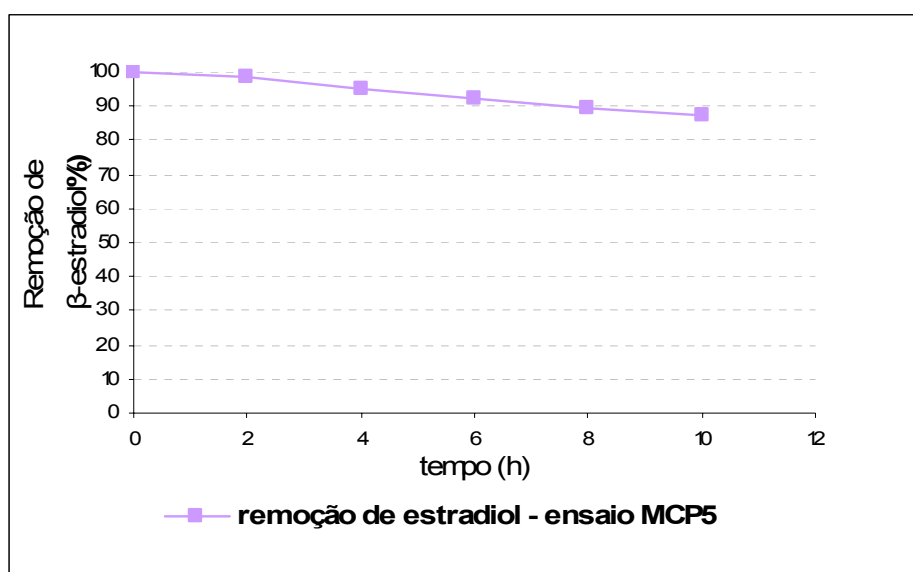


Figura 5.8 - Remoção de  $\beta$ -estradiol para o ensaio MCP5 com membrana composta (tipo B) e valor de pH em torno de 10,5. pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s.

Segundo Nghiem *et al.* (2002, 2003) em experimentos realizados com dispositivos de fluxo frontal (dead-end) e membranas de poliamida, a remoção da estrona, assim como a adsorção diminuem bastante com valor de pH acima do valor de pKa. Os autores sugerem que a formação das pontes de hidrogênio é o mecanismo de adsorção da estrona na membrana em valores de pH próximos da neutralidade. Quando dissociado (valor de pH da solução acima do valor de pKa do hormônio), a estrona perde seus prótons dos grupos hidroxilas e se torna incapaz de estabelecer pontes de hidrogênio com os grupos funcionais da membrana, resultando numa redução da adsorção e segundo ele da remoção do hormônio (Nghiem *et al.* (2003,2002). Schafer *et al.* (2003) também consideram que as pontes de hidrogênio interferem na adsorção dos hormônios na membrana, mas salientam, também, que a repulsão eletrostática diminui a proximidade entre a membrana e o hormônio, o que prejudica o potencial adsortivo da membrana.



Essas explicações parecem plausíveis para o caso do presente estudo, onde também houve uma redução da adsorção porque tanto o  $\beta$ -estradiol quanto a membrana composta (tipo B) têm suas cargas negativas aumentadas com o aumento do valor de pH, causando uma repulsão eletrostática entre a membrana e o composto. A carga negativa do  $\beta$ -estradiol é causada pela desprotonação do mesmo que ocorre em pH acima do valor do pKa desse hormônio (por causa de sua dissociação) e o aumento da carga negativa da membrana composta (tipo B) com elevação do pH foi verificado por Al-amoudi *et al.* (2007), como pode ser visto pelos valores do potencial zeta apresentados na Tabela 4.1 do Capítulo 4.

Entretanto, parece que outros aspectos não entendidos podem estar envolvidos no processo de remoção dos hormônios. Diferentemente do presente trabalho, no estudo de Nghiem *et al.* (2003), a remoção de  $\beta$ -estradiol diminuiu com elevação do valor de pH. O mesmo ocorreu no trabalho de Schafer *et al.* (2003) que relatam que a remoção da estrona diminuiu para uma membrana de poliamida sobre suporte de polissulfona em valores de pH acima do pKa da substância. Já McCallum (2005), em concordância com o presente trabalho, verificou um aumento da remoção de  $\beta$ -estradiol por uma membrana de poliamida com aumento do valor de pH para valor acima do pKa dessa substância em separação tangencial.

## **5.2 - ETAPA 2 - ENSAIOS DE NANOFILTRAÇÃO PARA ÁGUA DO TIPO II (MILI-Q+SAXITOXINAS)**

### **5.2.1 - Considerações iniciais**

A Tabela 5.4 apresenta as principais características dos ensaios realizados para a água do tipo II. Nesses ensaios o valor de pH da amostra não foi alterado, permanecendo em torno da neutralidade (pH=7) em função das características do material lisado. A pressão de trabalho em todos os ensaios foi de cerca de 689kPa, vazão de alimentação constante igual a 3,6 L/min e velocidade tangencial de cerca de 0,4 m/s. A temperatura da água foi mantida próxima de 25°C.

O volume de amostra coletado para análise da concentração de saxitoxinas foi de 200 ml para cada amostra, tanto do permeado, quanto do concentrado. O maior volume de amostra coletada em relação aos ensaios com  $\beta$ -estradiol foi motivado pela possibilidade de se fazer necessário uma etapa de concentração e purificação da amostra para determinação de

saxitoxinas por CLAE. No entanto, essa etapa não se fez necessária em função dos limites de detecção do equipamento. Além disso, testes preliminares do procedimento de purificação e concentração mostraram uma falta de reprodutibilidade no processo, que prejudicariam a interpretação dos resultados.

Tabela 5.4 – Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo II, pH≈7.

Ensaio	Membrana tipo A		Membrana tipo B		
	Ensaio MAC5	Ensaio MAC6	Ensaio MCP6	Ensaio MCP7	
Duração do ensaio (h)	10	10	10	10	
Valor de pH	6,9-7,1	7,1-7,3	6,6-7,4	7,0-7,5	
Temperatura da água no reservatório durante o ensaio propriamente dito	24°C-26°C	25°C-26°C	25°C-27°C	25°C-26°C	
Vazão do permeado durante a compactação <sup>(a)</sup> (mL/min)	4,8	5,5	7,5	6,0	
Média da vazão do permeado durante ensaio (mL/min)	2,7	3,0	4,1	3,6	
Concentração final do permeado de Neo-STX (µg/L)	22,8	35,6	43,7	57,7	
Concentração inicial do concentrado <sup>(b)</sup> (µg/L)	Neo-STX	63,7	76,5	68,6	85,9
	dC-STX	9,2	8,0	7,1	4,4
	STX	8,2	8,8	8,4	5,0
Concentração final do concentrado (µg/L) <sup>(c)</sup>	Neo	39,8	53,4	56,3	64,3
	dC-STX	9,4	7,2	9,0	7,8
	STX	7,2	7,8	9,0	6,9

(a) compactação (condicionamento) realizado durante 1 hora com água mili-Q sob pressão de 1000kPa; (b) medida pela amostra coletada no reservatório de alimentação; (c) medida pela amostra coletada no concentrado.

A primeira observação geral é que a cepa T3 de *Cylindrospermopsis raciborkii* cultivada no LAA produz mais Neo-STX do que STX e dc-STX, já que as concentrações iniciais de Neo-STX no reservatório de alimentação, na maioria dos ensaios, foram cerca de 9 vezes maiores do que para as demais variantes analisadas.

Com relação ao comportamento operacional a membrana composta apresentou maior fluxo de permeado do que a membrana de acetato de celulose. Segundo o fabricante, para a membrana de acetato de celulose (tipo A), a taxa de fluxo de permeado é de 47,5 L/m<sup>2</sup>/h em 1517kPa e para a membrana composta tipo B é de 37,35 L/m<sup>2</sup>/h em 689kPa. Como os

dados do fabricante foram fornecidos em pressões diferentes, pode-se esperar que em pressão similar a membrana composta produza maior fluxo, mesmo considerando que a membrana composta utilizada neste trabalho é um pouco mais hidrofóbica (ângulo de contato de  $58,3^\circ$ ) do que a de acetato de celulose ( $54,2^\circ$ ), pois a diferença é pequena.

As taxas de fluxos de permeado em água deionizada, obtidos no presente estudo na fase de condicionamento sob pressão de trabalho de 1000kPa foram de 20,6 e 23,6 L/m<sup>2</sup>/h para a membrana de acetato de celulose (tipo A) e de 32,1 e 25,7 L/m<sup>2</sup>/h para a membrana composta (tipo B). Não se pode comparar diretamente esses valores com os dados do fabricante. No entanto, esperava-se um fluxo maior para a membrana tipo B já que a pressão de trabalho era maior que a pressão de referência do fabricante. O fato da taxa de fluxo ter sido medido na primeira hora (o sistema podia não estar completamente estabilizado), as diferenças comuns entre diferentes cortes de membrana e as diferenças entre a produção em sistemas diferentes (módulo espiral, plano, etc) podem ser a explicação para essas diferenças.

Nos dois tipos de membrana, a vazão do permeado durante a fase de condicionamento foi maior do que no ensaio de nanofiltração propriamente dito, o que era de se esperar já que a pressão na compactação era maior e a água era pura. Não foi verificada redução do fluxo de permeado durante o tempo de duração de nenhum dos ensaios apresentados na Tabela 5.4, o que leva a crer que não houve problema de obstrução e nem mudanças nas características físicas da membrana, por exemplo, diminuição do tamanho de poros, que pudessem levar a diminuição do fluxo do permeado.

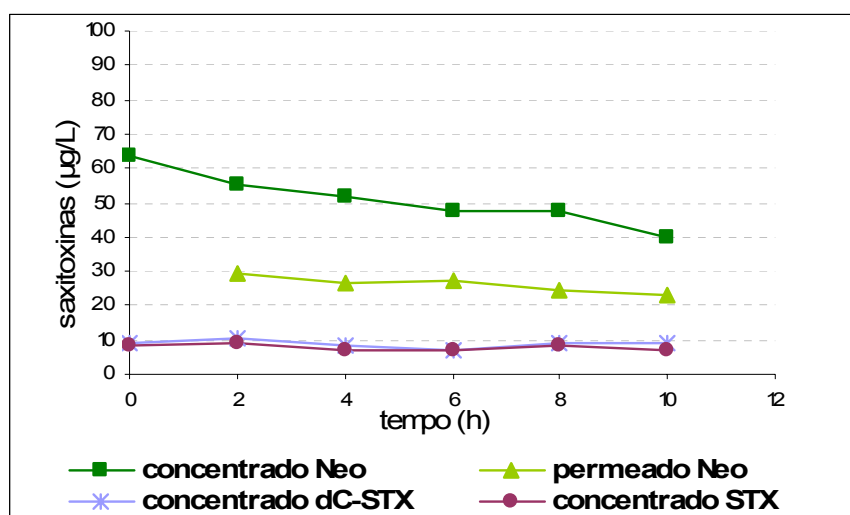
Comparando a vazão do permeado entre os ensaios com um mesmo tipo de membrana, verificou-se uma variação na vazão do permeado na fase de condicionamento tanto entre as membranas de acetato, quanto entre as membranas compostas, o que parece ser normal para membranas de cortes diferentes, já que as variações foram proporcionais também durante os ensaios de nanofiltração.

Levando em consideração a área de 140 cm<sup>2</sup> da membrana obtém-se uma taxa de fluxo de permeado de 11,7 L/m<sup>2</sup>.h. e 12,73 L/m<sup>2</sup>.h durante os ensaios de nanofiltração com a membrana de acetato de celulose (tipo A) e taxas de fluxo maiores, 17,66 L/m<sup>2</sup>.h e 15,51 L/m<sup>2</sup>.h, para as membranas compostas (tipo B). É interessante observar que os fluxos de

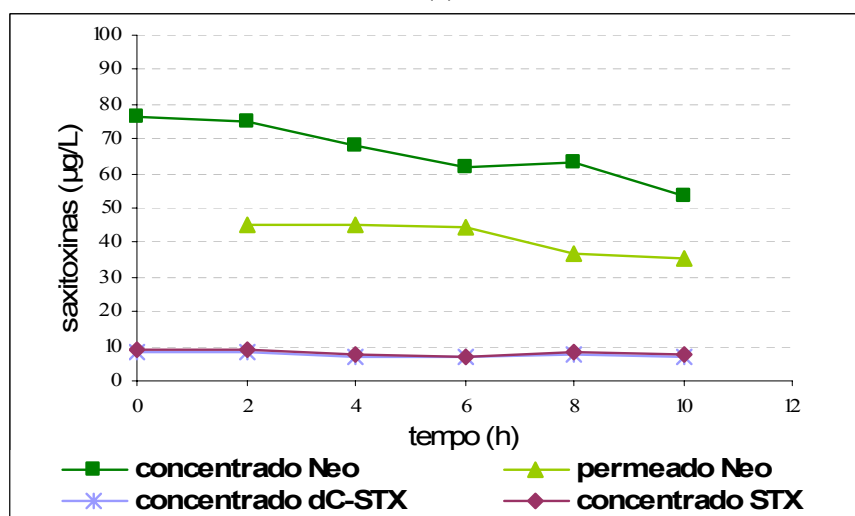
permeado no caso dos ensaios com  $\beta$ -estradiol (Tabelas 5.1 e 5.2) foram próximos a esses valores, principalmente para a membrana composta.

Considerando que a vazão do concentrado foi mantida constante em todos os experimentos (3,6 L/min), a taxa de recuperação de água (vazão permeado/vazão concentrado) nos ensaios da água tipo II foi cerca de 0,1%, considerada muito baixa se comparada a módulos comerciais (10% ou mais dependendo do arranjo), da mesma forma que ocorreu para os ensaios com  $\beta$ -estradiol, já comentado no item 5.1.

As Figuras 5.9 e 5.10 apresentam as concentrações de saxitoxinas no permeado e no concentrado ao longo da duração de cada ensaio apresentado na Tabela 5.4.

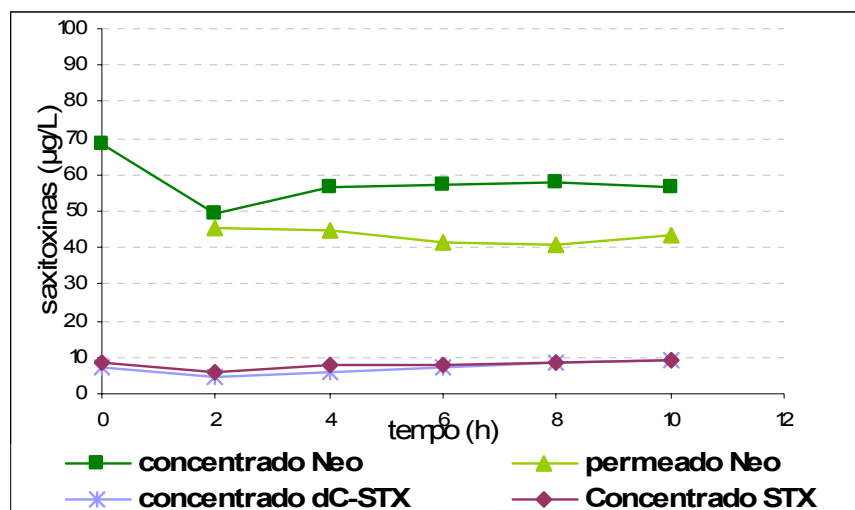


(a)

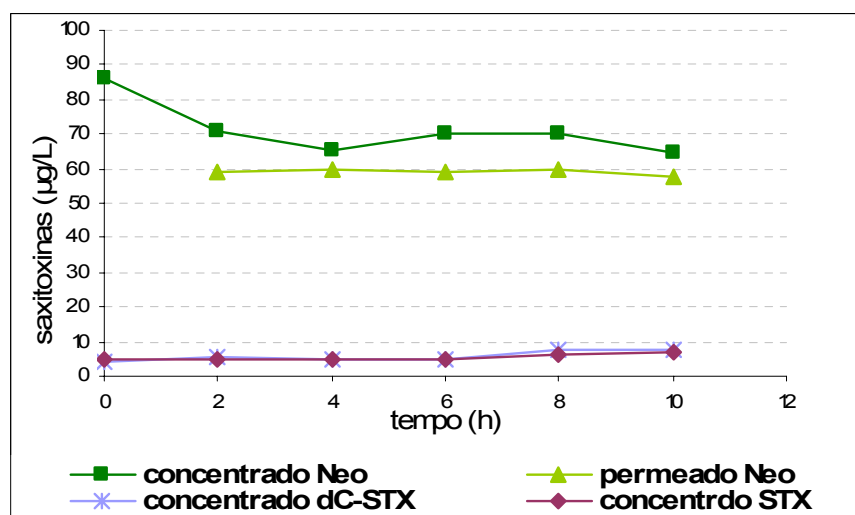


(b)

Figura 5.9 - Ensaio de nanofiltração para água tipo II (mili-Q+saxitoxinas) e  $\text{pH} \approx 7$ , pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s. (a) ensaio MAC5- membrana de acetato de celulose (tipo A), (b) ensaio MAC6- membrana tipo A.



(a)



(b)

Figura 5.10 - Ensaios de nanofiltração para água tipo II (mili-Q+saxitoxinas) e  $\text{pH} \approx 7$ , pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s. (a) ensaio MCP6-membrana composta (tipo B), (b) ensaio MCP7 – membrana tipo B

Avaliando-se qualitativamente o comportamento das membranas, observa-se que, no caso das membranas de acetato de celulose (Figura 5.9), a variante Neo-STX apresentou uma diminuição de concentração no concentrado ao longo do tempo de duração do ensaio e, também, uma leve diminuição de concentração no permeado. Nas membranas compostas (Figura 5.10), a concentração de Neo-STX no permeado tendeu a permanecer constante, ao passo que a concentração no concentrado apresentou um intenso decaimento inicial e posteriormente uma tendência a estabilização. Para os dois tipos de membranas o decaimento da concentração do concentrado sugere a ocorrência do fenômeno de adsorção

de Neo-STX nas membranas. Os dados sugerem que a membrana composta trabalhou muito próximo do equilíbrio após 2 a 4h de operação, enquanto que a membrana de acetato de celulose não atingiu o equilíbrio de adsorção de Neo-STX até 10h de operação do sistema.

No caso das variantes STX e dc-STX o comportamento foi diferente. Para essas saxitoxinas a concentração do concentrado permaneceu mais constante ao longo do tempo para a membrana de acetato de celulose (tipo A), com uma tendência a elevar-se com o tempo no caso dos ensaios com membrana composta (tipo B), sugerindo que, praticamente, não houve adsorção desses compostos nas membranas. É interessante observar que para o  $\beta$ -estradiol, com concentrações iniciais na alimentação mais próximas dessas variantes e também peso molecular mais semelhante, houve tendência a adsorção nos dois tipos de membrana. No entanto, não se pode afirmar que essas duas variantes de saxitoxinas (STX e dc-STX) não tenham tendência a adsorção nas membranas estudadas, pois o fato da Neo-STX se apresentar em maior concentração pode ter influenciado na competitividade por pontos adsorptivos da membrana, além de que as características da Neo-STX podem ser mais favoráveis a adsorção nessas membranas do que as outras variantes de saxitoxinas medidas.

Além disso, a concentração tanto da STX quanto da dc-STX no permeado ficaram abaixo do limite de detecção do HPLC (3  $\mu\text{g/L}$ ) na maioria do tempo de duração do ensaio, por isso não foram apresentadas nas Figura 5.9 e 5.10. Somente para a membrana composta (tipo B), no ensaio MCP6, as concentrações de dc-STX e STX no permeado na décima hora foram iguais a 3,7 e 3,5  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente. No ensaio MCP7 da membrana composta (tipo B), também na décima hora, a concentração de dc-STX no permeado foi de 3,2  $\mu\text{g/L}$  e a de STX continuou abaixo do limite de detecção.

### **5.2.2 - Eficiência de remoção e mecanismos**

A partir dos dados e das observações iniciais sobre os ensaios com a água do tipo II, descritas no item 5.2.1, são discutidos no presente item as hipóteses sobre os mecanismos atuantes na remoção das saxitoxinas pelas membranas estudadas e alguns fatores que podem ter influenciado esses mecanismos. Salienta-se que seria necessário um número maior de repetições dos ensaios para se chegar a uma conclusão definitiva a cerca do

comportamento das membranas e das saxitoxinas no processo de remoção deste contaminante.

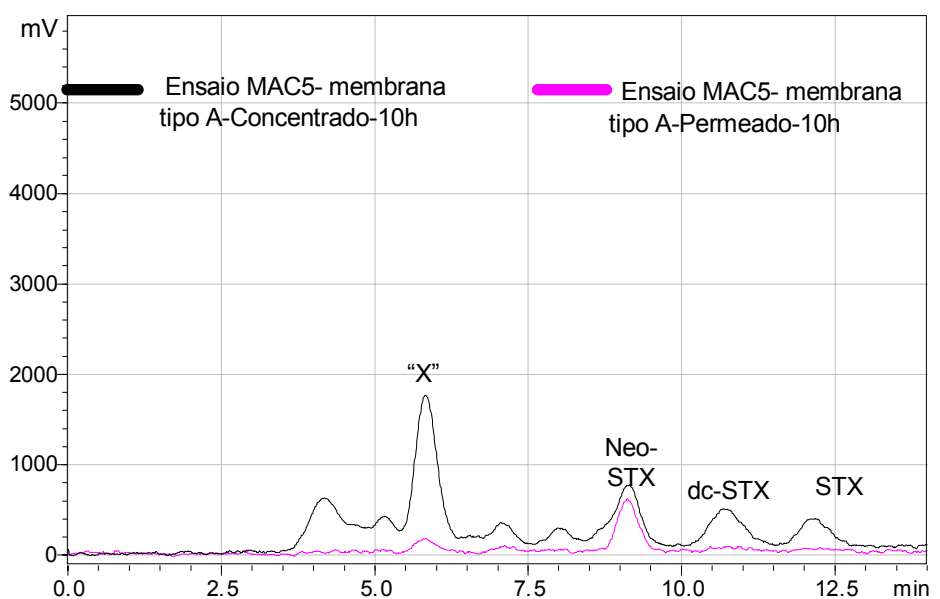
Diferentemente dos ensaios com  $\beta$ -estradiol, onde a água de alimentação era composta apenas do contaminante  $\beta$ -estradiol e água deionizada, nos ensaios voltados para avaliação da remoção de saxitoxinas (STX, dc-STX e neo-STX) estão presentes na água tipo II outros compostos intracelulares dissolvidos originados da lise das células de *Cylindrospermopsis raciborkii* cultivadas, além, provavelmente, de outras variantes de toxinas não identificadas. A presença, portanto, de outros compostos intracelulares pode ter interferido na remoção das saxitoxinas analisadas neste trabalho, mas ao mesmo tempo cabe mencionar que vários compostos não conhecidos foram, também, removidos de forma eficiente no processo, o que é importante quando se considera que a água de abastecimento deve ser desinfetada e que os compostos intracelulares das algas e cianobactérias são considerados precursores de sub-produtos potencialmente tóxicos da desinfecção.

Um exemplo claro da remoção de outros compostos intracelulares vem da observação visual da coloração do permeado com o tempo de duração do ensaio. A cor amarela/esverdeada típica do cultivo foi eliminada dando lugar a um permeado de aspecto transparente e incolor, indicando a remoção de pigmentos que causavam cor. Esse aspecto pode ser visualizado na Figura 5.11.

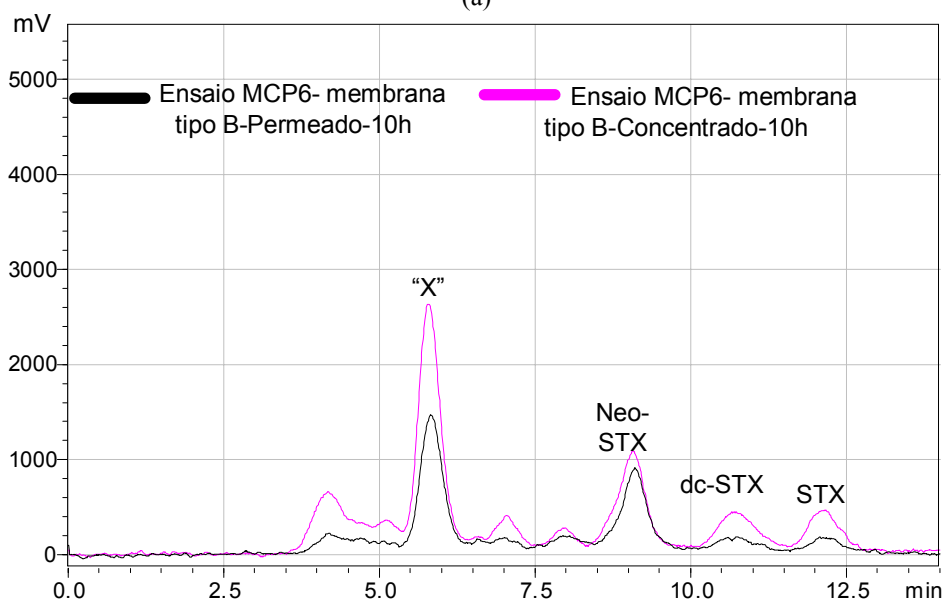


Figura 5.11 - Amostra de permeado coletada na décima hora de duração do ensaio e de concentrado coletada no início do ensaio de remoção de saxitoxinas por nanofiltração.

Outro exemplo de remoção de outros compostos intracelulares vem da observação dos cromatogramas gerados durante a detecção de saxitoxinas (STX, dc-STX, neo-STX). Verifica-se nos cromatogramas da Figura 5.12, a presença de vários picos no concentrado que não estão presentes no permeado, que são outros compostos orgânicos ou outras variantes de saxitoxinas. Esses compostos parecem ter sido quase que completamente removidos pela membrana de acetato de celulose (tipo A) e bastante reduzidos para membrana composta (tipo B), visto por suas curvas do permeado nos cromatogramas. Apesar de ter sido apresentado apenas um exemplo, esse comportamento, de uma forma geral foi verificado em todos os ensaios mostrados nas Figuras 5.9 e 5.10.



(a)



(b)

Figura 5.12 - Cromatogramas de ensaios de nanofiltração. (a) ensaio MAC5 para a membrana de acetato de celulose (tipo A); (b) ensaio MCP6 para a membrana composta (tipo B).



Acredita-se que o pico identificado como “X” na Figura 5.12 possa ser um conjunto de variantes de saxitoxinas GTX. Em um teste preliminar, que consistiu da injeção de um padrão de GTX no CLAE usando a fase móvel e demais condições cromatográficas para detecção de STX, dc-STX e Neo-STX, obteve-se um pico no mesmo tempo de retenção do pico “X”. Importante comentar que para efetiva quantificação das variantes de GTX seria necessária nova injeção das amostras com fase móvel e condições cromatográficas apropriadas, diferentes da utilizada neste trabalho.

Para as variantes Neo-STX, STX e dc-STX, a remoção de saxitoxinas pelas membranas foi calculada com base na equação 4.1, apresentada no Capítulo 4. Como as réplicas apresentaram comportamentos qualitativos semelhantes foram escolhidos para a análise o ensaio MAC6 da membrana de acetato de celulose (tipo A) e o ensaio MCP7 da membrana composta (tipo B) por apresentarem porcentagens de remoções mais conservadoras. As curvas de remoção ao longo do tempo de duração desses ensaios são apresentadas na Figura 5.13.

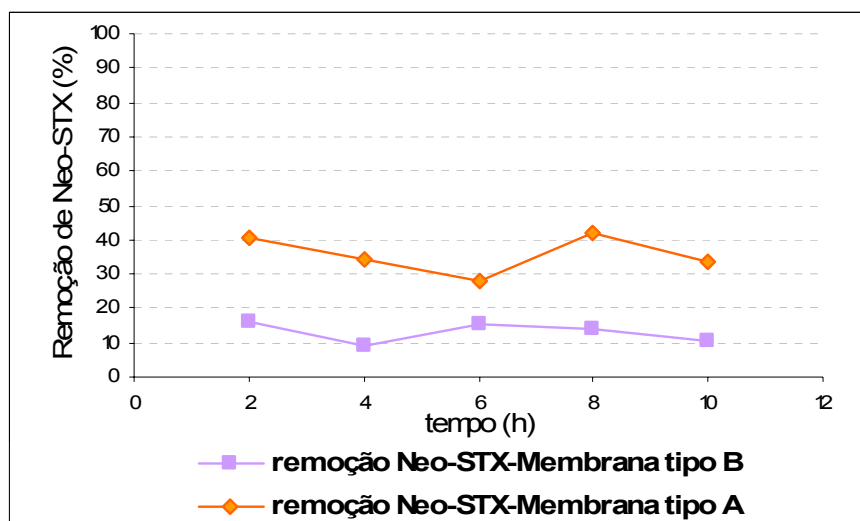


Figura 5.13 - Remoção de Neo-STX para água tipo II (mili-Q+material da lise celular incluído saxitoxinas), pH $\approx$ 7. Ensaio MAC6 - membrana tipo A e ensaio MCP6-membrana tipo B.

Como pode ser observado na Figura 5.13, a remoção apresentada é apenas da variante Neo-STX, já que as concentrações de dc-STX e STX nos permeados ficaram, em sua maioria, abaixo do limite de detecção do CLAE (3  $\mu$ g/L). Dessa forma não foi possível calcular a remoção dessas variações de saxitoxina. Lança-se aqui, tendo em vista o comportamento da membrana composta na décima hora de operação do ensaio MCP6, em

que detectou a concentração de dc-STX e STX no permeado iguais a 3,7 e 3,5 µg/L, respectivamente, a hipótese de que a membrana composta utilizada neste trabalho apresenta menor eficiência de remoção para essas variantes do que a membrana de acetato de celulose. Para comprovar essa hipótese, seria necessário trabalhar com água bruta com concentrações de STX e dc-STX maiores que as avaliadas neste trabalho, se fossem mantidos os valores de todos os outros parâmetros.

A membrana composta (tipo B) apresentou porcentagem de remoção final de Neo-STX, nos ensaios com valor de pH em torno de 7, de aproximadamente 10%, enquanto que para a membrana de acetato de celulose (tipo A) a remoção de Neo-STX foi de cerca de 33%. As porcentagens de remoções foram menores do que para o β-estradiol nos ensaios sem correção de pH. No entanto, as curvas de remoções dos ensaios para saxitoxinas (Figura 5.13) tenderam a ser constantes ao longo do tempo de duração dos ensaios, enquanto que nos ensaios com o β-estradiol sem correção de pH, as curvas apresentaram tendência decrescente ao longo do tempo de duração dos ensaios. Dessa forma, não se podem comparar os valores absolutos de porcentagens de remoção entre os ensaios com β-estradiol e saxitoxinas. Além disso, o fato de a concentração inicial de Neo-STX ser bem maior do que a concentração de β-estradiol e de existirem outros interferentes na água de Estudo tipo II (que continha a saxitoxinas), pode ter influenciado no processo de remoção das saxitoxinas tanto positivamente quanto negativamente.

Cabe destacar, também, que, apesar dos dois compostos serem orgânicos e apresentarem pesos moleculares semelhantes, a estrutura molecular e grupos funcionais são diferentes e, portanto, o comportamento na nanofiltração tende também a ser diferente. Nesse sentido, cabe salientar duas diferenças entre o β-estradiol e as saxitoxinas que parecem, segundo a literatura analisada no Capítulo 3, interferir na remoção de compostos orgânicos. As saxitoxinas são hidrofílicas (log P negativo) e em pH neutro o grupo guanidino 1,2,3 possui carga positiva e o 7,8,9 parcialmente desprotonado, enquanto que o β-estradiol é hidrofóbico e neutro no valor de pH em torno de 5 (valor no qual foram realizados os ensaios).

As remoções de Neo-STX (hidrofílica) foram menores do que para o β-estradiol (hidrofóbico). Segundo Braeken *et al.* (2005) solutos hidrofóbicos podem adsover nas membranas e permear através das membranas mais facilmente, enquanto moléculas

hidrofílicas, que possuem alta afinidade pela água, apresentam melhores remoções por membranas de nanofiltração do que os solutos hidrofóbicos tamanhos semelhantes. Para explicar a correlação entre hidrofobicidade e remoção por membranas de nanofiltração, Braeken *et al.* (2005), consideram a estrutura molecular dos compostos orgânicos em geral. Moléculas hidrofílicas, geralmente, possuem mais grupos hidroxilas (-OH) ou carbonila (=O), os quais podem formar pontes de hidrogênio com moléculas de água. Devido a esses grupos polares, compostos hidrofílicos têm mais alta afinidade pela água e permeiam menos através da estrutura da membrana. Assim, quando esses compostos se associam com as moléculas de água, o diâmetro efetivo (hidratado) da molécula pode aumentar. Para compostos hidrofóbicos que possuem menos grupos polares, poderão pemeiar mais facilmente através de membranas. No caso do presente estudo a molécula de Neo-STX possui mais grupos hidroxilas (três) e carbonila (um) do que o composto hidrofóbico  $\beta$ -estradiol, portanto com mais possibilidades de formação de pontes de hidrogênio, mas apresentou menores porcentagens de remoção. Contradizendo as observações de Braeken *et al.* (2005) e em concordância com o presente trabalho de mestrado, Yoon *et al.* (2007) verificaram aumento de remoção de diversas substâncias com o aumento do log Kow (hidrofobicidade).

Além das concentrações iniciais e interferentes que podem ter influenciado na remoção, a interação eletrostática deve ser levada em consideração para explicar, também, as baixas taxas de remoção das saxitoxinas. As hipóteses de Braeken *et al.* (2005) parecem ser coerentes para solutos neutros, no entanto a saxitoxina possui carga e isso pode ter influenciado negativamente no processo de remoção. As forças de atração entre soluto e membrana permitem que o soluto se difunda e permeie mais facilmente através da membrana (Verliefde *et al.*, 2007). O fato da Neo-STX apresentar uma carga positiva no grupo guanidino 1,2,3, facilita a proximidade da saxitoxina com a membrana e favorece as interações hidrofóbicas podendo facilitar a permeação deste contaminante através das membranas.

Interessante observar, também, que o peso molecular da Neo-STX (315,3g/mol) é menor que o peso molecular de corte da membrana de acetato de celulose (tipo A) e esta membrana apresentou maior remoção desse composto do que a membrana composta (tipo B), com peso molecular de corte mais baixo, inclusive abaixo do peso molecular da Neo-STX. Como discutido por alguns autores, nem sempre o peso molecular do contaminante e

o MWCO da membrana são os melhores parâmetros para predizer a remoção de um contaminante. No caso de moléculas carregadas a rejeição parece ser governada por efeitos eletrostáticos e o efeito de peneiramento parece ser menos pronunciado (Verliefde *et al.*, 2007). No entanto, é interessante que em trabalhos futuros se obtenha, também, o tamanho do poro da membrana e compare este com o tamanho da molécula, com intuito de se entender melhor o efeito do peneiramento.

Não se encontrou uma explicação para a melhor rejeição de Neo-STX na membrana tipo A do que para a membrana tipo B. Os ângulos de contato das duas (que representa a hidrofobicidade) são bem próximos e parece não ser a razão. A membrana composta (tipo B) possui uma carga negativa maior do que a membrana de acetato de celulose (tipo A) e esse fato pode ter contribuído para uma maior atração entre a neo-STX e a membrana composta, prejudicando, assim, a eficiência de remoção de Neo-STX por esta membrana.

### **5.2.3 - Influência do pH na remoção das saxitoxinas**

Para a membrana de acetato de celulose, que apresentou melhor remoção das saxitoxinas avaliadas, foram realizados novos ensaios para verificação da influência do valor de pH na remoção. Foram realizados dois ensaios, um com valor de pH em torno de 5 e outro com valor de em torno de pH 10,5. Cabe mencionar, que o fabricante recomenda para a membrana de acetato de celulose uma faixa de valor de pH de trabalho entre 2 e 8. No entanto, para avaliar o efeito de um pH acima do pKa dos contaminantes e para obter o mesmo pH utilizado nos ensaios com  $\beta$ -estradiol, utilizou-se o pH 10,5. Embora o uso prolongado da membrana nesse valor de pH possa causar danos a sua estrutura, em função do tempo de duração do ensaio estima-se que nenhum dano tenha ocorrido. O valor de pH 5 foi escolhido para efeitos de comparação com os ensaios com  $\beta$ -estradiol.

No caso destes ensaios com correção de valor de pH da água tipo II, foi realizado um controle de degradação natural das saxitoxinas por meio da observação do comportamento da concentração da amostra inicial de concentrado ao longo do tempo de duração do ensaio, já que a literatura aborda bastante a questão de intertransformações das saxitoxinas, principalmente em valores de pH elevados (Ceballos *et al.*, 2006; Jones e Negri, 1997; Castro *et al.*, 2004; Indrasena e Gill, 1999; Indrasena e Gill, 2000). Foram retiradas três amostras da água de estudo, antes do início do ensaio. Uma, antes da correção do pH e

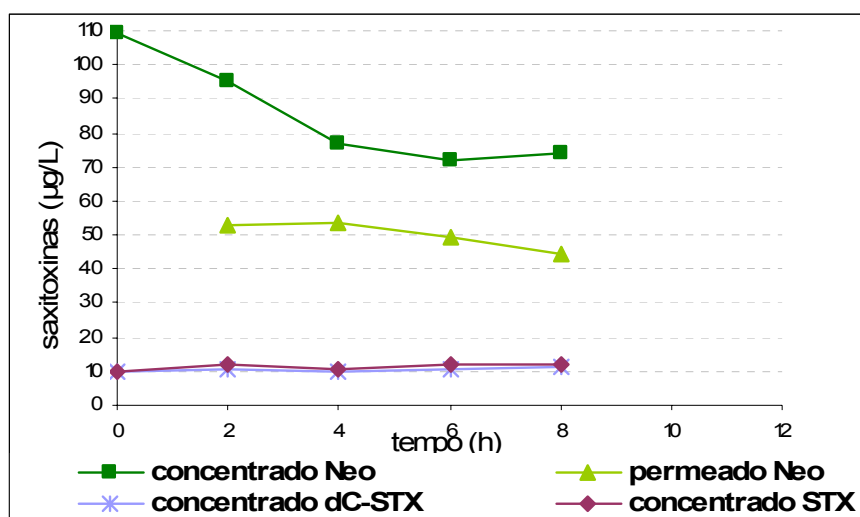
duas depois da correção do valor de pH. Depois do pH corrigido, dos 200 ml retirados do reservatório de alimentação, um volume de 100 ml foi separado e imediatamente congelado para posterior análise da concentração inicial das saxitoxinas. Os outros 100 ml foram colocados em um bequer (fora do sistema de separação) que ficou sob agitação durante todo o período ensaio. Ao final do ensaio (após oito horas), uma amostra dessa alíquota do bequer foi retirada para análise da concentração de saxitoxinas.

A Tabela 5.5 e a Figura 5.14 apresentam os resultados obtidos nos ensaios realizados com pH corrigido.

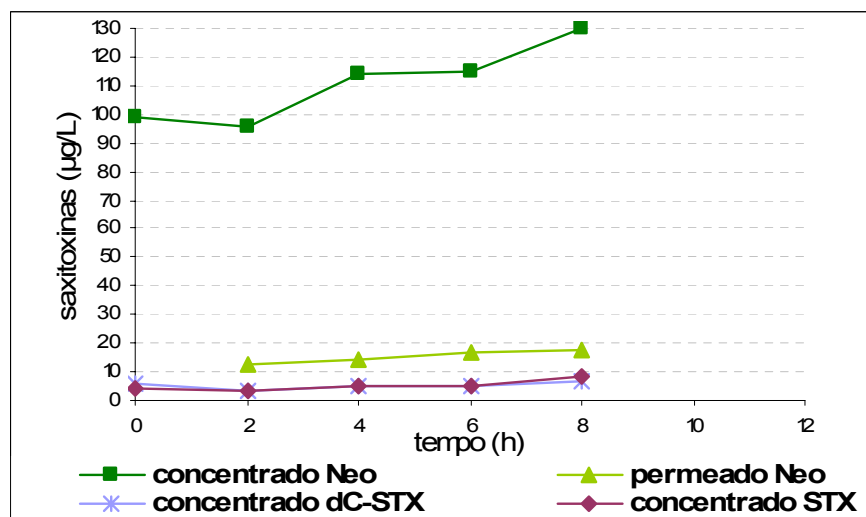
Tabela 5.5 - Principais resultados dos ensaios de nanofiltração para água tipo II, com correção de pH e para membrana de acetato de celulose (tipo A)

Ensaio		Ensaio MAC7 pH em torno de 5	Ensaio MAC8 pH em torno de 10,5
Duração do ensaio (h)		8	8
Valor de pH		4,8-5,7	10,4-11,0
Temperatura da água no reservatório durante o ensaio de nanofiltração propriamente dito		23°C-26°C	23°C -26°C
Vazão do permeado durante a compactação <sup>(a)</sup> (mL/min)		5,2	5,1
Média da vazão do permeado durante ensaio (mL/min)		3,0	3,0
Concentração final do permeado de Neo (µg/L)		44,4	17,8
Concentração inicial do concentrado (µg/L) <sup>(b)</sup>	Neo	109,4	99,3
	dC-STX	9,7	6,0
	STX	9,9	4,2
Concentração final do concentrado (µg/L) <sup>(c)</sup>	Neo	74,3	129,8
	dC-STX	11,6	7,1
	STX	12,1	8,4
(a) compactação (condicionamento) realizado durante 1 hora com água mili-Q sob pressão de 1000kPa; (b) medida pela amostra coletada no reservatório de alimentação; (c) medida pela amostra coletada no concentrado.			

Quanto aos parâmetros operacionais (Tabela 5.5), observou-se que não houve redução do fluxo do permeado durante os ensaios com valor de pH em torno de 5 e em torno de 10,5. A taxa de fluxo de permeado durante esses ensaios foi de cerca de 13 L/m<sup>2</sup>.h. A recuperação desses ensaios, da mesma forma que nos ensaios com valor de pH7, foi de cerca de 0,1%.



(a)



(b)

Figura 5.14 - Ensaios de nanofiltração para água tipo II, com alteração de pH e para membrana tipo A. pressão=689kPa, velocidade tangencial=0,4 m/s (a) ensaio MAC7 (pH≈5) (b) ensaio MAC8 (pH≈10,5)

O comportamento qualitativo nos ensaios com saxitoxinas, no valor de pH em torno de 5 (Figura 5.14a) foi similar aos ensaios com valor de pH em torno de 7 para a mesma membrana (Figura 5.9), ou seja, a concentração de Neo-STX no concentrado decaiu com o

tempo e a do permeado também. No entanto, no caso do pH 5 a redução da concentração de Neo-STX no concentrado foi mais evidente e mais rápida nas primeiras quatro horas. O comportamento da concentração de dc-STX e STX também foi similar ao observado no pH 7, ou seja, praticamente não se verificou adsorção dessas variantes na membrana e a concentração no permeado foi abaixo do limite de detecção do CLAE. A remoção final de Neo-STX foi de cerca de 40%, praticamente a mesma que no ensaio com valor de pH 7, na oitava hora (42%).

Na avaliação da degradação natural da toxina com o tempo de duração do ensaio, observou-se que não houve diferenças significativas de concentração de saxitoxinas (STX, dc-STX e Neo-STX) entre a amostra no tempo zero sem correção de pH, na amostra coletada com o pH corrigido para 5 no tempo zero e depois de oito horas no valor de pH em torno de 5, conforme pode ser visualizado nos cromatogramas da Figura 5.15. No entanto, observou-se uma pequena degradação no pico “X” depois de 8 horas. Conforme já comentado, esses picos podem ser da variante GTX, mas não foi objetivo desse trabalho analisá-los.

No ensaio com valor de pH em torno de 10,5, os comportamentos da membrana de acetato de celulose e dos compostos avaliados (STX, dc-STX e Neo-STX) foram diferentes dos outros ensaios. Não há indícios de adsorção, uma vez que na Figura 5.14b verifica-se um aumento da concentração de Neo-STX no concentrado e a concentração dessa variante no permeado, apesar de tendência ao crescimento com o tempo, foi bem menor que nos outros ensaios.

Cabe salientar que na prática, em operação contínua, a concentração do concentrado tende a cair nos estágios iniciais de operação e quando o sistema estabiliza, essa concentração tende a voltar àquela inicial. No caso deste estudo, como o concentrado foi retornado constantemente para o reservatório (operação semi-contínua), quando há um equilíbrio do sistema a concentração do concentrado tende a se elevar podendo atingir valores maiores do que os iniciais.

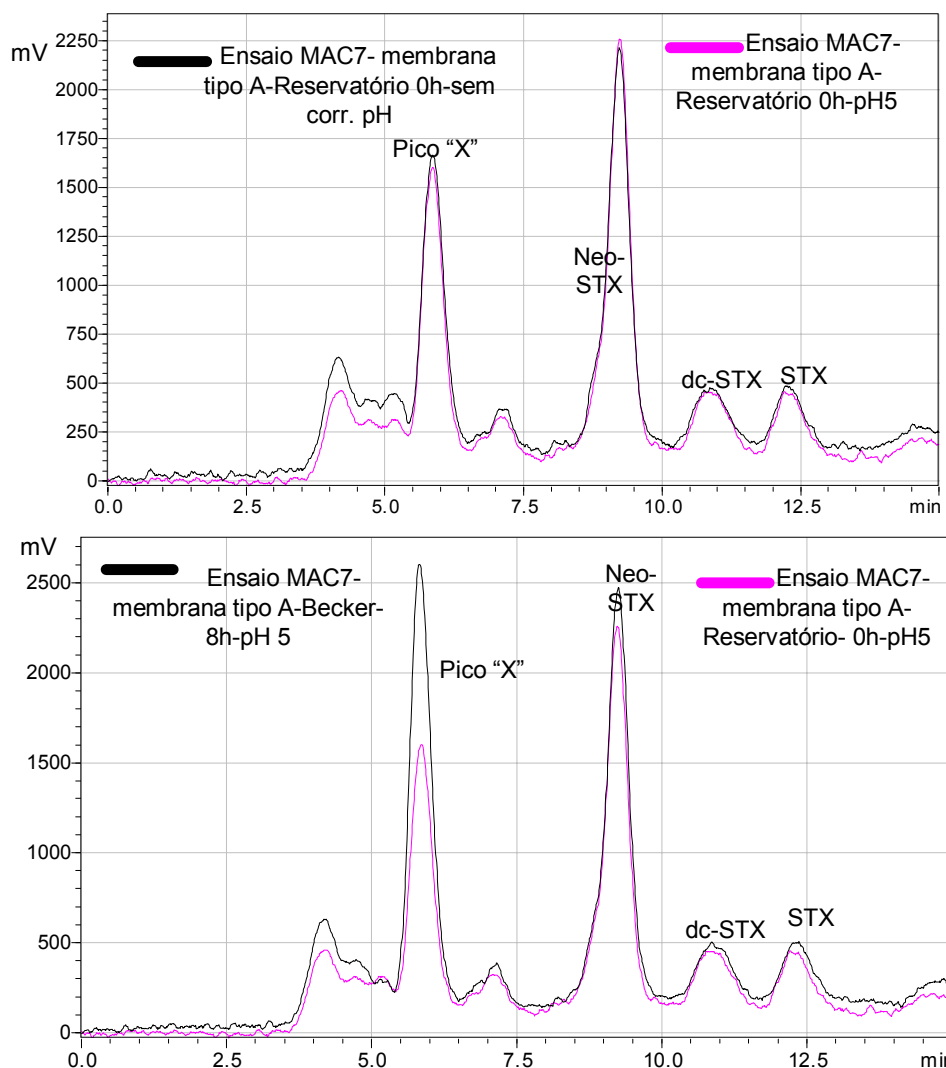


Figura 5.15 - Cromatogramas do teste de degradação natural do ensaio para membrana tipo A pH=5

A remoção final de Neo-STX no ensaio com valor de pH em torno de 10,5 foi de cerca de 86%, bem maior que nos outros ensaios realizados com valor de pH mais baixo. A concentração de STX e dC-STX no permeado ficou, mais uma vez, abaixo do limite de detecção do CLAE em todo o período de duração do ensaio e a concentração no concentrado permaneceu constante. O cromatograma da Figura 5.16 ilustra a remoção dos diferentes compostos no ensaio com valor de pH 10,5, salientando-se que todos os picos iniciais foram praticamente eliminados durante o processo de nanofiltração.



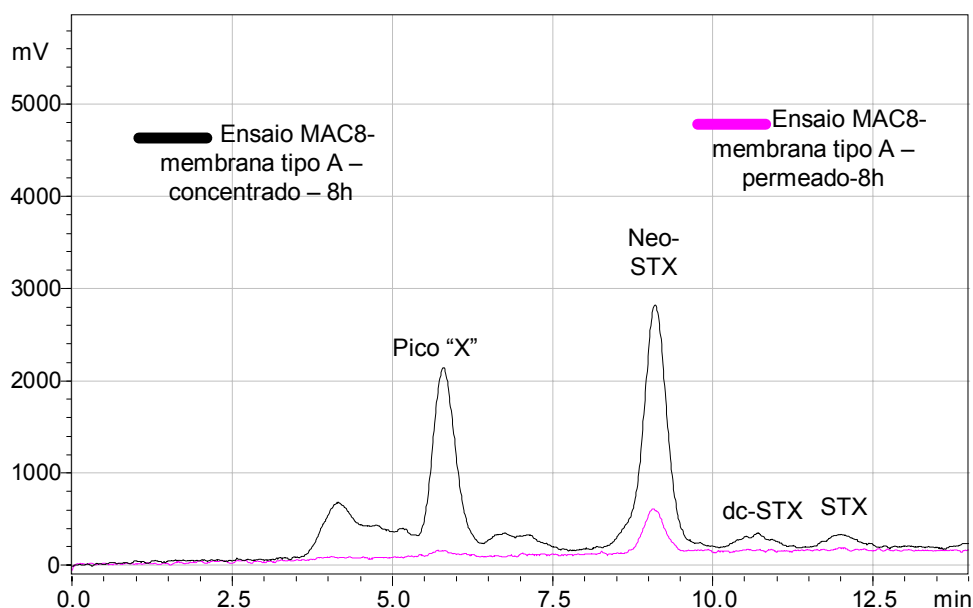


Figura 5.16 - Cromatograma de remoção de saxitoxinas com valor de pH 10,5 para membrana de acetato de celulose (tipo A).

Acredita-se que a maior remoção de saxitoxinas obtida com o aumento do valor de pH pode ser atribuída às interações eletrostáticas que dominaram o processo de remoção. Com elevação do pH acima do pKa do composto, ocorre dissociações e as saxitoxinas vão se tornando desprotonadas e tendo suas cargas negativas aumentadas. Segundo Llewellyn (2006) os grupos guanidinos das saxitoxinas são essenciais na sua interação com outras moléculas. O grupo 7,8,9, com pKa próximo de 8 nas três variantes (STX, dc-STX e Neo), se torna desprotonado com pH acima desse valor.

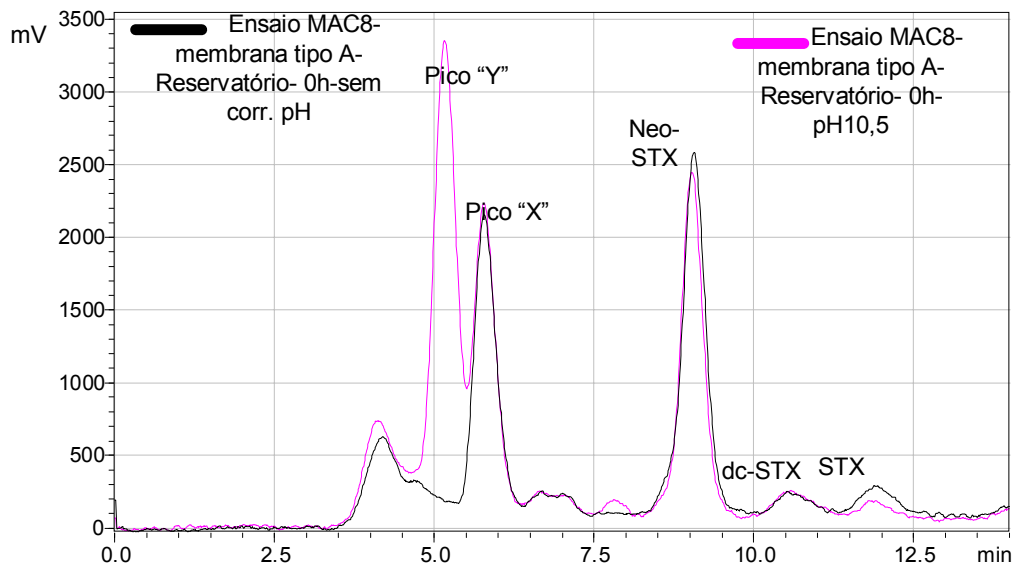
No valor de pH analisado (10,5), pode ser que a maior influência tenha sido desse grupo, já que o grupo guanidino 1,2,3 possui pKa maior (cerca de 11,5) que o pH estudado. Para Neo-STX, no pH fisiológico, o radical N1-hidroxila é parcialmente desprotonado produzindo uma carga negativa próximo do grupo 1,2,3 guanidino, portanto é provável que essa carga negativa se eleve com pH acima do seu pKa, também.

A repulsão evita um maior contato do soluto com a membrana diminuindo, assim a influência da adsorção como foi visto na Figura 5.14 e dificulta a possibilidade de contato com a membrana evitando que a Neo-STX permeie através dela. Comportamento similar ocorreu para o  $\beta$ -estradiol nos ensaios com valor de pH em torno de 10,5.

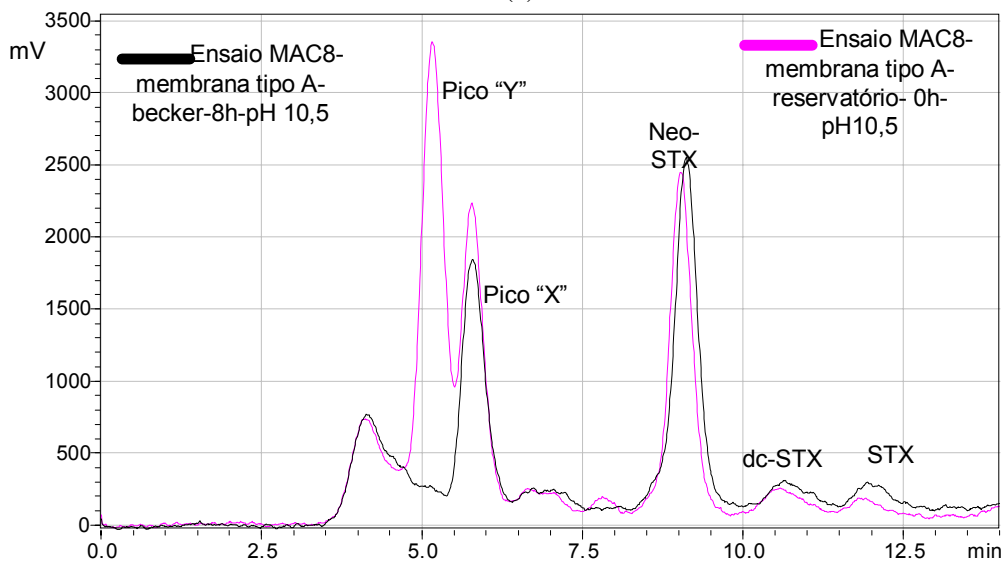
Quanto à avaliação da degradação natural das saxitoxinas no valor de pH em torno de 10,5 pode-se verificar pelos cromatogramas da Figura 5.17 que houve alteração principalmente no pico “X” (possivelmente variantes de GTX) e na STX.

Analisando-se a Figura 5.17, observa-se que com a elevação do valor de pH para 10,5 a STX é um pouco reduzida e surge um pico “Y”. Depois de 8 horas a STX aumenta novamente, o pico “Y” é eliminado e o pico “X” é um pouco reduzido. No caso da Neo-STX, houve pouca ou nenhuma variação. Esse comportamento deve ser confirmado por meio de maiores números de repetições em trabalhos futuros. Como as variações de STX nos cromatogramas foram pequenas é pouco provável que esse comportamento seja uma intertransformação de saxitoxinas. Além disso, apesar de diversos autores relatarem transformações de saxitoxinas, as condições de degradação mais rápida são em pHs elevados e altas temperaturas, por volta de 100 °C (Indrasena e Gill, 1999). Alguns estudos verificaram degradações de saxitoxinas em 25°C (mesma temperatura utilizada no presente trabalho), mas depois de dias ou meses (Indrasena e Gill, 2000).

No caso da análise das saxitoxinas foram realizados ensaios de dessorção quando se testou os valores de pH 5 e pH 10,5. Em ambos, a concentração no permeado foi abaixo do limite de detecção do CLAE e a distribuição de picos nos cromatogramas indicou que as concentrações de saxitoxinas tenderam a zero. Isso era de se esperar para o caso do ensaio com valor de pH em torno de 10,5 onde praticamente não houve adsorção. Para o caso do ensaio com valor de pH em torno de 5, talvez como o pH do ensaio de dessorção foi baixo (o da água mili-Q) o tempo de dessorção não foi suficiente para dessorver todo material da membrana.



(a)



(b)

Figura 5.17 - Cromatogramas do teste de degradação natural de saxitoxinas do ensaio para membrana de acetato de celulose (tipo A) e valor de pH em torno de 10,5

## 6 - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Este trabalho avaliou a remoção dos contaminantes orgânicos,  $\beta$ -estradiol e saxitoxinas, em água mili-Q, por meio de um sistema de separação por membranas em escala de bancada com fluxo do tipo tangencial, utilizando-se dois tipos de membrana, uma de acetato de celulose e outra composta (poliamida sobre suporte de polissulfona). A pressão de trabalho foi mantida constante em cerca de 689kPa e a velocidade tangencial em 0,4 m/s.

Com base nos resultados dos ensaios, algumas observações podem ser apresentadas sobre parâmetros operacionais, eficiências de remoção dos contaminantes, mecanismos envolvidos no processo de remoção, influência do pH da solução e dos diferentes tipos de membrana no processo de remoção. Essas observações serão úteis para abrir um leque de reflexões sobre a remoção dos contaminantes orgânicos estudados neste trabalho por nanofiltração, questão ainda muito pouco estudada no Brasil. Entretanto, trata-se de um estudo de caráter prospectivo e as conclusões e observações discutidas no presente Capítulo devem ser validadas e complementadas em trabalhos futuros.

Nas condições operacionais analisadas, observou-se uma recuperação de água (vazão do permeado/vazão do concentrado) muito baixa (cerca de 0,1%) em todos os ensaios realizados neste trabalho se comparada a módulos comerciais (cerca de 10% ou mais dependendo do arranjo). Esse resultado pode ter sido influenciado pela opção de se adotar uma velocidade tangencial maior para minimizar o efeito da polarização da concentração. O efeito da velocidade tangencial na remoção de contaminantes orgânicos é controverso na literatura, por isso recomenda-se que em trabalhos futuros sejam avaliados outros cenários de parâmetros, como diferentes velocidades tangenciais e pressões de trabalho maiores para verificar a influência dessas características na eficiência de remoção das saxitoxinas e  $\beta$ -estradiol pelas membranas de nanofiltração estudadas, sob condição de maior recuperação de água.

As taxas de fluxo do permeado durante os ensaios de nanofiltração foram um pouco maiores no caso das membranas compostas de poliamida do que para as membranas de acetato, tanto nos ensaios com água contaminada com saxitoxinas quanto com água

contaminada com  $\beta$ -estradiol. O valor de pH da água parece não ter tido influência nas taxas de fluxo do permeado, já que para o mesmo contaminante, os ensaios em diferentes valores de pH de solução não resultaram em fluxos de permeados notadamente diferentes.

Não houve redução significativa da vazão do permeado ao longo do tempo de duração de cada um dos ensaios (máximo de 10 horas), com exceção da primeira hora, onde se acredita que o sistema não estava totalmente estabilizado. Isso indica que não houve problema de depósitos da membrana e nem mudanças na sua característica, como alteração no diâmetro dos poros que pudessem alterar a vazão. Esse fato foi observado independente da concentração inicial de contaminante ser baixa (10  $\mu\text{g/L}$  na água contaminada com  $\beta$ -estradiol) ou mais alta (máximo de cerca de 109  $\mu\text{g/L}$  de Neo-STX na água contaminada com saxitoxinas e outros compostos intracelulares) e independente do valor de pH da água de estudo do ensaio.

A eficiência de remoção do  $\beta$ -estradiol ao final de 10 horas (tempo de duração máximo dos ensaios) foi maior para a membrana composta (cerca de 79%) do que para a membrana de acetato de celulose (cerca de 55%). No entanto, como as curvas de remoção de  $\beta$ -estradiol pelas duas membranas estudadas permaneceram decrescentes ao longo de todo ensaio, esses valores ainda estão superestimados e devem ser considerados apenas em termos relativos.

Na remoção do  $\beta$ -estradiol, o fenômeno da adsorção ocorreu nas duas membranas estudadas. A adsorção foi mais acentuada, em geral, nas duas primeiras horas, mas o equilíbrio não foi alcançado até as 10 horas de operação analisadas. Assim, recomenda-se a realização de ensaios com tempo de duração mais longo para se alcançar o limite de adsorção da membrana e para se obter a eficiência de remoção real das membranas estudadas. Além disso, estudos da literatura alcançaram o equilíbrio da remoção de hormônios similares em menos tempo, por isso é interessante, também, realizar ensaios com alterações nos parâmetros, como concentração inicial do contaminante, velocidade tangencial ou pressão para verificar a influência desses parâmetros no tempo de alcance do equilíbrio de adsorção.

Os ensaios de dessorção realizados parecem não ter sido eficientes para verificação da massa de contaminante adsorvida na membrana. Apesar disso, o fato da concentração de  $\beta$ -

estradiol no permeado ser significativa (cerca de 3 $\mu$ g/L) indica a possibilidade de o  $\beta$ -estradiol permear através da membrana e contaminar o permeado, fazendo da adsorção do  $\beta$ -estradiol um risco para o tratamento de água que deve ser avaliado com mais detalhes em trabalhos futuros.

Além da adsorção, acredita-se que o mecanismo de peneiramento contribuiu no processo de remoção do  $\beta$ -estradiol. A membrana de acetato com peso MWCO maior que o peso molecular do estradiol apresentou menor porcentagem de remoção do que a membrana composta com menor MWCO. O efeito eletrostático não foi considerado atuante nos ensaios com pH em torno de 5, pois a carga do estradiol é neutra nessa condição.

A adsorção do  $\beta$ -estradiol na membrana composta foi bastante reduzida quando o valor de pH da solução foi elevado de 5 para 10,5. Esse comportamento também foi verificado por diversos autores. No entanto, diferentemente de alguns autores as remoções nos ensaios com valor de pH 10,5 (cerca de 87%) foram superiores àquelas em condições de valor de pH mais baixo. Atribui-se esse comportamento ao fato de que em valor de pH acima da constante de dissociação ácida do  $\beta$ -estradiol, este adquire uma carga negativa e a repulsão eletrostática parece ser o mecanismo que dominou o processo de remoção em detrimento da adsorção. Recomenda-se que sejam realizados experimentos com valores de pH na faixa utilizada comumente no tratamento de água para avaliação de seus impactos na remoção do contaminante.

Nos ensaios com valor de pH em torno de 7, a membrana de acetato de celulose mostrou-se mais eficiente na remoção de saxitoxinas. A membrana composta apresentou porcentagem de remoção final (na décima hora de ensaio) de Neo-STX de aproximadamente 10%, enquanto que para a membrana de acetato de celulose, a remoção de Neo-STX foi de cerca de 33%. As remoções das variantes dc-STX e STX não foram calculadas para nenhum dos ensaios, pois suas concentrações no permeado ficaram abaixo do limite de detecção do CLAE (3  $\mu$ g/L) na maioria das amostras coletadas.

Cabe salientar que os outros compostos intracelulares dissolvidos originados da lise das células de *Cylindrospermopsis raciborkii*, além, provavelmente, de outras variantes de toxinas não identificadas, foram removidos de forma eficiente no processo de nanofiltração, o que é importante quando se considera que a água de abastecimento deve ser desinfetada e

que os compostos intracelulares das algas e cianobactérias são considerados precursores de sub-produtos potencialmente tóxicos da desinfecção. Recomenda-se que em estudos futuros sejam realizadas análises quantitativas de matéria orgânica, cor, outras variantes de saxitoxinas para uma melhor avaliação do potencial da membrana e das interferências cruzadas.

Tanto nos ensaios com valor de pH 7 quanto no valor de pH 5, a variante Neo-STX apresentou uma redução de concentração no concentrado ao longo do tempo de duração do ensaio para a membrana de acetato de celulose. Nas membranas compostas, a concentração no concentrado apresentou uma intensa diminuição inicial e posteriormente uma tendência à estabilização. Para os dois tipos de membranas o decaimento da concentração do concentrado sugere a ocorrência do fenômeno de adsorção de Neo-STX nas membranas.

No caso das variantes STX e dc-STX a concentração do concentrado permaneceu mais constante ao longo do tempo, indicando que, praticamente, não houve adsorção desses compostos em nenhuma das duas membranas. No entanto, o fato da Neo-STX se apresentar em maior concentração na água de estudo pode ter influenciado na competitividade por pontos adsorptivos da membrana. Recomenda-se o estudo isolado dessas variantes para se avaliar seu potencial de adsorção nas membranas.

A membrana com maior peso molecular de corte (acetato de celulose), maior inclusive do que o peso molecular da Neo-STX, apresentou maior porcentagem de remoção dessa variante de saxitoxina do que a membrana composta. Não se encontrou uma explicação para essa melhor rejeição de Neo-STX. Os ângulos de contato (que representa a hidrofobicidade) das duas membranas são bem próximos e parece não ser a razão. A membrana composta possui uma carga negativa maior do que a membrana de acetato de celulose e esse fato pode ter contribuído para uma maior atração entre a neo-STX e a membrana composta, prejudicando, assim, a eficiência de remoção de Neo-STX por esta membrana.

A elevação do valor de pH da solução de 7 para 10,5 influenciou positivamente na remoção das saxitoxinas pela membrana de acetato de celulose e praticamente eliminou a adsorção de Neo-STX nesta membrana. A remoção final de Neo-STX foi de cerca de 86%, bem maior que nos outros ensaios realizados com valor de pH mais baixo. Salienta-se,

ainda, que todos os picos observados no cromatograma da água de estudo foram praticamente eliminados durante a nanofiltração nesse valor de pH. Isso indica a remoção dos diferentes compostos presentes. Da mesma forma que para o  $\beta$ -estradiol, recomenda-se que sejam realizados ensaios com valores de pH na faixa utilizada comumente no tratamento de água para avaliar seus impactos na remoção das saxitoxinas.

O fato de, por um lado, o  $\beta$ -estradiol ser hidrofóbico e as saxitoxinas serem hidrofílicas, e por outro lado, as saxitoxinas apresentarem carga positiva no grupo guanidino 1,2,3 enquanto o  $\beta$ -estradiol é neutro, em valores de pH da água mais próximos da neutralidade, podem justificar as diferenças nos processos de remoção dos dois compostos. No entanto, o papel desses parâmetros na remoção ainda é pouco entendido e merece estudos mais aprofundados. Apesar de as saxitoxinas apresentarem mais grupos funcionais capazes de formar pontes de hidrogênio, no presente trabalho, as saxitoxinas apresentaram menores eficiências de remoções do que o  $\beta$ -estradiol. Uma hipótese é que a carga positiva, associada ao grupamento guanidino, pode ter facilitado a aproximação das saxitoxinas da membrana, favorecendo uma posterior permeação através da membrana.

A elevação do valor de pH, a cerca de 10,5, influenciou positivamente a remoção do  $\beta$ -estradiol e das saxitoxinas, provavelmente pela alteração nas cargas elétricas desses compostos, aumentando a eficiência de remoção dos contaminantes estudados para valores bem semelhantes entre si, mesmo a avaliação tendo sido realizada para a membrana composta no caso do  $\beta$ -estradiol e para a membrana de acetato de celulose no caso das saxitoxinas. Esse comportamento pode indicar que o efeito eletrostático exerce uma função importante no processo de remoção dos contaminantes estudados.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agenson, K.O., Oh, J.I e Urase, T. (2003). “Retention of a wide variety of organic pollutants by different nanofiltration/ reverse osmosis membranes: controlling parameters of process.” *Journal of Membrane Science*, **225**, 91-103.
- Agenson, K.O. e Urase, T. (2007). “Change in membrane performance due to organic fouling in nanofiltration (NF)/ reverse osmosis (RO) applications.” *Separation and Purification Technology*, **55**, 147-156.
- Alda, M.J.L., Diaz-Cruz, S., Petrovic, M. e Barceló, D. (2003). “Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, dugs and alkylphenolic surfactants) in the aquatic environment.” *Journal of Chromatography*, **1000**, 503-526.
- Al-Amoudi, A., Williams, P., Mandale, S. e Lovitt, R.W. (2007) “Cleaning results of new and fouled nanofiltration membrane characterized by zeta potential and permeability”. *Separation and Purification Technology*, **54**, 234-240.
- Aptel, P., Buckley, C.A. (1996). “Categories of membrane operations.” In: Mallevalle, J., Odendaal, P.E., Wiesner, M.R. (eds.) *Water Treatment Membrane Processes*. American Water Works Association Research Foundation – AWWARF, Lyonnaise des Eaux – LdE, Water Research Comission –WRC, McGraw-Hill, New York, E.U.A., 2.1-2.24.
- Arantes, C. (2004). *Uso da separação lenta para a remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* e saxitoxinas*. Dissertação de Mestrado, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade de Brasília, DF, 109p.
- AWWA - American Water Works Association/American Society of Civil Engineers. (1998). *Water Treatment Plant Desing*. McGraw-Hill, 3° ed.,New York, E.U.A, 806p.
- Azevedo, S.M.F.O., Evans, W.R., Carmichael, W.W. e Namikoshi, M. (1994). “First report of microcystins from Brazilian isolate of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, **6**, 261-265.
- Azevedo S.M.F.O. (1996) “Toxic Cyanobacteria and the Caruaru Tragedy.” IV Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 83-84.
- Azevedo, S.M.F.O e Brandão, C.C.S.B. (2003). “Cianobactérias Tóxicas na Água para Consumo Humano na Saúde Pública e Processos de Remoção em Água para Consumo Humano.” FUNASA.

- Baker, R.W. (2004). *Membrane Technology and Applications*. John Wiley & Sons, Inglaterra, 2° ed., 538p.
- Bellona, C., Drewes, J.E., Xu, P. e Amy, G. (2004). "Factors affecting the rejection of organic solutes during NF/RO treatment – a literature review." *Water Research*, **38**(12), 2795-2809.
- Bila, D.M. e Dezotti, M. (2003). "Fármacos no meio ambiente". *Química Nova*, **26**(4), 523-530.
- Bittencourt-Oliveira, M.C. e Molica, R. (2003). "Cianobactéria Invasora". *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, **30**, 82-90.
- Bowen, W.R., Doneva, T.A. e Stoton, A.G. (2002). "The use of atomic force microscopy to quantify membrane surface electrical properties." *Physicochemical and Engineering Aspects*, **201**, 73-83.
- Braeken, L., Ramaekers, R., Zhang, Y., Maes, G., Van der Bruggen, B. e Vandecasteele, C. (2005). "Influence of hydrophobicity on retention in nanofiltration of aqueous solutions containing organic compounds." *Journal of Membrane Science*, **252**, 195-203.
- Brasil (2000). Ministério da Saúde. "Portaria nº1469: Qualidade da água para consumo humano." *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 29 de dezembro de 2000.
- Brasil (2004). Ministério da Saúde. "Portaria nº 518: Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão potabilidade." *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasil, DF, 25 de março de 2004.
- Bruice, P.Y. (2006). *Química Orgânica*. Pearson Prentice Hall, São Paulo, Brasil, vol. 1, 4°ed., 590p.
- Bursch, W., Fuerhacker, M., Gemeiner, M., Grillitsch, B. Jungbauer, A., Kreuzinger, N., Scharf, S., Schmid, E., Skutan, S. and Walter, I. (2004). "Endocrine disrupters in the aquatic environment: the Austrian approach." *Water Science and Technology*, **50**(5), 293-300.
- Carmichael, W.W. (1992a). *A Status Report on Planktonic Cyanobacteria (Blue-Green Algae) and Their Toxins*. EPA/600/R-92/079, E.U.A., 141p.
- Carmichael, W.W. (1992). "Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins." *Journal of Applied Bacteriology*, **72**, 445-449.

- Carmichael, W.W. (1994). "The Toxins of Cyanobacteria". *Scientific American*, **270**(1), 78-86.
- Carvalho, P.V.V.C., Silvestre, A.N. e Moura, E.B.A. (1999). "Ocorrência de cianobactérias potencialmente tóxicas do gênero *Cylindrospermopsis* em mananciais de abastecimento público do estado de Pernambuco/Brasil – Abordagem Preliminar." *Anais do 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, Rio de Janeiro, Brasil, 3775-3783.
- Castro, C.M.B. (2002). "Perturbadores endócrinos ambientais: uma questão a ser discutida". *Engenharia Sanitária e Ambiental*, **7**(1-2), 4-5.
- Castro, D., Vera, D., Lagos, N., García, C. e Vasquez, M. (2004). "The effect of temperature on growth and production of paralytic shellfish poisoning toxins by the cyanobacterium *cylindrospermopsis raciborskii* C10". *Toxicon*, **44**, 483-489.
- Ceballos, B.S.O., Azevedo, S.M.F.O. e Bendate, M.M.A. (2006). "Fundamentos biológicos e ecológicos relacionados as cianobactérias." In: Pádua, V.L. (coord.) *Contribuição ao Estudo de Cianobactérias e Microcontaminantes Orgânicos por meio de Técnicas de Tratamento de Água para Consumo Humano*. PROSAB, ABES/RJ, Sermograf, Belo Horizonte-MG, 23-79.
- Chellapa, N.T. e Costa, M.A.M. (2003). "Dominant and co-existing species of Cyanobacteria from a Eutrophicated reservoir of Rio Grande do Norte State, Brazil." *Acta Oecologica International Journal of Ecology*, **2**, S3-S10.
- Chen, C.Y. e Chon, H.N. (2002). "Modified high-performance liquid chromatography method for analysis of PSP toxins in dinoflagellate, *Alexandrium minutum*, and shellfish from Taiwan." *Food Research International*, **35**, 715-720.
- Chorus, I. e Bartram, J. (1999). *Toxic Cyanobacteria in Water*. E&FN Spon, Londres, 416p.
- Coille, I., Reder, S., Bucher, S. e Gauglitz, G. (2002). "Comparison of two fluorescence immunoassay methods for the detection of endocrine disrupting chemicals in water." *Biomolecular Engineering*, **18**(6), 273-280.
- Comissão Européia. (1999). "Community strategy for endocrine disrupter – a range of substances suspected of interfering with hormone systems of humans and wildlife." *Communication from the Commission to the Council and the European Parliament – COM(1999)706 final*.

- Comissão Europeia (2004). "Community strategy for endocrine disrupter – a range of substances suspected of interfering with hormone systems of humans and wildlife." *Commission Staff Working Document – SEC(2004)1372*.
- Comissão Europeia. (2006). "Endocrine disrupters website-how the European Commission uses the precautionary principle to tackle endocrine disrupters." [http://europa.eu.int/comm/environment/endocrine/definitions/endodis\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/environment/endocrine/definitions/endodis_en.htm), consultada as 21h de 17/04/2006.
- Christiansen, L.B., Nielsen, M.W. e Helweg, C. (2002). *Feminisation of fish-the effect of estrogenic compounds and their fate in sewage treatment plants and nature*. Danish Environmental Protection Agency, 184p.
- Danish EPA. (2003). "Evaluation of analytical chemical methods for detection of estrogens in the environment." *Working Report n° 44*.
- Falconer, I.R. (1994). "Health Implications of Cyanobacterial (Blue-Green Algal) Toxins." In: Steffensen, D.A. e Nicholson, B.C. (eds.) *Toxic Cyanobacteria Current Status of Research and Management*. Proceedings of an International Workshop Adelaide, Austrália, 61-65.
- Falconer, I., Bartram, J., Chorus, I., Kuiper-Goodman, T., Utkilen, H., Burch, M. e Cood, G.A. (1999). "Safe Levels and Safe Practices." In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic Cyanobacteria in Water*. E&FN Spon, Londres, 155-178.
- Fischer, J.S. (2004). "Are all EDC effects mediated via steroid hormone receptors?." *Toxicology*, **205**(1-2), 33-41.
- Fitzgerald, J., Cunliffe, D.A. e Burch, M.D. (1999). "Development of Health Alerts for Cyanobacteria and Related Toxins in Drinking Water in South Australia." *Environmental Toxicology*, **14**(1), 203-209.
- Furuichi, T., Kannan, K., Giesy, J.P. e Masunaga, S. (2004). "Contribution of known endocrine disrupting substances to the estrogenic activity in Tama River water samples from Japan using instrumental analysis and in vitro reporter gene assay." *Water Research*, **38**(20), 4491-4501.
- Gallenkemper, M., Wintgens, T., Melin, T. (2003) "Nanofiltration of endocrine disrupting compounds." *Water Science and Technology: Water Supply*, 3(5-6), 321-327.
- Ghiselli, G. e Jardim, F.J. (2007). "Interferentes endócrinos no meio ambiente. *Química Nova*, **30**(3).

- Gijsbertsen-Abrahamse, A.J., Schmidt, W., Chorus, I. e Heijman, S.G.J. (2006). "Removal of cyanotoxins by ultrafiltration and nanofiltration." *Journal of Membrane Science*, **276**, 252-259.
- Gomes, R.L., Scrimshaw, M.D. e Lester, J.N. (2003). "Determination of endocrine disrupters in sewage treatment and receiving waters." *Trends in Analytical Chemistry*, **22**(10), 697-707.
- Guyton, A.C. (1989). *Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças*. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, 572p.
- Harvey, P.W. e Everett, D.J. (2006). "Regulation of endocrine-disrupting chemicals: critical overview and deficiencies in toxicology and risk assessment for human health". *Best Practice and Research*, **20**(1), 145-165.
- Indrasena, W.M. e Gill, T.A. (1999). "Thermal degradation of paralytic shellfish poisoning toxins in scallop digestive glands". *Food Research International*, **32**, 49-57.
- Indrasena, W.M. e Gill, T.A. (2000). "Storage stability of paralytic shellfish poisoning toxins". *Food Chemistry*, **71**, 71-77.
- IPCS – International Programme on Chemical Safety. (2002). *Global Assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors*.
- Jin, X., Hu, J. e Ong, S.L. (2007). "Influence of dissolved organic matter on estrone removal by NF membranes and the role of their structures". *Water Research*, **41**, 3077-3088.
- Johnson, I. e Harvey, P. (2002). *Study on the scientific evaluation of 12 substances in the context of endocrine disrupter priority list of actions*. Comissão Europeia, 613p.
- Jones, G.J. e Negri, A.P. (1997). "Persistence and degradation of cyanobacterial Paralytic Shellfish Poisons (PSPs) in freshwaters." *Water Research*, **31**(3), 525-533.
- Kawamura, S. (2000). *Integrated Design and Operation of Water Treatment Facilities*. John Wiley & Sons, Inc., New York, E.U.A., 691p.
- Khan, S.J., Wintgens, T., Sherman, P., Zaricky, J. e Schafer, A.I. (2004). "Removal of hormones and pharmaceuticals in the advanced water recycling demonstration plant in Queensland, Australia." *Water Science and Technology*, **50**(5), 15-22.
- Kimura, K., Amy, G., Drewes, J. e Watanabe, Y. (2003a). "Adsorption of hydrophobic compounds onto NF/RO membranes: an artifact leading to overestimation of rejection". *Journal of Membrane Science*, **221**, 89-101.
- Kimura, K., Amy, G., Drewes, J., Heberer, T., Kim, T.U. e Watanabe, Y. (2003b). "Rejection of organic micropollutants (Disinfection by-products, endocrine disrupting

- compounds, and pharmaceutically active compounds) by NF/RO membranes”. *Journal of Membrane Science*, **227**, 113-121.
- Kimura, K., Toshima, S., Amy, G. e Watanabe, Y. (2004). “Rejection of neutral endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceutical active compounds (PhACs) by RO membranes.” *Journal of Membrane Science*, **245**(1-2), 71-78.
- Komori, K., Tanaka, H., Okayasu, Y., Yasojima, M., e Sato, C. (2004). “Analysis and occurrence of estrogen in wastewater in Japan.” *Water Science and Technology*, **50**(5), 93-100.
- Kuiper-Goodman, T., Falconer, I. e Fitzgerald, J. (1999). “Human Health Aspects.” In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic Cyanobacteria in Water*. E&FN Spon, Londres, 113-153.
- Lagos, N., Ondera, H., Zagatto, P.A., Andrinolo, D., Azevedo, S.M.F.O. e Oshima, Y. (1999). “The first evidence of paralytic shellfish toxins in the fresh water cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil.” *Toxicon*, **37**, 1359-1373.
- Lehninger, A.L. (1985). *Princípios de Bioquímica*. Sarvier, São Paulo, Brasil, 725p.
- Llewellyn, L.E. (2006). “Saxitoxin, a toxic marine natural that targets a multitude of receptors”. *The Royal Society of Chemistry*, **23**, 200-222.
- Manttari, M. e Nystrom, M. (2006). “Negative retention of organic compounds in nanofiltration.” *Desalination*, **199**, 41-42.
- Manttari, M., Pihlajamaki, A. e Nystrom, M. (2006). “Effect of pH on hydrophilicity and charge and their effect on the filtration efficiency of NF membranes at different pH.” *Journal of Membrane Science*, **280**, 311-320.
- Matthiessen, P. (2000). “Is endocrine disruption a significant ecological issue?.” *Ecotoxicology*, **9**, 21-24.
- Mazzoni, C. e Bandini, S. (2006). “On nanofiltration Desal-5 DK performances with calcium chloride-water solutions.” *Separation and Purification Technology*, **52**, 232-240.
- McCallum, E.A. (2005). Adsorption, desorption and steady-state removal of estrogenic hormone 17beta-estradiol by nanofiltration and ultrafiltration membranes. Dissertação de Mestrado, Georgia Institute of Technology, EUA, 59p.
- McLachlan, J.A., Simpson, E. e Martin, M. (2006). “Endocrine disrupters and female reproductive health”. *Best Practice and Research*, **20**(1), 63-75.

- Mierzwa, J.C. (2006). "Processos de separação por membranas para tratamento de água"  
 In: Pádua, V.L. (coord.) *Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano*. ABES/RJ, Sermograf, Belo Horizonte, MG, 335-379.
- Molica, R.J.R., Oliveira, E.J.A., Carvalho, P.V.V.C., Costa, A.N.S.F., Cunha, M.C.C., Melo, G.L. e Azevedo, S.M.F.O. (2005). "Ocorrência de saxitoxins and an anotoxina(s)-like anticlonesterase in a Brazilian drinking water supply." *Harmful Algae*, **4**(4), 743-753.
- Moons, K., Bruggen, B.V. (2006). "Removal of micropollutants during drinking water production from surface water with nanofiltration." *Desalination*, **199**, 245-247.
- Nghiem, L.D., Schafer, A.I. e Waite, T.D. (2001). "Adsorption of estrona on NF and RO membranes in water and wastewater treatment." *Anais do II World Water Congress of IWA*, Berlim, Alemanha.
- Nghiem, L.D., Schafer, A.I., Waite, T.D. (2002). "Adsorptive interactions between membranes and trace contaminants." *Desalination*, **147**(1-3), 269-274.
- Nghiem, L.D., Schafer, A.I. e Waite, T.D. (2003). "Membrane filtration in water recycling: removal of natural hormones." *Water Science & Technology: WaterSupply*, **3**(3), 155-160.
- Nghiem, L.D., Manis, A., Soldenhoff, K. e Schäfer, A.I. (2004a). "Estrogenic hormone removal from wastewater using NF/RO membranes." *Journal of Membrane Science*, **242**(1-2), 37-45.
- Nghiem, L.D., Schäfer, A.I. e Elimelech, M. (2004b). "Removal of natural hormones by nanofiltration membranes: measurement, modeling, and mechanisms." *Environmental Science and Technology*, **38**, 1888-1896.
- Nghiem, L.D. e Schafer, A.I. (2006). "Critical risk points of nanofiltration and reverse osmosis processes in water recycling applications." *Desalination*, **187**, 303-312.
- Nghiem, L.D., Schafer, A.I. e Elimelech, M. (2006). "Role of eletrostatic interactions in the retention of pharmaceutically active contaminants by a loose nanofiltration membrane." *Journal of Membrane Science*, **286**, 52-59.
- Nobrega, R., Borges, C.P., Habert, A.C. (2005). "Processos de separação por membrana."  
 In: Pessoa Jr. A. e Kilikian, B.V. (coord.) *Purificação de Produtos Biotecnológicos*. Manole, Barueri, SP, 37-88.

- Norberg, D., H., S., Taylor, J. e Zhao, Y. (2007). "Surface characterization and performance evaluation of commercial fouling resistant low-pressure RO membranes." *Desalination*, **202**, 45-52.
- Oshima, Y. (1995). "Post-Column derivatization HPLC methods for Paralytic Shellfish Poisons." In: Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M. e Cembella, A.D. (eds.) *Manual on Harmful Marine Microalgae*, IOC Manuals and Guides n° 33, United Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), Paris, 81-94.
- Pouria, S., Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R.L., Barreto, V.T.S., Ward, C.J., Preiser, W., Poon, G.K., Neild, G.H. e Codd, G.A. (1998). "Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil." *The Lancet*, **352**, 21-26.
- Queiroz, S.C.N., Collins, C.H. e Jardim, C.S.F. (2001). "Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica." *Química Nova*, **24**(1), 68-76.
- Ribeiro, M. L. (2002). Remoção de composto orgânicos de águas por ultra e nanofiltração em membranas poliméricas. Tese de Doutorado, Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, 125p.
- Rubio, F.M., Ramsey, K.J. e Meyer, M.T. (2002). "Performance characteristics of na ultra-sensitive enzyme immunoassay (ELISA) for the analysis of 17 $\beta$ -estradiol in water samples." *Endocrine Disruptors and the Water Symposium*.
- Safe, S. (2004). "Endocrine disruptors and human health: is there a problem." *Toxicology*, **205**, 3-10.
- Sant'Anna, C.L. e Azevedo, M.T.P. (2000). "Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil". *Nova Hedwigia*, **71**(3-4), 359-385.
- Schafer, A.I., Nghien, L.D., e Waite, T.D. (2003). "Removal of the natural hormone estrona from aqueous solutions using nanofiltration and reverse osmosis." *Environmental Science and Technology*, **37**(1), 182-188.
- Schneider, R.P. e Tsutiya, M.T. (2001). *Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reúso*. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, São Paulo, Brasil, 234p.
- SciFinder Scholar (2004). Banco de dados on line versão 2004.2. American Chemical Society.
- Servos, M.R., Bennie, D.T., Burnison, B.K., Jurjovic, A., McInnis, R., Neheli, T., Schnell, A., Seto, P., Smyth, S.A. e Ternes, T.A. (2005). "Distribution of estrogens,



- 17 $\beta$ -estradiol and estrona, in Canadian municipal wastewater treatment plants.” *Science of the Total Environment*, **336**, 155-170.
- Sharpe, R.M. e Irvine, D.S. (2004). “How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health?(clinical review).” *British Medical Journal*, **328**, 447-451.
- Silva, E., Rajapakse, N. e Kortenkamp, A. (2002). “Something from nothing-eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects.” *Environmental Science Technology*, **36**, 1751-1756.
- Silva, A. S. (2005). Avaliação da capacidade de remoção de saxitoxinas por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzidos no Brasil. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil, Universidade de Brasília, DF, 113p.
- Silvestre, A.N., Carvalho, P.V.V.C., Moura, E.B.A. e Oliveira, M.S. (1999). “Florações tóxicas de cianobactérias do gênero *Cylindrospermopsis* em mananciais de abastecimento público no estado de Pernambuco.” *Anais do 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, Rio de Janeiro, Brasil, 3794-3802.
- Sivonen, K. e Jones, G. (1999). “Cyanobacterial toxins.” In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic Cyanobacteria in Water*. E&FN Spon, Londres, 41-111.
- Snyder, S., Vanderford, B., Pearson, R. e Rexing, D. (2003a). “Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for water treatment.” *Source Water Protection Symposium*, American Water Works Association.
- Snyder, S., Vanderford, B., Trenholm, R., Quiñones, O. e Rexing, D. (2003b). Endocrine disruptor and pharmaceutical analysis using direct-injection LC/MS/MS”. *Water Quality Technology Conference*, American Water Works Association.
- Stumpf, M., Ternes, T.A., Wilken, R.D., Rodrigues, S.V. e Baumann, W. (1999). “Polar drug residues in sewage and natural waters in the sate of Rio de Janeiro, Brazil.” *The Science of the Total Environment*, **225**, 135-141.
- Taylor, J.S. e Jacobs, P. (1996). “Reverse osmosis and nanofiltration.” In: Mallevalle, J., Odendaal, P.E., Wiesner, M.R. (eds.) *Water Treatment Membrane Processes*. American Water Works Association Research Foundation – AWWARF, Lyonnaise des Eaux – LdE, Water Research Comission –WRC, McGraw-Hill, NewYork, E.U.A, 9.1-9.70.
- Teixeira, M.G.L.C., Costa, M.C.N., Carvalho, V.L.P., Pereira, M.S. e Hage, E. (1993). “Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica Dam, Bahia, Brazil.” *Bulletin of the Pan American Health Organization*, **27**(3).

- Teixeira, M.R. e Rosa, M.J. (2005). "Microcystins removal by nanofiltration membranes." *Separation and Purification Technology*, **46**, 192-201.
- Teixeira, M.R. e Rosa, M.J. (2006). "Neurotoxic and hepatotoxic cyanotoxins removal by nanofiltration" *Water Research*, **40**, 2837-2846.
- Teixeira, M.R., Rosa, M.J. e Nystrom, M. (2005). "The role of membrane charge on nanofiltration performance." *Journal of Membrane Science*, **265**, 160-166.
- Ternes, T.A., Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R.D. e Servos, M. (1999). "Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. investigations in Germany, Canada and Brazil." *The Science of the Total Environment*, **225**, 81-90.
- USEPA (2006). "Endocrine disrupter screening program-assay status table." <http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/assayvalidation/status.htm>, consultada em 19:19h do dia 03/04/06.
- Veras, D.F. (2006). Remoção dos Perturbadores Endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol por Diferentes Tipos de Carvão Ativado em Pó (CAP) Produzidos no Brasil – Avaliação em Escala de Bancada. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Civil, Universidade de Brasília, DF, 139p.
- Verliefde, A.R.D., Heijman, S.G.J., Cornelissen, E.R., Amy, G., Van der Bruggen, B. e van Dijk, J.C. (2007). "Influence of eletrostatic interactions on the rejection with NF and assessment of the removal efficiency during NF/GAC treatment of pharmaceutically active compounds in surface water." *Water Research*, **41**, 3227-32240.
- Wagner, J. (2001). *Membrane Filtration Handbook – Practical Tips and Hints*. 2<sup>o</sup> ed., Osmonics Filtration and Separation Group, Minnetonka, 128p.
- Wang, Y., Hu, W., Cao, Z. e Fu, X. (2005). Occurrence of endocrine-disrupting compounds in reclaimed water from Tianjin, China." *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **383**(5), 857-863.
- Weber, S., Gallenkemper, T.M., Melin, T., Dott, W. e Hollender, J. (2004). "Efficiency of nanofiltration for the elimination of steroids from water." *Water Science and Technology*, **50**(5), 8-14.
- Weber, W.J. (1972). *Physicochemical Processes for Water Quality Control*. Wiley-interscience, New York, 640p.
- Wiesner, M.R. e Aptel, P. (1996). "Mass transport and permeate flux and fouling in pressure-driven processes." In: Mallevalle, J., Odendaal, P.E., Wiesner, M.R. (eds.)

- Water Treatment Membrane Processes*. American Water Works Association Research Foundation – AWWARF, Lyonnaise des Eaux – LdE, Water Research Commission – WRC, McGraw-Hill, 4.1-4.29.
- Wintgens, T., Gallenkemper, M. e Melin, T. (2004). “Removal of endocrine disrupting compounds with membrane processes in wastewater treatment and reuse.” *Water Science and Technology*, **50**(5), 1-8.
- Yoo, R.S., Carmichael, W.W., Hoehn, R.C. e Hrudey, S.C. (1995). *Cyanobacterial (blue-green algal) Toxins: A Resource Guide*. AWWA Research Foundation and American Water Works Association, E.U.A., 229p.
- Yoo, L.J., Sanchez, L., Fitzsimmons, S e Wehner, M. (2004). “Analysis of estrogens/hormones using ESI/LC/MS coupled with universal resin extraction technology.” *Water Quality Technology Conference*, American Water Works Association.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A. e Esparza, M. (2003). “HPLC-fluorescence detection and adsorption of bisfenol A, 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethynyl estradiol on powdered activated carbon.” *Water Research*, **37**, 3530-3537.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A. e Wert, E.C. (2006). “Nanofiltration and ultrafiltration of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products.” *Journal of Membrane Science*, **270** (1-2), 88-100.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A., Wert, E.C. e Yoon, J. (2007). “Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes.” *Desalination*, **202**, 16-23.
- Yunes, J.S., Cunha, N.T., Barros, L.P., Proença, L.A.O. e Monserrat, J.M. (2003). “Cyanobacterial Neurotoxins from Southern Brazilian freshwaters.” *Comments on Toxicology*, **9**, 103-115.
- Zhao, Y., Taylor, J., Hong, S. (2005). “Combined influence of membrane surface properties and feed water qualities on RO/NF mass transfer, a pilot study.” *Water Research*, **39**, 1233-1244