

## CURVA DE RUPTURA DO 17 $\alpha$ -ETINILESTRADIOL NO SOLO

## 17 $\alpha$ -ETHINYLESTRADIOL BREAKTHROUGH IN SOIL

## CURVA DE RUPTURA DEL 17 $\alpha$ -ETINILESTRADIOL EN EL SUELO

Renan Angrizani de Oliveira<sup>1</sup>  
Edgard Robles Tardelli<sup>2</sup>  
Angela Faustino Jozala<sup>3</sup>  
Denise Grotto<sup>4</sup>

**Resumo:** O 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) é um hormônio sintético de ampla utilização e difícil degradação. Por meio da curva de ruptura pode-se observar seu transporte no solo, coletado de uma região com cobertura vegetal para estudar o comportamento do EE2 em leito fixo. As concentrações finais de EE2 obtidas nos experimentos foram quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Desta forma, a curva de ruptura obtida para o EE2 nos solos foi definida em 40 min no estudo.

**Palavras-chave:** Desreguladores Endócrinos. Adsorção. Contaminação. Leito Fixo.

**Abstract:** 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) is a synthetic hormone widely used with hard degradation. Through the breakthrough, is observed the transport in the soil, collected from a region with vegetal cover to study the behavior of EE2 in fixed bed. The final concentrations of EE2 obtained in the experiments were quantified by high performance liquid chromatography. Thus, the breakthrough obtained for EE2 in the soils was defined in 40 min in the study.

**Keywords:** Endocrine disrupters. Adsorption. Contamination. Fixed Bed.

**Resumen:** El 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) es una hormona sintética de amplio uso y difícil degradación. Por medio de la curva de ruptura se puede observar su transporte en el suelo, recogido de una región con cobertura vegetal para estudiar el comportamiento del EE2 en lecho fijo. Las concentraciones finales de EE2 obtenidas en los experimentos fueron cuantificadas por cromatografía líquida de alta eficiencia. De esta forma, la curva de ruptura obtenida para el EE2 en los suelos fue definida en 40 minutos en el estudio.

**Palabras-clave:** Desreguladores Endocrinos. Adsorción. La contaminación. Lecho fijo.

Envio 09/02/2019

Revisão 09/03/2019

Aceite 09/03/2019

<sup>1</sup> Mestre. Programa de Pós-graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais. Universidade de Sorocaba. E-mail: renan\_angrizani@hotmail.com

<sup>2</sup> Professor Mestre. Universidade de Sorocaba. E-mail: edgard.tardelli@prof.uniso.br

<sup>3</sup> Professora Doutora. Programa de Pós-graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais. Universidade de Sorocaba. E-mail: angela.jozala@prof.uniso.br

<sup>4</sup> Professora Doutora. Programa de Pós-graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais. Universidade de Sorocaba. E-mail: denise.grotto@prof.uniso.br



## Introdução

O  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) é um hormônio sintético e sua produção é derivada do hormônio natural  $17\beta$ -estradiol (E2). Este hormônio é de grande relevância por ser um medicamento amplamente utilizado por seres humanos como contraceptivo e tratamento hormonal; nas atividades pecuárias para promover o aumento da produtividade por meio do melhor crescimento e prevenção de distúrbios reprodutivos; e na aquicultura para otimizar o crescimento e desenvolver populações apenas de peixes fêmeas (Kuster et al., 2008; Silva et al., 2012; Aris et al., 2014).

Devido a sua natureza sintética, o EE2 é de difícil degradação e biodegradação. O EE2 se acumula em sedimentos e concentra-se na biota, e por possuir meia vida em ambientes aquáticos aeróbicos de 108 dias, permanece no ambiente por longos períodos. Entretanto, são escassos os estudos abordando sua degradação no ambiente (Zuo et al., 2006, 2013; Bila; Dezotti, 2007; Aris et al., 2014).

Os solos têm sua formação caracterizada como um sistema natural aberto em evolução constante decorrente da ação dos intemperismos intensos que ocorrem no manto de intemperismo da crosta terrestre (Sposito, 2008; Popp, 2010).

Conforme Raij (2011), este importante recurso natural possui características que lhe permitem sustentar a vida. Desta forma, faz-se necessário prezar por medidas de conservação deste recurso para a conservação de sua biota e flora e, conseqüentemente, prezando para a manutenção dos serviços ecossistêmicos prestados, tais como a manutenção da qualidade da água e produção de alimentos.

Por meio de estudos em leito fixo, é possível a obtenção da curva de ruptura, ou do inglês *breakthrough*, onde determina-se a remoção de um determinado composto em função do tempo (Lima et al., 2014; Raulino et al., 2014). A curva de ruptura é um importante parâmetro para determinação da dinâmica dos contaminantes no ambiente.

Portanto, o presente estudo visa avaliar a capacidade de adsorção do  $17\alpha$ -etinilestradiol no solo, por meio da curva de ruptura realizada em leito fixo, possibilitando verificar a interação do EE2 com o solo coletado de região com cobertura vegetal em Sorocaba-SP.

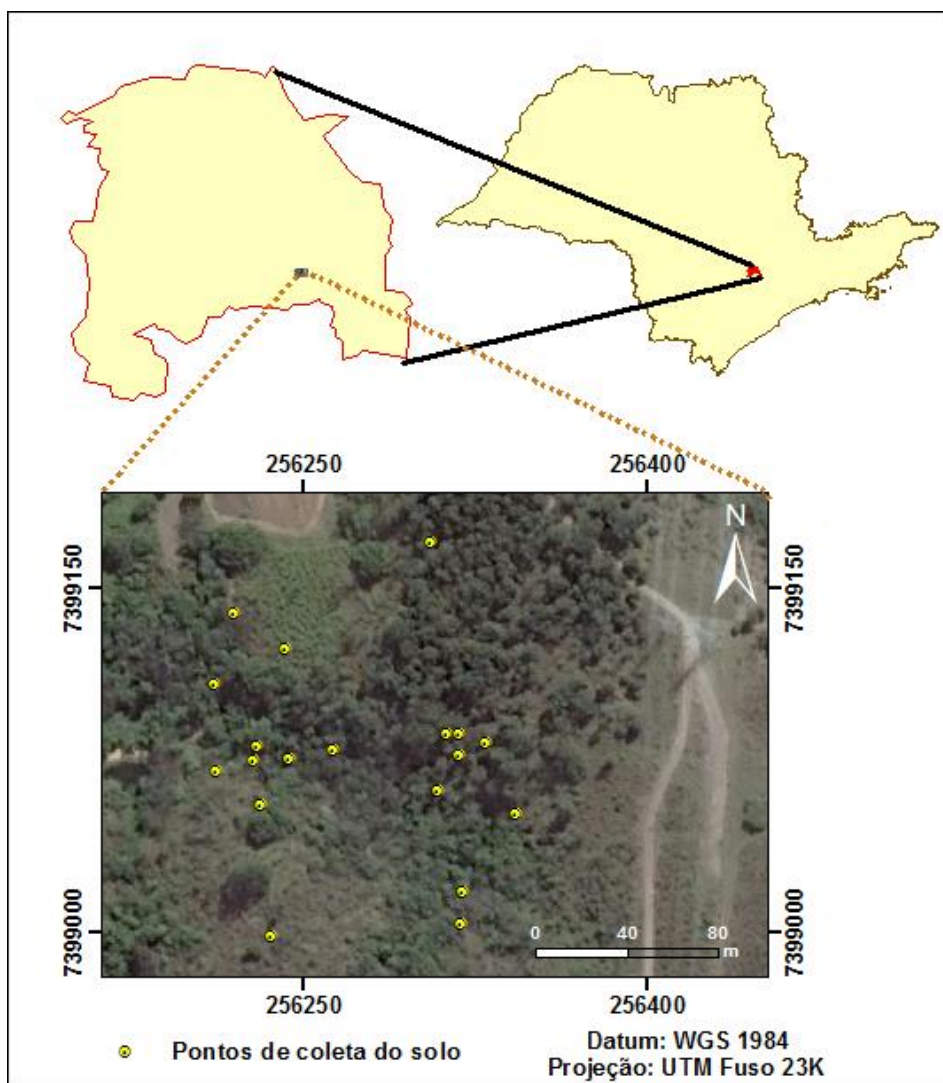


## Material e Métodos

### Área de estudo e pontos de coleta

As amostras foram coletadas nas dependências da Universidade de Sorocaba (Uniso), campus Cidade Universitária, localizada na Rodovia Raposo Tavares, km 92,5 no município de Sorocaba, no interior do estado de São Paulo (Figura 1). As coordenadas dos pontos amostrais foram obtidas com auxílio de um Global Position System (GPS) Garmim modelo Etrex 30, para a espacialização dos pontos amostrais utilizando o ArcGIS 10.4.

Figura 1. Área de estudo e pontos de coleta



Fonte: Elaboração própria.



A área de coleta do solo foi escolhida devido ao conhecimento prévio de uso e ocupação da área, o que possibilita uma maior certeza da ausência de contaminação por fármacos, que poderia influenciar nas leituras do experimento.

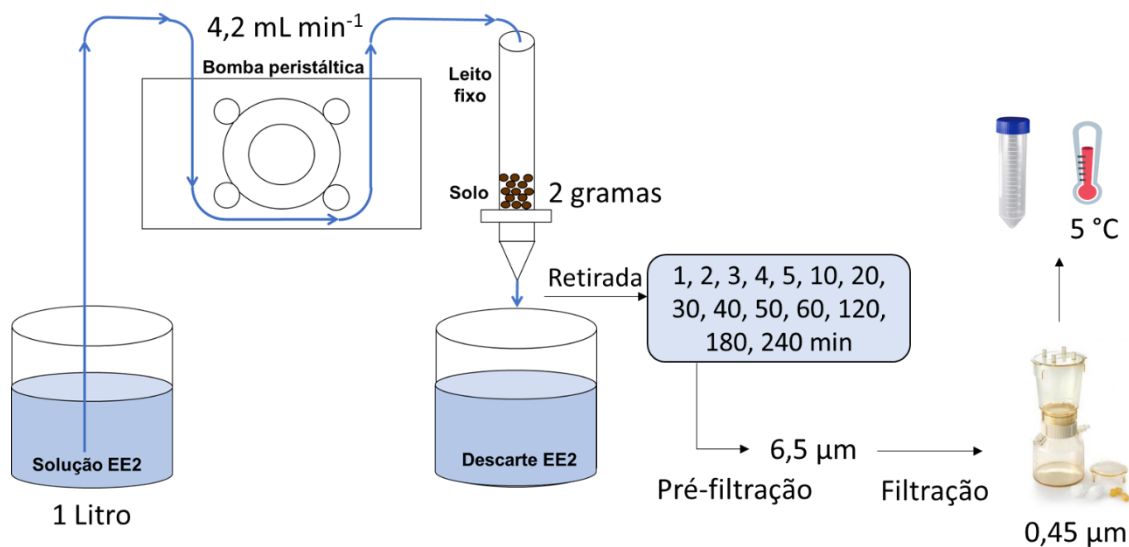
Foram coletadas 20 subamostras de solo, na profundidade de 0-20 cm, utilizando um trado holandês. As subamostras foram homogeneizadas para formar uma amostra composta que representasse toda a área, e posteriormente foram levadas a estufa de secagem previamente aquecida à 100 °C por 48 h.

Após seco, o solo foi separado com auxílio de uma peneira granulométrica de 2 mm para retirada da fração de pedras e cascalhos, que não devem ser amostrados, restando apenas a fração fina do solo (Bonin; Simpson, 2007; Embrapa, 2011; Lima et al., 2011).

## **Determinação da curva de ruptura**

O ensaio para obtenção da curva de ruptura foi realizado em temperatura ambiente de 25 °C, em que a solução de EE2 (Sigma-Aldrich) na concentração de 2 mg L<sup>-1</sup> foi acondicionada em um Becker de 1 L e encaminhada ao leito fixo por uma bomba peristáltica (Tecnal, modelo TE-BP 01). As amostras, após a passagem pelo leito fixo contendo 2 g de solo, foram retiradas em tempos pré-determinado (1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180 e 240 min). O esquema da Figura 2 demonstra o procedimento adotado.

Figura 2. Esquema experimental da curva de ruptura



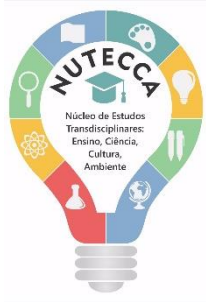
Fonte: Elaboração própria.

O leito fixo utilizado, demonstrado na Figura 2, consiste em uma coluna para cromatografia com torneira em teflon e placa porosa, com 20 mm de diâmetro e coluna preenchida com 6 mm de solo com densidade do leito de  $2,12 \text{ g cm}^{-3}$ . A vazão média do sistema, controlado pela bomba peristáltica (Tecnal, modelo TE-BP 01) foi determinada em  $4,2 \text{ mL min}^{-1}$ .

Foram então retirados aproximadamente 4 mL de amostra na saída do leito fixo, nos tempos determinados, e as amostras armazenadas em tubos Falcon, sendo que para maior confiabilidade dos dados o teste foi realizado em duplicata (Lima et al., 2011, 2012).

As amostras foram rapidamente levadas ao sistema de filtração à vácuo (Millipore - Sterifil) com o filtro de  $0,45 \mu\text{m}$ , para que houvesse a remoção do solo imediatamente após a retirada das amostras da incubadora.

Para armazenamento das amostras, foram utilizados tubos Falcon e deixadas sob refrigeração a  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  para análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* – HPLC - Shimadzu – modelo Class-VP).



## Obtenção das concentrações de 17 $\alpha$ -etinilestradiol por cromatografia líquida de alta eficiência

As análises das concentrações do EE2 obtidas nos ensaios de adsorção em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), foram realizadas utilizando uma coluna cromatográfica C18 de 125 mm de altura, por 4,60 mm de diâmetro e preenchimento de 5  $\mu$ m (Thermo Scientific) à uma temperatura de 37 °C no forno. A fase móvel era composta por 70% acetonitrila padrão HPLC (Sigma-Aldrich) e 30% de água ultrapura (Yoon et al., 2003; Unruh, 2011; Han et al., 2012; Larcher et al., 2012).

A varredura no CLAE foi configurada com pressões de 300 Kgf cm<sup>-2</sup>, vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>, injeção de 20  $\mu$ L de amostra na fase móvel, tempo de corrida de 4 min e detecção à 202 nm para as configurações descritas (Yoon et al., 2003; Vulliet et al., 2008; Unruh, 2011; Han et al., 2012; Larcher et al., 2012).

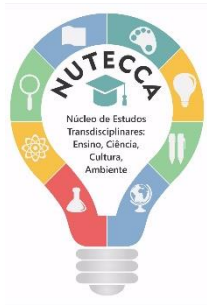
O tempo de retenção identificado para a amostra de EE2 foi obtido através da análise do padrão em triplicata, realizada através da diluição da solução estoque (0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2 mg L<sup>-1</sup>), correspondentes a diluição em 20%, 40%, 60%, 80% e 100% das soluções, filtradas em filtro de 45  $\mu$ m. As leituras dos padrões possibilitaram o cálculo das concentrações das amostras obtidas nos ensaios da curva de ruptura, com base no resultado da equação da reta e do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) encontrados para os valores da área do pico do EE2 obtidos pelo CLAE.

Os valores de R<sup>2</sup> variam de 0 a 1, sendo que quanto mais próximos forem de 1, indica-se que este modelo estatístico se ajusta melhor à amostra (Hines et al., 2006; Costa, 2012).

As amostras de EE2 obtidas nos ensaios da curva de ruptura foram então colocadas nos frascos de injeção automática do CLAE para análise nas condições descritas. Posteriormente, as áreas do pico de EE2 foram utilizadas para o cálculo da concentração final do experimento, por meio da equação da reta obtida.

### Tratamento dos dados

Para obtenção dos dados da curva de ruptura, foram utilizados os valores da concentração final do experimento (mg L<sup>-1</sup>) pelo volume (mL), conforme proposto pelos autores (Raulino et al., 2014; Sandhu et al., 2017).



A determinação do tempo de estabelecimento da zona de transferência de massa (ZTM), foi estabelecida por meio da Equação 1 (Kundu; Gupta, 2005).

$$t_x = \frac{V_x}{F_m} \quad (1)$$

Em que:

$t_x$ : Tempo total para o estabelecimento da ZTM;

$V_x$ : Fluxo volumétrico;

$F_m$ : Volume de exaustão.

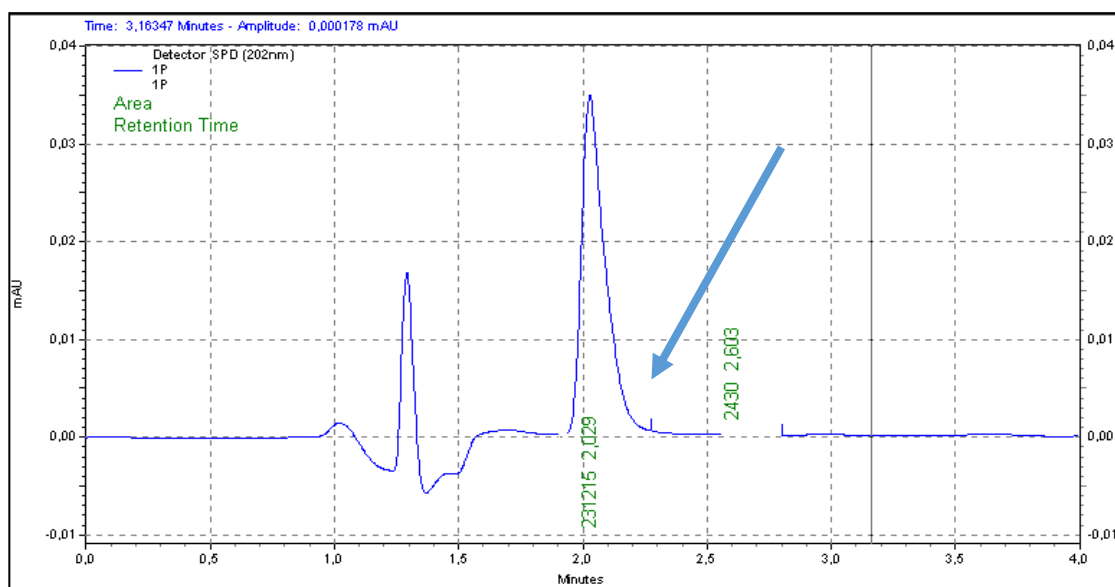
## Resultados e discussão

### Curva analítica

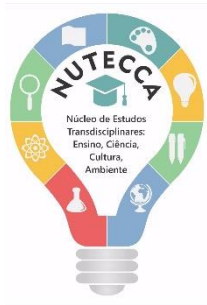
A curva analítica foi realizada com intuito de identificar o tempo de retenção do EE2, bem como verificar se os métodos empregados possibilitavam a correta leitura do composto.

Conforme representado na Figura 3, o cromatograma obtido para o EE2 na concentração de 2 mg L<sup>-1</sup>, apresentou tempo de retenção de 2,029 min e a área do pico utilizada para o cálculo das concentrações de 231215, conforme seta indicativa.

Figura 3. Cromatograma representativo do EE2



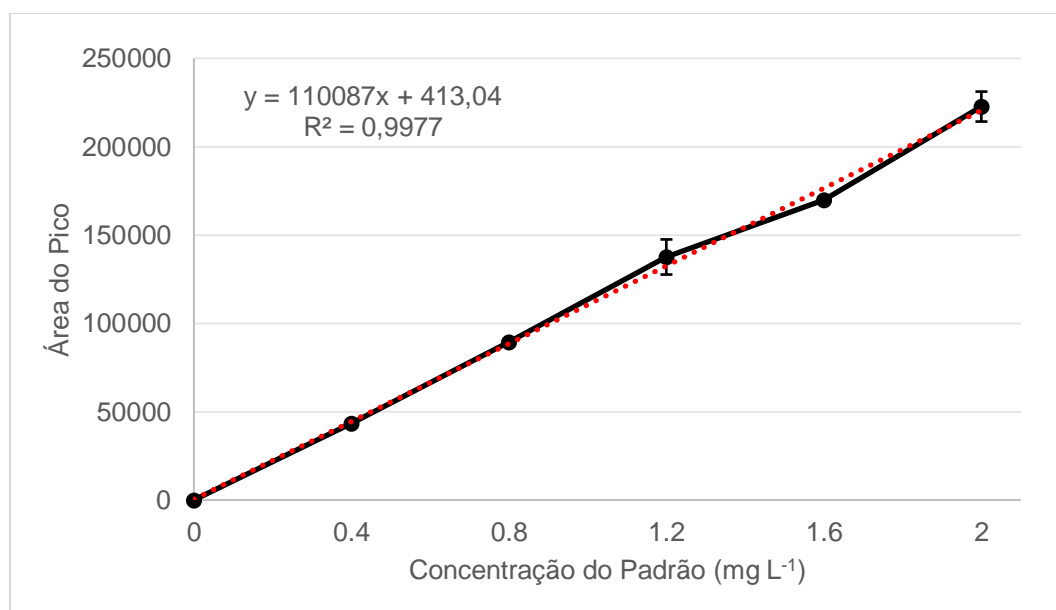
Fonte: Elaboração própria.



O tempo de retenção foi calculado pela média obtida dos resultados de todos os tempos de retenção das amostras padrão; o valor médio obtido foi de 2,030 min.

A partir da média da triplicata obtida para cada concentração (0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2 mg L<sup>-1</sup>), obteve-se a equação da reta (y) e o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), calculado pelo software Microsoft Excel versão 2016, para posterior utilização nos cálculos das concentrações desconhecidas dos ensaios de adsorção do presente estudo (Figura 4).

Figura 4. Curva analítica do 17 $\alpha$ -etinilestradiol



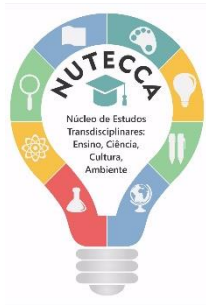
Fonte: Elaboração própria.

A equação da reta ( $y=110087x+413,04$ ) encontrada na Figura 4, obteve um R<sup>2</sup> de 0,9977; que conforme Hines et al. (2006) e Costa (2012) representa um modelo confiável para determinação das concentrações, apresentando 99,77% da variável dependente.

### Curva de ruptura

O comportamento do solo possui características similares a uma coluna de leito fixo, utilizada para obtenção da curva de ruptura, que possibilita verificar o ponto de saturação do



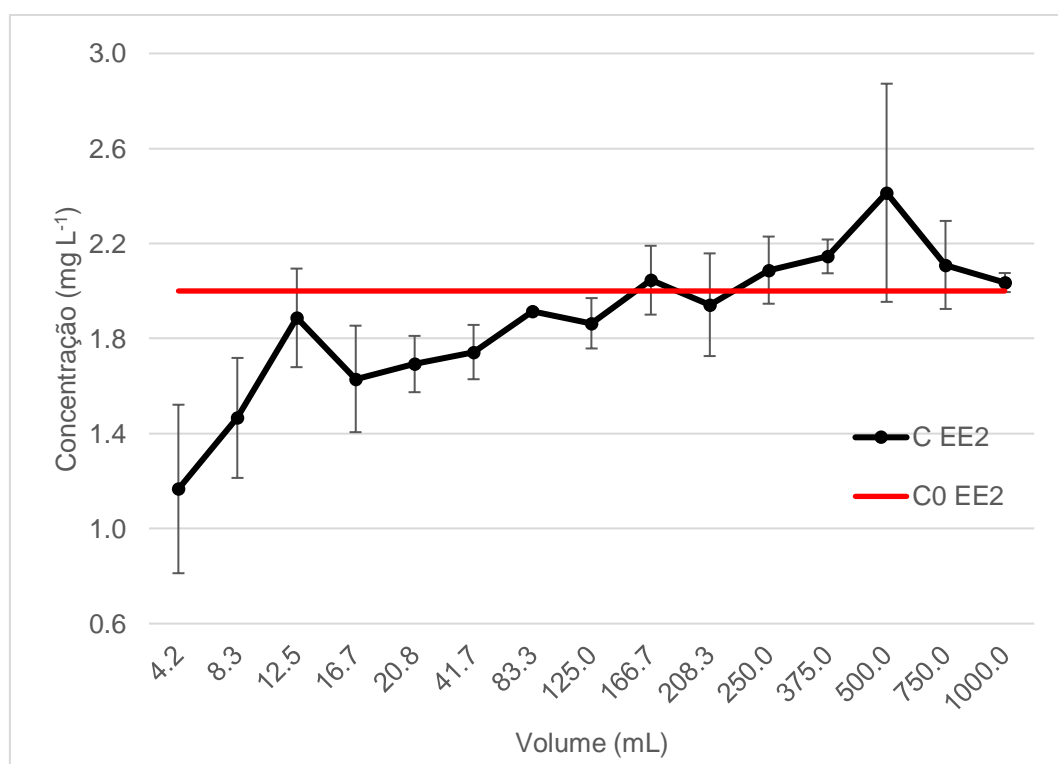


adsorvente em função da quantidade de adsorvato inserido. Para os ensaios laboratoriais realizados, observa-se que no começo do experimento há uma maior capacidade de sorção, visto que as partículas ainda não estão saturadas (Ribas et al., 2012; Raulino et al., 2014).

Entretanto, conforme há a passagem da solução de EE2 pelo solo, vai havendo a sorção, que pode ser química ou física, e varia em função da porosidade encontrada, ocorrendo a saturação dos poros livres pelo EE2, até que seja atingido o ponto de ruptura, onde a concentração inicial de entrada é igual a concentração de saída (Lima et al., 2011; Raulino et al., 2014).

Para o ensaio realizado em coluna de leito fixo com densidade de  $2,2 \text{ g cm}^{-3}$ , observou-se que após 3 min, à uma vazão de  $4,2 \text{ mL min}^{-1}$ , houve uma redução significativa na remoção do EE2 conforme apresentado na Figura 5.

Figura 5. Curva de ruptura do EE2 no solo



Fonte: Elaboração própria.



O tempo total para o estabelecimento da zona de transferência de massa (ZTM), em que a concentração inicial ( $C_0$  EE2) equivale a concentração final ( $C$  EE2), encontra-se aos 40 min após a vazão de 166,7 mL; permanecendo com uma remoção quase nula ( $C_0$  EE2 igual a  $C$  EE2), após este ponto na curva de ruptura. Verificou-se ainda que o solo não apresentou a forma típica de “S” descrita por Shan et al. (2018), onde há um avanço lento até o ponto de ruptura.

Observa-se também que há alguns pontos na curva de ruptura (volume de 250, 375, 500 e 750 mL) em que a concentração final excede a concentração inicial. Tal fato pode ser atribuído à ocorrência da dessorção. Entretanto, seriam necessários mais ensaios, a fim de estimar a taxa em que ocorre a dessorção do EE2 nos solos (Shu-Qin et al., 2011).

O estudo, possibilitou também verificar a capacidade de remoção para solos com densidade de  $2,12 \text{ g cm}^{-3}$ , permitindo o escalonamento dos dados obtidos para solos com as mesmas características.

## Conclusão

Os métodos cromatográficos adaptados da literatura se mostraram eficientes na identificação de EE2, com seletividade e precisão.

O estudo de curva de ruptura possibilitou verificar que, para uma vazão de  $4,2 \text{ mL min}^{-1}$ , após 40 min, deixa de haver a remoção de EE2 ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ ) para o solo contido no leito fixo com densidade de  $2,12 \text{ g cm}^{-3}$ , possibilitando o futuro escalonamento do sistema.

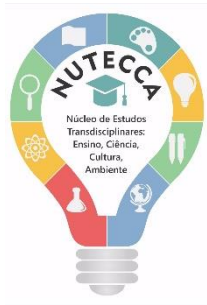
Portanto, é possível verificar que o solo, caso ocorra uma contaminação, servirá de filtro para que o EE2 não atinja profundidades maiores e contamine os lençóis freáticos.

Entretanto, ainda faltam estudos de degradabilidade para o EE2 nos solos, desta forma, não é aconselhável o descarte inadequado de EE2 no ambiente, visto que pode ocasionar diversos impactos negativos aos organismos expostos, devido a seu alto potencial estrogênico.

## Referências

ARIS, A. Z.; SHAMSUDDIN, A. S.; PRAVEENA, S. M. Occurrence of  $17\alpha$ -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. **Environment International**, v. 69, p. 104-119, 2014.

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



BONIN, J. L.; SIMPSON, M. J. Sorption of steroid estrogens to soil and soil constituents in single and multi-sorbate systems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 12, p. 2604-2610, 2007.

COSTA, G. G. D. O. **Curso de Estatística Inferencial e Probabilidades: Teoria e Prática**. São Paulo: Atlas, 2012.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230p.

HAN, J. et al. Removal of ethinylestradiol (EE2) from water via adsorption on aliphatic polyamides. **Water Research**, v. 46, n. 17, p. 5715-5724, 2012.

HINES, W. W. et al. **Probabilidade e Estatística na Engenharia**. 4 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

KUNDU, S.; GUPTA, A. K. Analysis and modeling of fixed bed column operations on As(V) removal by adsorption onto iron oxide-coated cement (IOCC). **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 290, n. 1, p. 52-60, 2005.

KUSTER, M. et al. Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). **Journal of Hydrology**, v. 358, n. 1-2, p. 112-123, 2008.

LARCHER, S. et al. Degradation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol by ozonation: Identification of the by-products and assessment of their estrogenicity and toxicity. **Environment International**, v. 39, n. 1, p. 66-72, 2012.

LIMA, A. C. A. et al. Termodinâmica de adsorção. In: (Ed.). **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará, p. 73-86, 2014.

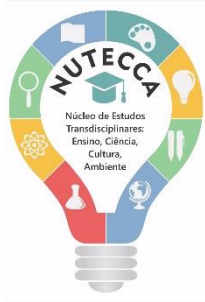
LIMA, D. L. D.; CALISTO, V.; ESTEVES, V. I. Adsorption behavior of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol onto soils followed by fluorescence spectral deconvolution. **Chemosphere**, v. 84, n. 8, p. 1072-1078, 2011.

LIMA, D. L. D.; SCHNEIDER, R. J.; ESTEVES, V. I. Sorption behavior of EE2 on soils subjected to different long-term organic amendments. **Science of the total environment**, v. 423, p. 120-124, 2012.

POPP, J. H. **Geologia geral**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2010.

RAIJ, B. V. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2011.

RAULINO, G. S. C. et al. Adsorção em leito fixo. In: (Ed.). **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará, p. 91-114, 2014.



RIBAS, M. C.; CANEVESI, R.; SILVA, E. A. Estudo do equilíbrio e da dinâmica da bioadsorção do íon cádmio pela macrófita Lemna Minor em coluna de leito fixo. **Engevista**, v. 14, n. 2, p. 143-154, 2012.

SANDHU, A. K. et al. Mathematical Modeling of the Anthocyanins Adsorption/Desorption from Blueberries on Amberlite FPX-66 Resin in A Fixed Bed Column. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 1, 2017.

SHAN, D. et al. Intercalation of rigid molecules between carbon nanotubes for adsorption enhancement of typical pharmaceuticals. **Chemical Engineering Journal**, v. 332, n. Supplement C, p. 102-108, 2018.

SHU-QIN, L. et al. Kinetics of adsorption and desorption of imazethapyr on black soil and Planosol soil. In: **International Conference on Electric Technology and Civil Engineering (ICETCE)**, p. 4201-4204, 2011.

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

SPOSITO, G. **The Chemistry of Soil**. 2 ed. New York: Oxford University Press, Inc, 2008. 329 p.

UNRUH, C. **Adsorção do hormônio 17 $\alpha$ -etinilestradiol com uso de Carvão Ativado Granular**. 2011. 67f. (Mestrado Profissional). Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

VULLIET, E. et al. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1210, n. 1, p. 84-91, 2008.

YOON, Y. et al. HPLC-fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17 $\beta$ -estradiol, and 17 $\alpha$ -ethynyl estradiol on powdered activated carbon. **Water Research**, v. 37, n. 14, p. 3530-3537, 2003.

ZUO, Y.; ZHANG, K.; DENG, Y. Occurrence and photochemical degradation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in Acushnet River Estuary. **Chemosphere**, v. 63, n. 9, p. 1583-1590, 2006.

ZUO, Y.; ZHANG, K.; ZHOU, S. Determination of estrogenic steroids and microbial and photochemical degradation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) in lake surface water, a case study. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 15, n. 8, p. 1529-1535, 2013.