

**UNIVERSIDADE DE SOROCABA**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO E**  
**INOVAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Raquel Andrade Leite Vieira**

**BIOCARVÃO DE RESÍDUO DA PRODUÇÃO DA FUNGICULTURA PARA**  
**TRATAMENTO DE ÁGUA CONTAMINADA COM HORMÔNIOS**

Sorocaba/SP

2021

**Raquel Andrade Leite Vieira**

**BIOCARVÃO DE RESÍDUO DA PRODUÇÃO DA FUNGICULTURA PARA  
TRATAMENTO DE ÁGUA CONTAMINADA COM HORMÔNIOS**

Qualificação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Denise Grotto.

Sorocaba/SP

2021

### Ficha Catalográfica

V718b Vieira, Raquel Andrade Leite  
Biocarvão de resíduo da produção da fungicultura no tratamento de água contaminada com hormônios / Raquel Andrade Leite Vieira – 2021.  
87 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Grotto  
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –  
Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2021.

1. Água - Tratamento. 2. Hormônios. 3. Cogumelos. 4. Resíduos orgânicos. I. Grotto, Denise, orient. II. Universidade de Sorocaba. III. Título.

**Raquel Andrade Leite Vieira**

**BIOCARVÃO DE RESÍDUO DA PRODUÇÃO DA FUNGICULTURA PARA  
TRATAMENTO DE ÁGUA CONTAMINADA COM HORMÔNIOS**

Dissertação aprovada como requisito  
parcial para obtenção do grau de Mestre  
no Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Farmacêuticas da Universidade  
de Sorocaba

Aprovado em: 24/02/2021

**BANCA EXAMINADORA:**

Profa. Dra. Denise Grotto  
Universidade de Sorocaba

Profa. Dra. Angela Faustino Jozala  
Universidade de Sorocaba

Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman  
Universidade Federal de São Carlos

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu irmão, que sempre apoiaram meus sonhos. E também a todas as mulheres que lutam por um mundo melhor usando da pesquisa e do conhecimento como meio transformador.

## **AGRADECIMENTOS**

Sou grata primeiramente a Deus, pelo dom da vida, vida esta que generosamente me abençoou com saúde, amor, felicidade e paz. Agradeço eternamente por ter me iluminado e pela oportunidade de ter iniciado e concluído esse projeto.

Agradeço imensamente aos meus pais Rosilson Vieira e Claudia Rogéria Andrade Leite Vieira, ao meu irmão Rosilson Vieira Junior, por todo amor, compreensão e infinito apoio em mais essa grande etapa da minha vida, e por terem sido meus melhores amigos e conselheiros em todos os momentos dessa jornada. Pela minha Tia Patrícia Helena Piasentin e ao meu primo Nicholas Stuart Luz, que mesmo longe me apoiaram com amor sempre.

Aos meus amigos, dentro e fora da universidade, que estiveram presentes ao longo desse caminho, acreditando na minha capacidade e pelo apoio que ofereceram, assim como pelo carinho e pelas inúmeras lembranças de alegria e felicidade que me propuseram. Em especial Isabella Ferreira Camargo por ter me incentivado e me apresentado esta oportunidade de estudo.

Agradeço em especial à minha orientadora Professora Dr<sup>a</sup> Denise Grotto, que não mediu esforços para me ajudar, guiar e ensinar o caminho da pesquisa. Por ter apoiado e acreditado no meu projeto, pelos convites para participar de diversos artigos. Sou grata pela confiança, atenção e amizade em todos os momentos.

Agradeço à coordenação e à secretaria do curso, pelo apoio e dedicação com a nossa formação e pela atenção e disponibilidade em todos os momentos. E também ao corpo docente que sempre demonstrou incentivo e apoio para o meu aprendizado, auxiliando no desenvolvimento dos conhecimentos técnicos juntamente com o crescimento pessoal.

À Professora Dr<sup>a</sup> Yoko Oshima Franco pela oportunidade de dois estágios docentes guiados e orientados com muito conhecimento e sabedoria. Por sua atenção e carinho em todos os momentos e pelos convites para ministrar palestras e aulas.

A Thaisa Borim Picker, técnica do laboratório LAPETOX, meus sinceros agradecimentos por toda atenção, paciência, competência e auxílio no laboratório, sou grata por todos os momentos de muita alegria.

Aos Professores Dr. Darllan Colins da Silva, Dr. Walter Ruggeri Waldman e Dra. Angela Faustino Jozala que aceitaram prontamente fazer parte da banca de qualificação e defesa desta dissertação, disponibilizando seu tempo e conhecimento.

A UNISO pela disponibilização da infraestrutura como as dos laboratórios e todos os equipamentos e materiais que foram necessários para a realização de todos os experimentos requisitados bem como todo o suporte oferecido pelos colaboradores da universidade e dos laboratórios utilizados.

## RESUMO

Métodos de tratamento de água usando biocarvão (*biochar*) têm sido uma alternativa sustentável para a remoção de contaminantes da água. A utilização de resíduos orgânicos para a produção de carvão tem se mostrado viável devido ao fato de que a maioria desses materiais, após tratamento térmico, apresenta grande área superficial e formação de poros, potencializando a capacidade de adsorção de contaminantes emergentes como os hormônios. Desta forma, um novo biocarvão de substrato pós-cultivo de cogumelo foi produzido e avaliado para remover hormônios da água. Os substratos de cogumelos foram secos, triturados e pirolisados. A pirólise foi realizada em duas condições, a 250 e 450°C com tempo de residência de 1h e a 600°C por 20min. Os carvões obtidos foram previamente testados em batelada com uma solução de 17 $\alpha$ -etinilestradiol e progesterona. A técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi utilizada para determinar a concentração final remanescente na água e calcular o percentual de remoção do hormônio, avaliando qual carvão obteve o maior percentual. Em seguida, foram realizados os ensaios de cinética, isotérmica e de leito fixo, além da caracterização do biocarvão por meio de análise de Microscopia Eletrônica de Varredura. Nas imagens obtidas da análise microscópica, mostraram-se diferenças favoráveis ao carvão de 600 °C, que apresentou uma área superficial maior, com mais formação de poros e reentrâncias. O carvão obtido à temperatura de 600 °C também foi o que apresentou melhor percentual de remoção para os dois hormônios, nos primeiros testes, sendo para o 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) superior a 88% e o da progesterona superior a 90%. Os resultados do estudo da cinética e da isoterma também confirmam os resultados prévios, sendo o  $q_{\text{máx}}$  para a progesterona no modelo de Sips foi de 119.3 mg progesterona/ g biocarvão e de 16,35 mg EE2/g biocarvão no modelo de Langmuir. Em conclusão, o biocarvão apresentou um bom percentual de remoção e pode ser utilizado como parte do processo de tratamento da água para remover contaminantes como os hormônios.

**Palavras-chave:** Hormônios, tratamento de água, biocarvão, substrato de cogumelo.

## ABSTRACT

Wastewater treatment methods using biochar have been a sustainable alternative for removing contaminants from water. The use of agricultural residues such as coal has been shown to be viable due to the fact that most of these materials, after heat treatment, have a large surface area and pore formation, enhancing the adsorption capacity of emerging contaminants such as hormones. In this way, a new biochar of post-cultivation mushroom substrate was produced and evaluated to remove hormones from water. The mushroom substrates were dried, crushed and pyrolyzed. Pyrolysis was carried out in two conditions, at 250 and 450°C with a residence time of 1h and at 600°C for 20min. The obtained coals were previously tested in batch with a solution of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and progesterone. High Performance Liquid Chromatography was used to determine the final concentration remaining in the water and calculate the percentage of removal of the hormone and which coal obtained the highest percentage. Then, the kinetic, isothermal and fixed bed tests were carried out, in addition to the characterization of the biochar by means of scanning electron microscopy analysis. In the images obtained in the microscopic analysis, differences were found favorable to the 600 °C biochar, which presented a larger surface area, with more formation of pores and recesses. The biochar obtained at a temperature of 600 °C was also the one that showed the best percentage of removal for both hormones, in the first tests, with 17 $\alpha$ -ethinylestradiol above 88% and that of progesterone above 90%. The results of the study of kinetics and isotherm also confirm the previous results, with the  $q_{\text{m\acute{a}x}}$  for progesterone in the Sips model of 119.3 mg progesterone / g biochar and for EE2 16.35 mg EE2 / g biochar in the Langmuir model. In conclusion, the biochar presented a good percentage of removal and can be used as part of the water treatment process to remove contaminants such as hormones.

**Keywords:** Hormones, water treatment, biochar, spent mushroom substrate.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACTH - Hormônio adrenocorticotrófico

Ag – Prata

$a_{RP}$  - Constante do modelo Redlich-Peterson

$C_{eq}$  - Concentração de equilíbrio

$C_i$  - Concentração inicial

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

CRH - Hormônio de liberação da corticotrofina

DE - Desreguladores endócrinos

E1 - Estrona

E2 – Estradiol ou  $17\beta$ -estradiol

E3 – Estirol

EDC - Endocrine disrupting chemicals

EDS - Difusão de Energia

EE2 -  $17\alpha$ -etinilestradiol

ETA - Estação de tratamento de água

ETE - Estação de tratamento de esgoto

$F_m$  - Fluxo volumétrico

FSH - Hormônio folículo-estimulante

GHRH - Hormônio de liberação do hormônio do crescimento

GnRH - Hormônio de liberação das gonadotrofinas

HPLC - *High-performance liquid chromatography*

$k_{ads}$  - Constante de Langmuir relativa à energia de adsorção

$K_{LF}$  - Constante de equilíbrio de Sips

$k_p$  - Constante cinética do modelo pseudo-primeira ordem

$K_{RP}$  - Constante de equilíbrio de Redlich-Peterson

$k_s$  - Constante cinética do modelo pseudo-segunda ordem

LAFINAU - Laboratório de Física Nuclear da Universidade de Sorocaba.

LH - Hormônio luteinizante

m - Massa

Mesh – Unidade unitária de granulometria

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

ML - Massa de material sorvente na coluna

MSH - Hormônio melanócito-estimulante  
n - Parâmetro de heterogeneidade  
PCZ - Ponto de carga zero  
pH - Potencial hidrogeniônico  
q - Quantidade de contaminante removido  
 $q_e$  - Quantidade adsorvida no equilíbrio  
 $q_e$  - Quantidade de adsorvato retido no sólido em equilíbrio  
 $q_{máx}$  - Capacidade máxima de adsorção  
 $q_t$  - Quantidade adsorvida a um tempo  
 $R^2$  - Coeficiente de determinação  
RL - Parâmetro de equilíbrio  
rpm – Rotação por minuto  
T3 - Tri-iodotironina  
T4 – Tiroxina  
TRH - Hormônio de liberação da tireotrofina  
TSH - Hormônio tireoestimulante  
 $t_x$  - Tempo total para estabelecimento da ZTM  
V - Volume da proveta  
v - Volume de solução carregada com o contaminante  
 $V_{AP}$  - Volume aparente  
VB - Volume de solução tratada no ponto de ruptura  
VL - Volume interno da coluna vazia  
 $V_x$  - Volume de exaustão  
ZTM - Zona de transferência de massa  
 $\beta_{RP}$  - Número adimensional  
 $\epsilon$  - Porosidade do leito  
 $\rho_a$  - Densidade aparente  
 $\rho_E$  - Densidade de empacotamento do leito

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Representação das principais glândulas endócrinas e dos hormônios produzidos.....  | 17 |
| Figura 2. Representação da ligação entre os receptores intracelulares e seus hormônios específicos, aqui demonstrados pelos hormônios tireoidianos e esteroides..... | 18 |
| Figura 3. Mecanismos de ação dos desreguladores endócrinos (DE).....   | 19 |
| Figura 4. Estrutura química dos estrogênios naturais e sintético fixo.....   | 23 |
| Figura 5. Biotransformação do 17 $\alpha$ -etinilestradiol no fígado.....  | 24 |
| Figura 6. Estrutura química dos hormônios esteroides.....  | 25 |
| Figura 7. Contaminação proveniente agropecuária.....   | 26 |
| Figura 8. Rotas de descarga de contaminantes.....  | 28 |
| Figura 9. Etapas da adsorção.....  | 30 |
| Figura 10. Mecanismos de sorção em uma partícula de biocarvão para captação de microcontaminantes.....   | 32 |
| Figura 11. Processo do teste de batelada piloto para analisar a capacidade das diferentes amostras de biocarvão na remoção dos hormônios.....                        | 36 |
| Figura 12. Diagrama do procedimento de Ponto de Carga Zero (PCZ).....  | 38 |
| Figura 13. Esquema do teste da cinética, com concentração fixa e variação de tempo, ao longo de 24h.....   | 39 |
| Figura 14. Organização dos procedimentos da isoterma, com diferentes concentrações e tempo fixo.....   | 40 |
| Figura 15. Diagrama da organização do teste de leito fixo.....   | 41 |
| Figura 16. Montagem e teste do protótipo de filtro com biocarvão.....  | 47 |
| Figura 17. Cromatograma das amostras de efluente A) antes e B) depois de 10 min, C) depois de 60 min da passagem pelo filtro de biocarvão.....                       | 78 |

## LISTA DE QUADROS

|  |    |
|--|----|
| Quadro 1. Desreguladores endócrinos mais utilizados pelo homem, organizados por grupos, e exemplos de suas aplicações..... | 21 |
| Quadro 2. Diferenças de adosrção química e física.....   | 29 |

## SUMÁRIO

|   |            |
|---|------------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>   | <b>15</b>  |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>                                      | <b>17</b>  |
| 2.1 Desreguladores endócrinos no meio ambiente .....                      | 17         |
| 2.2. 17 $\alpha$ -etinilestradiol .....                                   | 23         |
| 2.3 Progesterona.....   | 26         |
| 2.4 Tratamentos de água .....   | 28         |
| 2.5 Adsorção .....  | 30         |
| 2.6 Biocarvões de resíduos orgânicos .....                                | 309        |
| <b>3 OBJETIVOS.....</b>   | <b>354</b> |
| 3.1 Geral .....   | 354        |
| 3.2 Específicos.....  | 354        |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>   | <b>365</b> |
| 4.1 Preparação do biocarvão .....   | 365        |
| 4.2 Capacidade de remoção dos hormônios por teste de batelada piloto..... | 365        |
| 4.3 Caracterização do biocarvão .....                                     | 376        |
| 4.4 Ponto de Carga Zero – PCZ.....  | 387        |
| 4.5 Preparo da solução .....  | 398        |
| 4.6 Experimentos de adsorção.....   | 398        |
| 4.7 Análise das amostras .....  | 421        |
| 4.8 Cálculos dos resultados dos ensaios de adsorção .....                 | 432        |
| 4.9 Produção do filtro .....  | 48         |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                     | <b>509</b> |
| 5.1 Artigo científico.....  | 509        |
| 5.2 Protótipo do filtro com biocarvão de substrato .....                  | 78         |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>                                       | <b>79</b>  |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>81</b>  |

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população e das suas diversas atividades elevaram a produção de resíduos no meio ambiente, com o conseqüente aumento da concentração de contaminantes nos recursos hídricos. A variedade e a complexidade dos contaminantes têm aumentado a cada década, causando diversos problemas ambientais e agravando os riscos à saúde dos seres humanos. Uma classe de contaminante em especial, os desreguladores endócrinos, tem atraído o olhar e preocupação de organizações ambientais e de saúde quanto aos danos a longo prazo.

Os desreguladores endócrinos (DE) são compostos naturais ou sintéticos, como por exemplo 17  $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), utilizado na formulação de contraceptivos e a progesterona, produzida naturalmente pelo organismo e utilizada em terapias hormonais para a reprodução e crescimento de animais na agropecuária. Os DE possuem a capacidade de alterar o sistema endócrino, podendo bloquear, imitar ou reproduzir uma resposta hormonal no organismo. Problemas no sistema reprodutivo, alterações das glândulas endócrinas, obesidade, Síndrome do Ovário Policístico, câncer, são algumas das doenças relacionadas aos DE. No meio ambiente os animais também são afetados pelos DE, principalmente os animais de vida aquática, podendo-se observar por diversos parâmetros ambientais, os problemas reprodutivos encontrados em diversas espécies de peixe, anfíbios entre outros (COMISSÃO EUROPEIA, 2019).

A remoção desses contaminantes por estações de tratamento de água é quase nula, devido ao tamanho e complexidade dos compostos. No entanto muitos países já vêm utilizando técnicas mais refinadas para remoção, como membranas, filtros entre outros (LI *et al.*, 2020).

Há séculos o carvão é usado como um meio filtrante para diversos fins. Mais recentemente, o uso de carvão mineral vem sendo substituído por biocarvões. Diversas pesquisas foram realizadas para caracterizar diversos biocarvões, com o intuito de utilizá-los como uma alternativa sustentável para a remoção de contaminantes emergentes, como os DE, da água (ZHOU *et al.*, 2017).

O biocarvão é produzido a partir de um material orgânico (biomassa), que muitas das vezes é proveniente de resíduos da produção agrícola ou industrial, a biomassa então é submetida a um processo térmico, usualmente conhecido como pirólise. Dessa forma o material passa a ter uma porcentagem maior de carbono, assim como maior porosidade, área superficial e afinidade elétrica ou química (LUO *et al.*, 2015).

O consumo de cogumelos vem aumentando pelo mundo, e no Brasil diversos produtores agrícolas têm investido na produção e cultivo desse alimento. Com uma maior procura da população por alimentos mais saudáveis, o cogumelo vem ganhando espaço no mercado brasileiro. No entanto, junto com o aumento do consumo, está o aumento dos resíduos orgânicos produzidos. Os substratos são blocos de misturas de diversas biomassas para o crescimento e desenvolvimento dos cogumelos. Após o período de vida útil, ou seja, quando já não se consegue mais produzir os cogumelos, os substratos são então descartados e muitas das vezes sem o devido tratamento, tornando-se mais um candidato para o estudo e utilização como biocarvão (WU *et al.*, 2019).

O uso de biocarvões como adsorventes possui diversas aplicações, principalmente no tratamento de água. Diferentes mecanismos físicos e químicos fazem do processo de adsorção único e de grande eficiência na remoção de diversos contaminantes. O baixo custo para produção do biocarvão, juntamente com um processo contínuo de tratamento de água utilizando, por exemplo, uma coluna de leito fixo se tornou uma alternativa sustentável e de baixo custo para a remoção de diversos contaminantes emergentes, incluindo os DE (HU *et al.*, 2014).

Nesta pesquisa, um biocarvão foi produzido, utilizando o resíduo de substrato da produção de cogumelo Shiitake. A capacidade de adsorção para dois hormônios - o 17 $\alpha$ - etinilestradiol (EE2) e a progesterona – foi avaliada, em processo batelada e leito fixo .

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

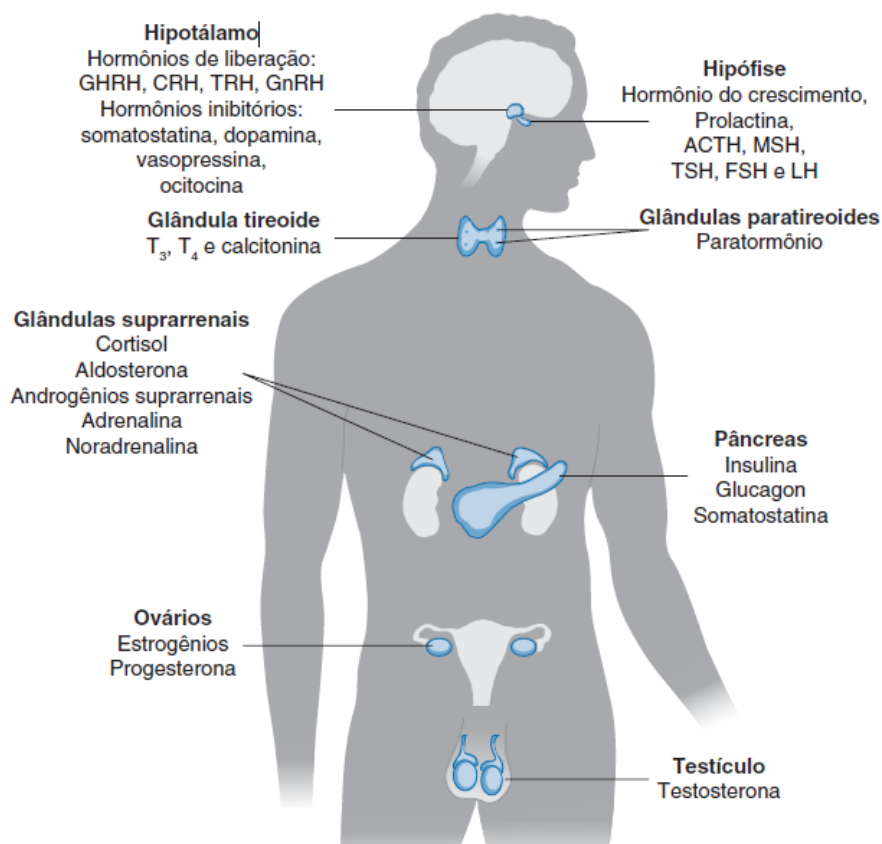
### 2.1 Desreguladores endócrinos no meio ambiente

O sistema endócrino humano é uma rede integrada de múltiplos órgãos, capazes de sintetizar e liberar mensageiros químicos, denominados de hormônios, que exercem funções em células-alvo próximas ou distantes do local de liberação. Todo processo de síntese, liberação, reação e excreção de hormônios está também interligada com o sistema nervoso central e periférico, assim como ao sistema imune. A função do sistema endócrino é coordenar e integrar as atividades celulares em todo organismo, como por exemplo, a regulação do equilíbrio do sódio e água, regulação do balanço energético, regulação do desenvolvimento, crescimento, reprodução e do processo de envelhecimento. Os três componentes essenciais do sistema endócrino são (MOLINA, 2014; LAURETTA, 2019):

- Glândulas endócrinas: não apresentam ductos, por isso, secretam os hormônios sintetizados no espaço intersticial da célula, e assim passam para o sistema de circulação.
- Hormônios: produtos químicos liberados pelas células em concentrações muito baixas, exercendo ações biológicas sobre uma célula-alvo.
- Órgão-alvo: contém células com os receptores hormonais específicos, respondendo à ligação do hormônio com uma ação biológica demonstrável.

Na Figura 1 é possível identificar as principais glândulas endócrinas e seus principais hormônios.

Figura 1: Representação das principais glândulas endócrinas e dos hormônios produzidos.



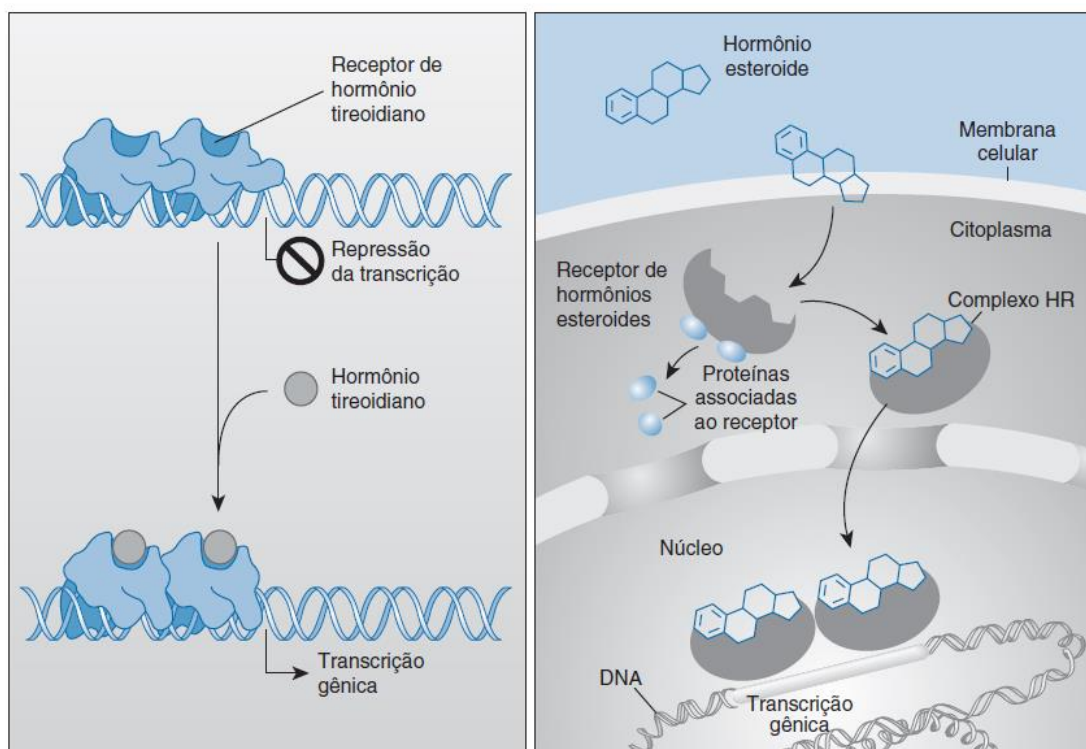
Nota: CRH (hormônio de liberação da corticotrofina); GHRH (hormônio de liberação do hormônio do crescimento); GnRH (hormônio de liberação das gonadotrofinas); TRH (hormônio de liberação da tireotrofina); ACTH (hormônio adrenocorticotrófico); LH (hormônio luteinizante); MSH (hormônio melanócito-estimulante); FSH (hormônio folículo-estimulante); TSH (hormônio tireoestimulante); T<sub>3</sub> (tri-iodotironina); T<sub>4</sub> (tiroxina).

Fonte: MOLINA, 2014.

Os hormônios podem ser classificados com base em sua estrutura química como peptídeos, esteroides ou derivados de aminoácidos. A estrutura do hormônio determina muitas vezes, a localização do receptor hormonal. Peptídeos e derivados de aminoácidos ligam-se a receptores na superfície da célula, enquanto os esteroides, por serem lipossolúveis, possuem afinidade com a membrana celular e ao atravessá-la se ligam a receptores intracelulares. Quando a combinação correta entre hormônio e célula-alvo acontece, ocorre então a resposta característica da ação hormonal. A ligação hormônio – receptor pode acelerar, reduzir, bloquear ou alterar a função celular. A Figura 2 mostra esquematicamente, a ligação do hormônio esteroide e do hormônio esteroide e

do hormônio tireoidiano aos seus receptores específicos (KABIR et. al., 2015; LAURETTA et. al, 2019).

Figura 2: Representação da ligação entre os receptores intracelulares e seus hormônios específicos, aqui demonstrados pelos hormônios tireoidianos e esteroides.



Fonte: MOLINA, 2014.

Entretanto, os receptores não possuem a característica de apenas realizar ligações com hormônios específicos. Pode ocorrer, ainda, a ligação de outras substâncias químicas com estrutura química compatível ao mesmo receptor, as substâncias químicas responsáveis pelas alterações relacionadas ao sistema endócrino são denominadas de Desreguladores Endócrinos (DE), no inglês EDC - *Endocrine Disrupting Chemicals*. Essas substâncias são microcontaminantes originados das ações antrópicas, que são lançados no meio ambiente em concentrações traço ( $\mu\text{g/L}$  –  $\text{ng/L}$ ), afetando o ecossistema e a saúde dos seres humanos (ROGERS et al., 2013; LIMA et al., 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), os DE “são substâncias ou mistura de substâncias exógenas, que alteram as funções

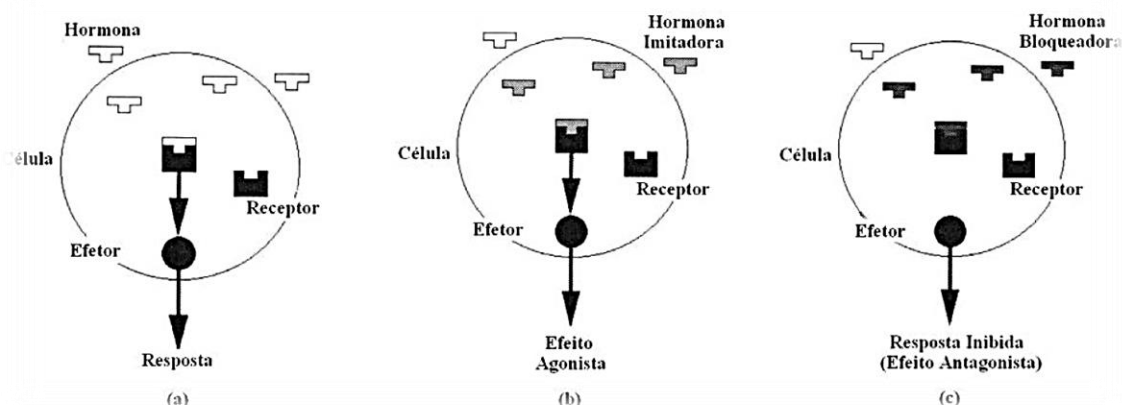
normais do sistema endócrino, causando efeitos adversos no indivíduo, na sua descendência ou em populações de organismos exposta a tais substâncias” (WHO, 2012).

Muitos microcontaminantes possuem a propriedade de ser lipossolúveis, podendo também realizar ligações intracelulares. Os mecanismos de ação dos DE ainda não foram totalmente esclarecidos, mas é possível identificar duas formas principais de ação (DUARTE, 2008):

- Mimetização: imitam de forma total ou parcial as reações químicas, semelhantes ao hormônio natural do organismo (efeito agonista).
- Bloqueadora: impedem a ligação do hormônio natural ao seu receptor e conseqüentemente a sua reação (efeito antagonista).

Essas duas formas de ação afetam síntese, transporte, metabolização e excreção dos hormônios, alterando suas concentrações no organismo. A Figura 3 demonstra a resposta natural hormonal, bem como os efeitos agonista e antagonista dos DE.

Figura 3: Mecanismos de ação dos desreguladores endócrinos (DE): a) resposta natural do hormônio; b) efeito agonista de um DE; c) efeito antagonista de um DE.



Fonte: BIRKETT E LESTER, 2003; DUARTE, 2008.

A interferência na comunicação entre as informações biológicas desregula o equilíbrio do metabolismo e do funcionamento do sistema endócrino, levando a sérios problemas ambientais e na saúde dos seres humanos. Bila e Dezzotti

(2007) relatam anomalias no sistema reprodutivo de pássaros, reptéis e peixes. Em peixes a expressão da proteína vitelogenina normalmente é expressa em fêmeas, mas quando identificada em macho demonstra a contaminação do meio por DE. Nos humanos, a redução da produção de esperma, problemas como síndrome do ovário policísticos, obesidade, e a incidência de alguns tipos de câncer, estão relacionados com a exposição aos DE.

Os compostos classificados como DE estão presentes no cotidiano de muitas pessoas, como aditivos industriais, agrotóxicos, surfactantes, fármacos, produtos de higiene pessoal, hormônios naturais e sintéticos e outros compostos químicos (PERES, 2011). A exposição a esses contaminantes pode ser direta ou indireta, por meio de via oral, tópica ou inalatória (LIMA *et al.*, 2017).

Aproximadamente vinte e seis milhões de substâncias químicas são comercializadas em todo o mundo, sendo que os DE correspondem a uma grande porcentagem dessas substâncias. Mais de 430 substâncias desreguladoras do sistema endócrino foram definidas e fazem parte da lista emitida pela Comissão Europeia do meio ambiente (MOREIRA, 2009; PERES, 2011).

A classe dos DE não é apenas definida pela estrutura química dos compostos, mas sim pela ação biológica que apresenta. Apesar de muito desses compostos terem sido banidos ou caído em desuso, seus efeitos ainda estão presentes no meio ambiente devido à alta estabilidade química, tendo potencial de ser biologicamente ativo, ainda que se encontre em concentrações traço. Em tal situação, pode ocorrer a biomagnificação dentro da cadeia alimentar. A exposição constante às diversas classes de DE, mesmo em baixas concentrações, gera um efeito de bioacumulação sem precedentes no meio ambiente e na saúde humana. (BOLONG *et al.*, 2009; MOREIRA *et al.*, 2009; PERES, 2011; PRAVEENA *et al.*, 2016).

No Quadro 1, são apresentadas as principais substâncias classificadas como DE, assim como suas principais aplicações.

Quadro 1: Desreguladores endócrinos mais utilizados pelo homem, organizados por grupos, e exemplos de suas aplicações.

| <b>Grupo</b>                                   | <b>Aplicação</b>   |
|--|--|
| Fenóis   | Surfactantes utilizados em detergentes desinfetantes (ex.: p-nonilfenol);<br>Componentes de resinas (ex.: bisfenol A);<br>Clorofenóis (ex.: 2,4,6-triclorofenol) |
| Ftalatos                                       | Presente nos plásticos para aumentar maleabilidade (ex.: dibutilftalato)   |
| Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) | Fontes naturais: erupção vulcânica, fogos;<br>Fontes antropogênicas: queima de combustíveis fósseis, incineração de resíduos (ex.: benzo[a]pireno)               |
| Hormônios Sintéticos                           | Contraceptivos (ex.:17 $\alpha$ -etinilestradiol);<br>Uso veterinário – reprodução (ex.: progesterona, acetato de Melengestrol)                                  |
| Hormônios naturais                             | Excretados naturalmente (ex.: Estradiol, Estriol, Progesterona)  |
| Agrotóxicos e Pesticidas                       | Organoclorados e organofosforados;<br>Tintas antivegetativas para embarcações marítimas, como cloreto de tributilestanho.  |
| Policloreto de bifenilas (PCB) e dioxinas      | Compostos originários em diversos processos industriais e como subprodutos da co-incineração.  |
| Produtos naturais                              | De ocorrência em plantas (ex.: coumestrol);<br>Estrogênios produzidos por fungos (ex.: $\alpha$ -zearalenol)   |

Fonte: PERES, 2011; HAVENS, 2019.

As mensagens hormonais influenciam em inúmeros aspectos críticos no desenvolvimento do organismo, representando um perigo, em especial, se a exposição for antes do nascimento (durante o desenvolvimento embrionário) e após o nascimento (durante o crescimento). Recém-nascidos e crianças

apresentam uma maior vulnerabilidade à exposição e ação dos DE (KABIR, *et. al.*, 2015).

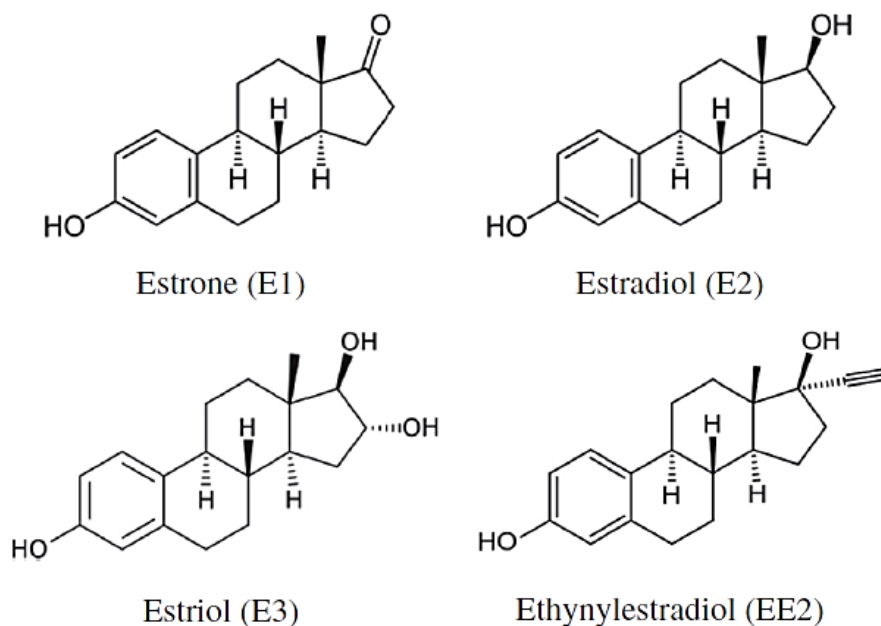
Existe um grande debate no meio científico, sobre se de fato existe relações entre os DE e as consequências à saúde humana. Diversos órgãos de controle ambiental constataram a existência desses contaminantes nos corpos d'água de diversas cidades ao redor do mundo. A presença desses contaminantes sinaliza um risco real, de médio e longo prazo, à saúde humana levando a uma corrida para os estudos de melhorias nos sistemas de tratamento de água, para que a carga da concentração de contaminantes que chega aos recursos hídricos e aos sistemas de abastecimento de água sejam muito baixas ou nula. Dentre os DE, os hormônios como 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) e progesterona destacam-se em pesquisas que reportaram dados de biomarcadores confirmando os efeitos em animais aquático, que apresentaram problemas no sistema reprodutivo e em seu comportamento devido a presença dos hormônios no meio. (BILA e DEZOTTI, 2007; BOLONG,2009).

## **2.2. 17 $\alpha$ -etinilestradiol**

Os hormônios estrogênicos são classificados em naturais e sintéticos. Os hormônios naturais são produzidos naturalmente pelo organismo, podendo citar a Estrona (E1), o Estradiol ou 17 $\beta$ -estradiol (E2) e o Estriol (E3), que são fundamentais na fisiologia dos órgãos reprodutivos, Os hormônios sintéticos são produzidos artificialmente, como o Etinilestradiol (EE2), denominado também de 17 $\alpha$ -etinilestradiol. Na Figura 4 podem-se observar as semelhanças estruturais dos hormônios naturais e sintéticos.

Em quase todas as formulações de anticoncepcionais, o hormônio sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol está presente como componente principal, para terapias de reposição hormonal de estrogênio, suspensão da amamentação, ação contraceptiva e regulação do ciclo menstrual (ARIS; PRAVEENA, 2014).

Figura 4: Estrutura química dos estrogênios naturais e sintético.



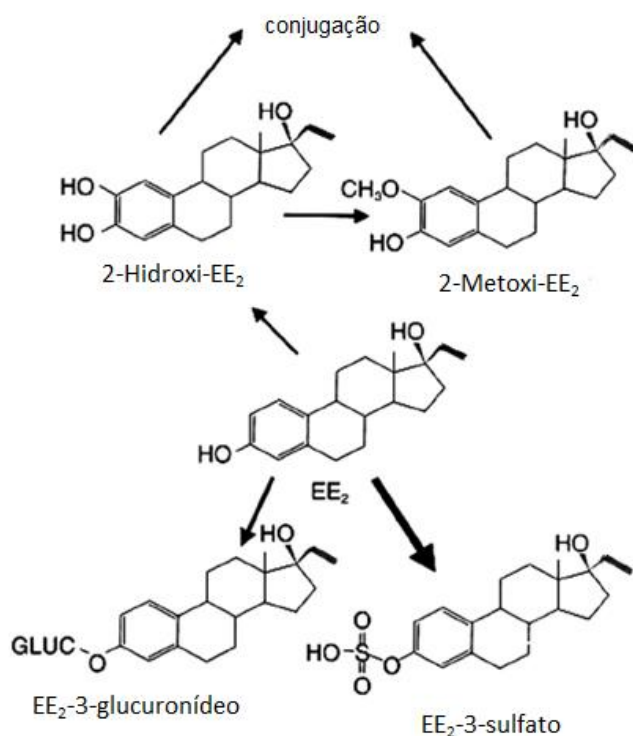
Fonte: ARIS, 2014.

Praticamente todas as substâncias que entram no organismo passam pelo processo de biotransformação no fígado. A biotransformação tem por finalidade a modificação bioquímica e degradação das substâncias, originando produtos das reações, denominados de metabólitos, com o objetivo de facilitar o processo de excreção. A biotransformação do EE2 é ilustrada na Figura 5, sendo que os metabólitos gerados na reação de conjugação são os conjugados de sulfato e o glucuronídeo inativos.

O processo de biotransformação do  $17\beta$ -estradiol é similar ao do EE2, por meio da reação de conjugação. Mas quando encontrado na sua forma livre no meio aquático, acaba resultando em reações de desconjugação pelas bactérias presentes no meio. O EE2 apresenta características de baixa solubilidade em água, sendo classificado com moderado potencial de bioacumulação no organismo. Pesquisas realizadas ao redor do mundo identificam a presença de estrogênios no meio ambiente, como um problema emergente e de grandes impactos ao ecossistema e aos seres vivos (LAURETTA, 2019). Problemas relacionados ao aumento do risco de trombose venosa em mulheres, problemas

no desenvolvimento neurológico, infertilidade em homens e mulheres, aumento do índice de câncer e anomalias nos órgãos reprodutivos, são exemplos das possíveis reações à exposição aos hormônios estrogênicos (BILA e DEZOTTI, 2007; CARNEVALI *et al.*, 2017).

Figura 5: Biotransformação do 17 $\alpha$ -etinilestradiol no fígado



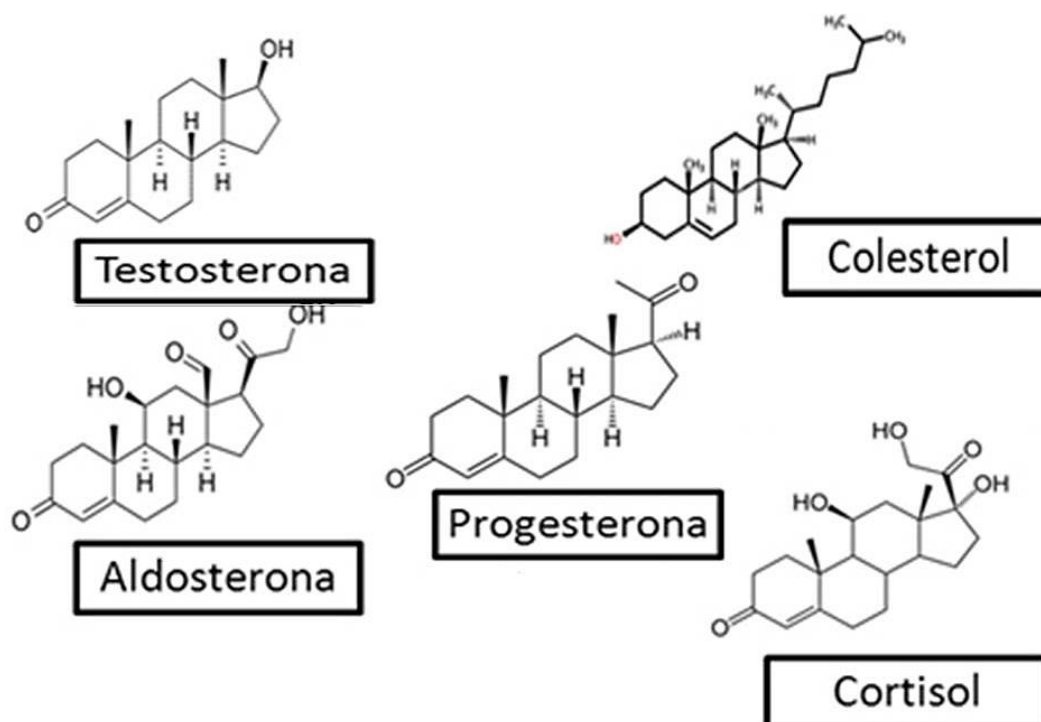
Fonte: Adaptado de ARIS, 2014.

Biomarcadores são frequentemente utilizados para identificar atividade estrogênica no meio. Segundo Santos, Matos e Coimbra (2014), os testes realizados com embriões do peixe *Danio rerio* (peixe-zebra), identificou que a exposição ao hormônio EE<sub>2</sub>, resultou em um aumento da mortalidade dos peixes, assim como malformações e diminuição da frequência cardíaca, concluindo que de fato existe uma grande ameaça para os seres aquáticos durante a embriogênese, prejudicando os processos fisiológicos essenciais para o desenvolvimento desses animais. Além dos biomarcadores, a quantificação direta do EE<sub>2</sub> em solo, água, sedimento é o indicador mais preciso de contaminação.

### 2.3 Progesterona

Os hormônios esteroides, da mesma forma que os hormônios estrogênicos, também podem ser classificados em naturais e sintéticos. Na Figura 6, é possível identificar os principais hormônios esteroides naturais produzidos pelo organismo.

Figura 6: Estrutura química dos principais hormônios esteroides naturais.



Fonte: Adaptado de SCHMID *et al.*, 2019.

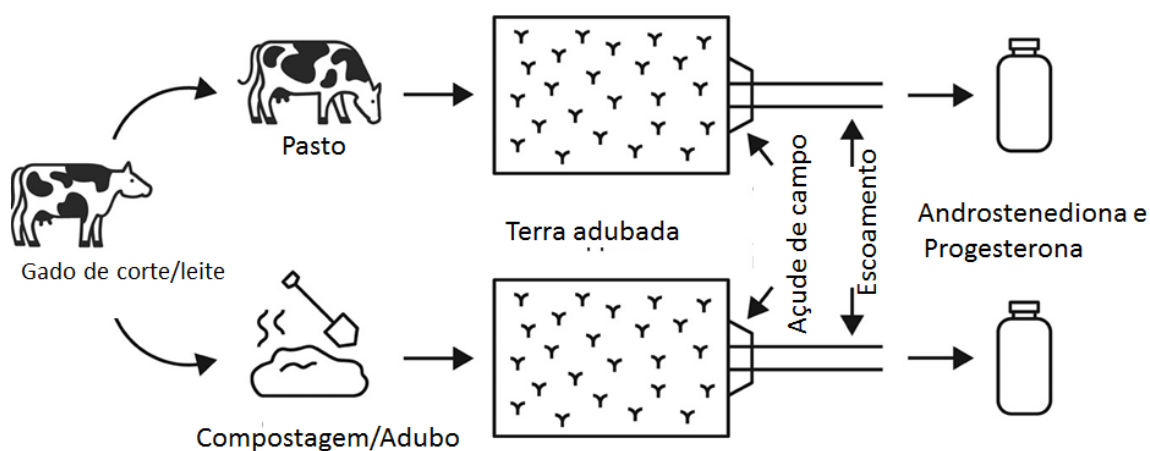
A utilização dos esteroides sintéticos se dá em terapias de reposição hormonal e na composição de contraceptivos. A progesterona, apesar de ser um hormônio natural é muito utilizada sinteticamente na área veterinária para os ciclos de fertilização e reprodução de bovinos (HAVENS *et al.*, 2019).

Os esteroides possuem a mesma estrutura básica, pelo fato de terem origem da derivação do colesterol, que por meio da conversão, realizada pela enzima P450scc, para a pregnenolona, inicia a primeira etapa de uma múltipla sequência de reações enzimáticas para a síntese dos hormônios esteroides (MOLINA, 2014).

Com o aumento da população, conseqüentemente há o aumento do consumo de alimentos, e ocorre investimento na produção agropecuária para atender a demanda do mercado. E dessa forma cresce o uso de terapias hormonais para acelerar a reprodução e crescimento do gado. No entanto, o uso de grandes concentrações de hormônios tem gerado uma grande preocupação quanto à exposição dos seres humanos a esses hormônios. Outra preocupação é quanto ao pasto e solo onde o gado fica, pois esses acabam por conter altas concentrações de hormônios provenientes do processo de excreção dos animais, que podem inclusive ser arrastados para corpos d'água próximos ao pasto, contaminando o meio aquático (HAVENS *et al.*, 2019). A Figura 7 apresenta a possível rota de contaminação dos corpos d'água pela produção na agropecuária.

Os hormônios esteroides, assim como os estrogênicos, podem ser prejudiciais à saúde humana e ao ecossistema, causando desequilíbrios e alterações das funções normais do organismo. A presença desses compostos está relacionada a redução da fecundação e fertilidade, índice gonadossomático alterado e expressão de vitelogenina em peixes machos da espécie *Pimephales promela* (HAVENS *et al.*, 2019; SHCMID *et al.*, 2019).

Figura 7: Contaminação ambiental de hormônios proveniente agropecuária.



Fonte: Adaptado de HAVENS *et al.*, 2019.

## 2.4 Tratamentos de água

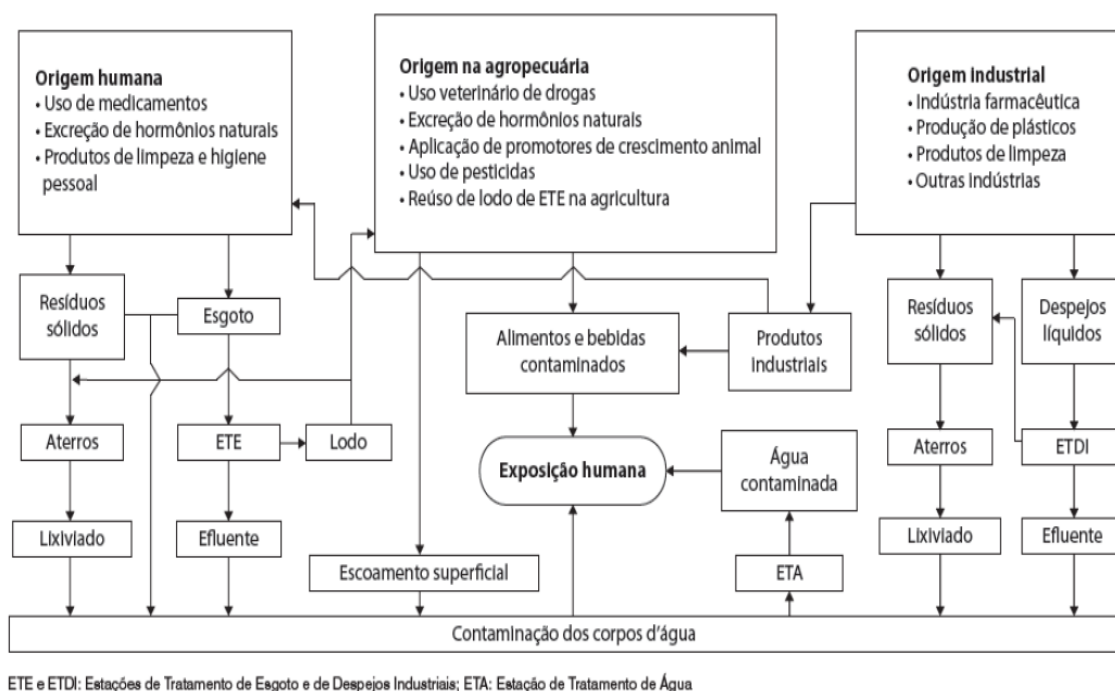
Em todo o mundo, resíduos de fármacos como anti-inflamatórios, antitérmicos, analgésicos, contraste para exame de imagens, antibióticos e hormônios naturais e sintéticos são identificados no esgoto doméstico, em águas superficiais e subterrâneas. A característica do fármaco é promover, as reações terapêuticas ao organismo. De uma forma geral, parte da dose administrada é excretada de forma inalterada, levando esses microcontaminantes a persistirem no meio ambiente (CHOI *et al.*, 2006; BOLONG *et al.*, 2009; BOTTONI *et al.*, 2010).

Os efluentes provenientes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) são importantes meios de contaminação, pelo lançamento de resíduos não tratados, como substâncias hormonais no meio aquático. Hormônios como E2, EE2, e progesterona, são responsáveis por desregulações relacionadas ao sistema endócrino no organismo de animais, que muitas das vezes são utilizados como biomarcadores. Os problemas relacionados ao sistema de tratamento de água e esgoto só aumentam e se agravam cada vez mais, tanto em países desenvolvidos e principalmente nos países em desenvolvimento (BILA EDEZOTTI, 2007; PERES, 2011).

A ocorrência de DE nos corpos d'água é consequência de despejos de diversas rotas de descarga de água, Figura 8.

As etapas convencionais para o tratamento de água são compostas por coagulação, floculação, decantação, filtração e desinfecção, podendo também ter etapas de cloração no processo. Na coagulação e floculação ocorre a remoção da matéria orgânica e microrganismos por meio da suspensão das impurezas. Na decantação os flocos que se depositaram no fundo do tanque são removidos por processos de lavagem ou descarga. A filtração é realizada com filtros constituídos de camadas de materiais adsorventes com tamanho de partículas diferentes para ocorrer a adsorção das impurezas. Por último ocorre a desinfecção com a função de eliminar os microrganismos patogênicos (AQUINO *et al.*, 2013).

Figura 8: Rotas de descarga de contaminantes ambientais.



Fonte: AQUINO *et al.*, 2013.

Diversas plantas de tratamento de água não possuem a capacidade para remoção dos microcontaminantes presentes nos efluentes. Dessa forma, são lançados continuamente no meio ambiente, e em muitos casos contaminando as águas superficiais de abastecimento das cidades. O sistema de tratamento de água atual no Brasil e em outros países é limitado e apresenta dificuldades na remoção de contaminantes em concentrações traços. Essa dificuldade se dá pela falta de recursos, investimento ou tecnologia para a realização de um tratamento de água eficiente e eficaz.

Além disso, há falta de legislação quando o assunto é limite máximo tolerável para esses microcontaminantes (EUROPEAN COMMISSION, 2019). Entretanto, com o avanço das pesquisas na área ambiental as exigências relacionadas à qualidade da água aumentaram, considerando-se os riscos associados à presença de substâncias químicas na água (WEI *et al.*, 2017; VIEIRA *et al.*, 2020).

A pesquisa desenvolvida por Ghiselli (2006) verificou a ocorrência de alguns hormônios na água de três mananciais que abastecem a Região Metropolitana de Campinas, dentre eles o hormônio  $17\alpha$ -etinilestradiol e

Progesterona. Os resultados confirmaram a presença dos hormônios nas análises, com uma concentração entre 1,9-3 µg/L para o estradiol, 1,2-1,7 µg/L para o etinilestradiol e 1,2-1,4 µg/L para a progesterona. Dessa forma indicando as falhas no sistema de tratamento de água.

Assim com o aumento da ocorrência de microcontaminantes, faz-se necessário o estudo e a aplicação de métodos complementares às etapas convencionais, como o processo de adsorção. O emprego de carvão como meio adsorvente tem demonstrado grande eficiência na remoção de DE, diversas pesquisas descrevem uma considerável porcentagem de remoção de microcontaminantes em comparação com a utilização apenas das técnicas convencionais de tratamento de água (VIEIRA *et al.*, 2020).

## 2.5 Adsorção

O tratamento denominado de adsorção consiste em um procedimento de aderência dos solutos presentes em substâncias líquidas ou gasosas no meio adsorvente. A adsorção pode ser física ou ainda por meio de interações químicas, formando ligações entre o adsorvato e o meio adsorvente. O Quadro 2 apresenta as principais diferenças da adsorção química e física nos adsorventes.

Quadro 2: Diferenças de adsorção química e física

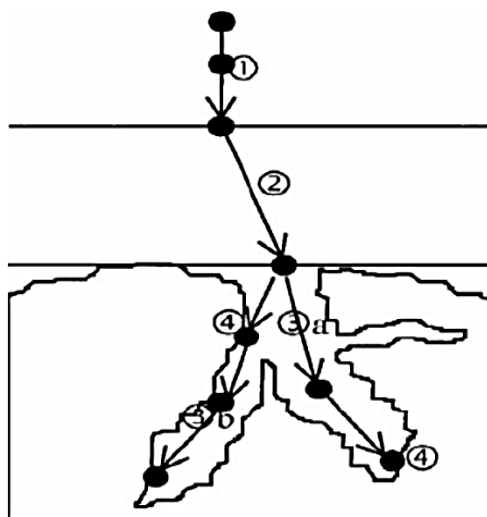
| <b>Adsorção química</b>  | <b>Adsorção física</b>  |
|--|---|
| Alto calor de adsorção (2 ou 3 vezes maior que o calor latente de vaporização) | Baixo calor de adsorção (2 ou 3 vezes menor que o calor latente de vaporização) |
| Altamente específica   | Não específica  |
| Somente monocamada   | Monocama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

Fonte: Adaptado de RUTHEVEN (1984); PROCÓPIO (2017).

De acordo com os modelos propostos por Freundlich, ainda em 1906, o processo de adsorção é a interação entre superfícies heterogêneas, ou seja, que apresentam grande área superficial, com a concentração de soluto em equilíbrio. Essa interação se dá pelas forças exercidas nas moléculas, como a força de Van der Waals e as forças eletrostáticas, causando a adsorção física na superfície do adsorvente (PROCÓPIO, 2017).

A velocidade e o tempo do processo de adsorção estão diretamente relacionados à composição e à superfície do adsorvente. Quanto maior a área superficial, maior será o contato com o soluto, aumentando a capacidade de adsorção. Na Figura 9 estão apresentadas as etapas da adsorção e como o adsorvato se comporta em contato com a superfície do adsorvente. Na primeira etapa ocorre a difusão e convecção, na segunda transferência de massa externa, na terceira a difusão nos poros internos e na quarta a adsorção (FLORIDO, 2011).

Figura 9: Etapas da adsorção sendo, 1) fenômeno de difusão e convecção; 2) fenômeno de transferência de massa externa; 3) difusão nos poros internos; 4) fenômeno de adsorção.



Fonte: FLORIDO (2011); PROCÓPIO (2017).

## 2.6 Biocarvões de resíduos orgânicos

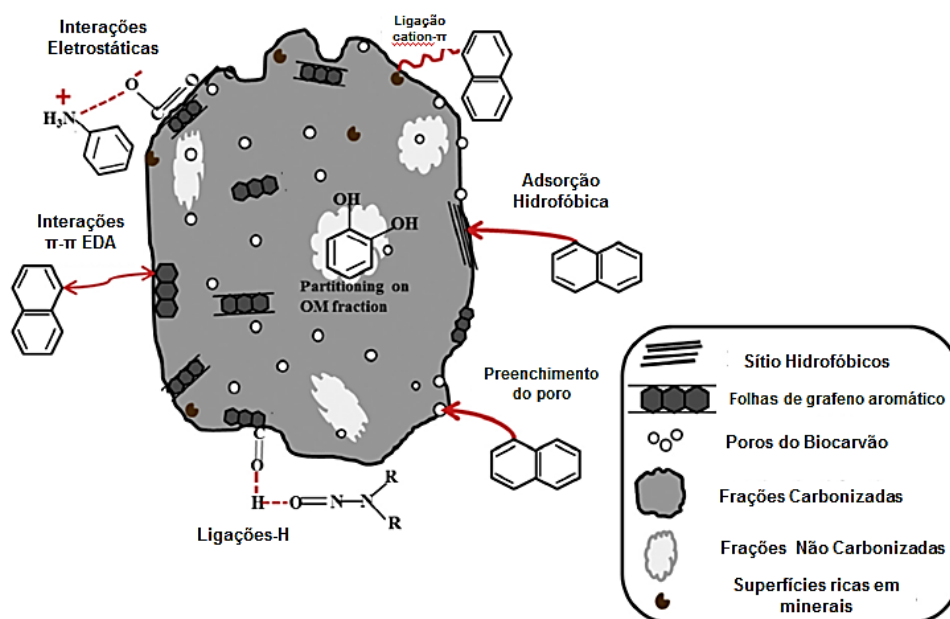
Biocarvões têm sido utilizados no processo de tratamento de água, como uma solução para a remoção de microcontaminantes. Os biocarvões são assim denominados pelo fato de serem carvões produzidos a partir de resíduos orgânicos proveniente do setor industrial e do setor agrícola, tendo assim duas finalidades: o reuso da biomassa que seria descartada, agregando valor econômico, e a aplicação como mais uma etapa no processo de tratamento de água (INYANG E DICKENSON 2014).

De acordo com as pesquisas de Tan et al. (2015) e Thines *et al.* (2017), os biocarvões são materiais sólidos ricos em carbono, obtidos através do processo de aquecimento de biomassas, denominado de pirólise. A pirólise pode se dar com ou sem a presença de oxigênio, e é nesse processo que ocorre a formação de poros. O processo térmico de pirólise pode ser caracterizado de acordo com a temperatura e o tempo de residência no forno. A pirólise lenta pode variar de 350 até 800°C, com tempo de residência no forno de minutos ou dias. Na pirólise rápida, a temperatura varia de 400 a 600°C com tempo de residência no forno de segundos, sendo que nas duas o oxigênio pode ou não estar presente (INYANG E DICKENSON, 2015).

Os biocarvões possuem mecanismo de adsorção para poluentes orgânicos, que pode ser de diversas formas como atração eletrostática, preenchimento de poros, ligações  $\pi$ - $\pi$ , pontes de hidrogênio, doador e receptor de elétrons, interações hidrofílicas e adsorção de complexos. Quanto a composição dos biocarvões, apresentam diferentes tipos de grupos hidroxila e amina, levando a uma superfície carregada negativamente, levando a atração de compostos com carga opostas. Mas também podem ser submetidos a processos químicos para alteração da carga superficial levando a uma melhor afinidade com outros compostos (ROSALES, 2017).

As propriedades adquiridas no processo de pirólise irão determinar o aumento da capacidade de adsorção, como a área superficial, as cargas, a funcionalidade química e a quantidade de poros. A Figura 10 ilustra uma partícula de biocarvão e as interações que podem ocorrer em sua superfície e poros.

Figura 10: Mecanismos de sorção em uma partícula de biocarvão para captação de microcontaminantes.



Fonte: Adaptado de INYANG E DICKENSON, 2015.

Diversos resíduos orgânicos foram pesquisados e analisados como potenciais biocarvões, devido à grande disponibilidade dos resíduos e ao aumento da produção agrícola e industrial. Trabalhos como o estudo de resíduos da produção de arroz, de cana-de-açúcar, de coco, milho, soja, entre outros (QIAN & CHEN, 2013; YAO *et al.*, 2012; SHEN *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2011; AHMAD *et al.*, 2012).

O aumento no consumo de produtos de origem vegetal é resultado de novos comportamentos e a busca por estilos de vida mais saudáveis. O vegetarianismo e o veganismo se tornaram práticas mais populares, em todo o mundo, levando ao aumento de consumo de produtos, que antes não havia muita procura, como é o caso dos cogumelos. Os cogumelos são uma grande fonte de proteínas, como também de uma ampla variedade de vitaminas (biotina, riboflavina, niacina, vitaminas B1, C e D) minerais e fibras (SOCCOL *et al.*, 2016). No Brasil a demanda por cogumelos vem aumentando cada vez mais, o que tem gerado um crescimento significativo na produção (DINIZ, 2008; DIAS, 2010). Os principais produtores de cogumelo estão nos estados de São Paulo e Paraná,

com destaque para as cidades de Ibiúna, Sorocaba, Salto e Cabreúva no estado de São Paulo (ANPC, 2020).

O substrato, empregado no cultivo de cogumelos, é constituído por uma mistura de biomassas como, serragem de eucalipto (21%), farelo de arroz, e trigo (14%), água (65%), carvão de eucalipto e corretor de pH. Os cogumelos são cultivados no substrato de 4 a 7 meses, até que estejam prontos para a colheita. Após sua vida útil de cultivo, o substrato se torna mais um resíduo ambiental, e o descarte sem qualquer tratamento também pode gerar problemas ambientais.

Anualmente são produzidos, apenas no estado de São Paulo, 12 mil toneladas de cogumelos, sendo que a produção vem aumentando a cada ano no estado. No processo de crescimento do cogumelo são utilizados cinco quilos de substrato para a produção de um quilo de cogumelo, o que resulta anualmente em uma média de 60 mil toneladas de resíduo de substrato da fungicultura, justificando o estudo de aplicações para o reuso desse material (Portal do Governo).

A alternativa de transformar um produto que antes era apenas resíduo, em um material de valor comercial e com propriedades de adsorção de microcontaminantes DE, pode ser a solução de dois problemas ambientais, como na pesquisa de Skariyachan *et al.* (2016) utilizaram os resíduos da produção do cogumelo da espécie *Pleurotus ostreatus* como adsorvente para corantes provenientes da indústria têxtil da cidade de Karnataka na Índia. No trabalho de Sewu *et al.* (2019), eles utilizaram um processo em escala industrial para a produção de biocarvão a partir do substrato de cogumelo, como adsorvente para o corante cristal de violeta, obtendo resultados em torno de 99,6% de adsorção do contaminante.

A aplicação de biocarvões no processo de tratamento para adsorção de microcontaminantes se mostra promissora e de crescente estudo, como uma alternativa sustentável e econômica no tratamento de água (TAN *et al.*, 2014).

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Geral**

Produzir um biocarvão com o substrato de cogumelo, avaliando sua capacidade de adsorção para dois hormônios, o 17 $\alpha$ - etinilestradiol (EE2) e progesterona.

### **3.2 Específicos**

- Produzir um biocarvão com o resíduo de substrato da produção de cogumelo Shiitake com características promissoras para adsorção;
- Avaliar a capacidade de adsorção do biocarvão para os hormônios EE2 e progesterona, em processo batelada e de leito fixo;
- Desenvolver método de análise para dois hormônios, o EE2 e progesterona de forma simultâneas e nas mesmas condições de leitura em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;
- Desenvolver e testar um protótipo de filtro com camadas de biocarvão para o tratamento de um efluente real de laboratório, a partir das soluções de hormônios de EE2 e progesterona produzidas durante a pesquisa.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Preparação do biocarvão

O pós-cultivo do substrato de cogumelo foi fornecido pela empresa Yuri Cogumelos, localizada na cidade de Sorocaba, parceira da Universidade de Sorocaba. Foi cortado em cubos pequenos e passou pelo processo de secagem e moagem. A secagem foi realizada em estufa em aproximadamente 105°C durante 24 horas. Em seguida o material passou pelo moinho de faca (Marconi® - MA340 Série 0004201) e posteriormente pela peneira granulométrica da marca (tamises) BERTEL, foi utilizada a granulometria de 80 *mesh*.

Para a produção do biocarvão foi realizado o processo de pirólise. Foi pesado 3 g de substrato para cada um dos 15 cadinhos de porcelana, em seguida colocados dentro do forno mufla SP-1200 da SP Labor. Nas temperaturas de 250 e 450°C realizou-se uma pirólise mais longa de 1 hora de tempo de residência e para a temperatura de 600°C o tempo de residência foi de 20 minutos. O tempo de 20 minutos foi determinado com base em um teste piloto realizado em 600°C com uma 1 hora de residência, em que o material foi totalmente convertido em cinzas, inviabilizando seu uso nos testes, e levando a conclusão que um tempo menor de residência para essa temperatura, seria o ideal.

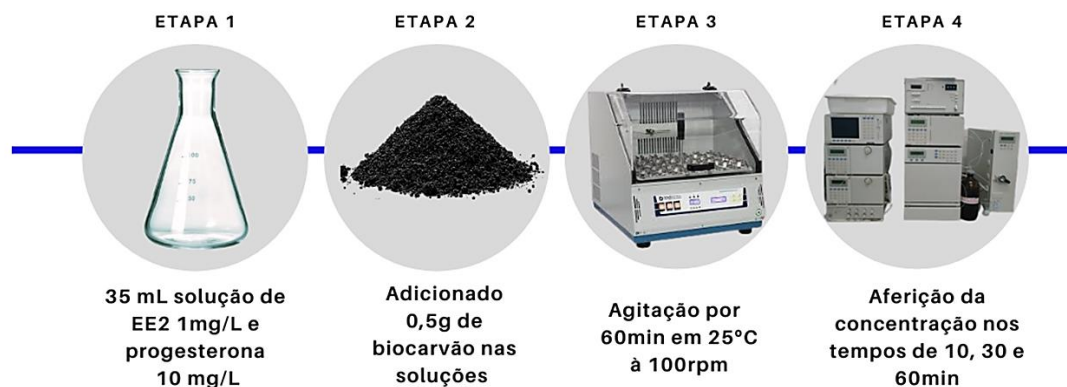
Após a retirada das amostras do forno mufla, elas foram armazenadas em frascos plásticos com tampa.

### 4.2 Capacidade de remoção dos hormônios por teste de batelada piloto

Para identificar o biocarvão, de melhor capacidade de remoção dos hormônios realizou-se testes pilotos em frascos erlenmeyers de 125 mL, foram colocados 0,5 g de biocarvão, obtido nas temperaturas de 250, 450 e 600 °C, e 35 mL da solução de hormônios na concentração de 1 mg/L de EE2 e 10 mg/L de progesterona. Os frascos foram dispostos em incubadora *shaker* (Nova Técnica – modelo NT 715) a 25°C e 100 rpm por 60 minutos. Coletas foram realizadas nos tempos de 10, 30 e 60 minutos, as amostras foram filtradas e em

seguida realizou-se a análise por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Na Figura 11 é ilustrado o processo realizado.

Figura 11: Processo do teste de batelada piloto para analisar a capacidade das diferentes amostras de biocarvão na remoção dos hormônios



Fonte: Elaboração própria

### 4.3 Caracterização do biocarvão

A caracterização da superfície do material foi realizada pela análise Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da marca Jeol modelo JSM-IT200A, no Laboratório de Física Nuclear (LAFINAU) da Universidade de Sorocaba.

A análise de MEV tem por finalidade apresentar imagens de alta resolução da superfície do material com aumentos de até 300.000 vezes. A área da amostra a ser analisada é irradiada por um fino feixe de elétrons, produzidos pela excitação elétrica do filamento de tungstênio. Ao incidir o feixe de elétrons na amostra, os elétrons batem no átomo e são ricocheteados de volta, mas com uma menor energia, já que parte da energia foi absorvida pelo átomo, sendo que cada elemento químico absorve uma quantidade diferente de energia. Essas interações dos elétrons com a superfície da amostra resultaram em uma série de radiações, como elétrons secundários, elétrons retroespalhados e raios-X característicos. Quando essas radiações são captadas pelo detector resultam nos dados de topografia da superfície, composição e cristalografia da amostra. Pela técnica Espectroscopia de Raios-X por Difusão de Energia (EDS), identificam-se

os elementos por meio das emissões de raios-X caraterísticos de cada átomo presente no material de forma qualitativa.

Para que ocorra uma melhor varredura da amostra, foi realizado o processo de metalização, que consiste em um equipamento que deposita uma fina camada de metal sobre a amostra, no caso o metal depositado foi ouro, já que a amostra analisada apresenta uma grande concentração de carbono, o que acaba dificultando a visualização da superfície caso não ocorra o tratamento da amostra com o metal, já que a interação dos feixes de elétrons é melhor quando se tem elementos de maior energia.

A análise por Fluorescência de Raios-X, equipamento da marca Malvern Panalytical, modelo Epsilon1, também foi realizada no laboratório LAFINAU na Universidade de Sorocaba. Realizou-se a análise para uma maior precisão quanto a composição do material, para quantificar e qualificar cada elemento químico presente na amostra. Foi utilizada uma massa de aproximadamente 3g de cada amostra, essas foram prensadas em prensa pneumática para a conformação de uma pastilha. A patilha com aproximadamente 7mm de espessura foi colocada do equipamento para a realização da análise. A fonte de raios-X é proveniente da excitação do elemento prata (Ag), que ao incidir na amostra, gera a emissão raios-X caraterísticos, ou seja, energia de excitação específica de cada elemento, gerando sinais de maior confiabilidade.

#### **4.4 Ponto de Carga Zero – PCZ**

A análise de PCZ tem por finalidade determinar o valor do pH em que a superfície do material adsorvente é eletricamente neutra, onde o pH é constante, definindo assim se a adsorção será eficaz. No experimento, 11 pontos de pH foram utilizados, variando de 2,0 a 12 (REGALBUTO & TOBLES, 2004). Na metodologia escolhida, foram adicionados 20 mg do biocarvão em 20 mL de solução aquosa de NaCl a 0,1 mol/L, aferindo 11 diferentes pontos de pH inicial, ajustando com soluções de HCl e NaOH ambas à 0,1 mol/L. O processo tem duração de 24 horas com agitação constante à 100 rpm e temperatura de  $25 \pm 2$  °C, ao final ao pH é aferido e então o PCZ será calculado a partir da média aritmética dos valores aferidos do pH final que se mantiverem próximos.

Figura 12: Diagrama do procedimento de Ponto de Carga Zero (PCZ).



Fonte: Elaboração própria

## 4.5 Preparo da solução

A solução de EE2 e progesterona foi preparada utilizando 17 $\alpha$ -etinilestradiol e progesterona da Sigma-Aldrich na concentração de 1 mg/L e 10mg/L respectivamente. Ambos os hormônios foram pesados, sendo 1 mg de EE2 e 10 mg de progesterona, em seguida solubilizados em metanol e levado ao banho ultrassônico para uma melhor interação dos compostos. Depois a solução foi transferida para um balão volumétrico de 1 L, completando com água Milli-Q. A preparação da solução foi em metanol:água (20:80 v/v). A solução foi transferida para frasco âmbar para ser armazenada na geladeira à 5 °C.

## 4.6 Experimentos de adsorção

### 4.6.1 Cinética de adsorção

O parâmetro “cinética de adsorção” é de grande importância, pois ele determina o tempo de contato ideal para que ocorra a transferência do adsorvato, presente no meio aquoso, para o material adsorvente, sendo que temperatura, pH, concentração, agitação e porosidade são algumas das variáveis que podem alterar a velocidade da adsorção.

Para o teste de cinética de adsorção foi utilizado o biocarvão que forneceu o melhor resultado do teste piloto de batelada, com uma massa de 0,5 g do biocarvão e 35 mL da solução de hormônios, na concentração de 1 mg/L de EE2 e 10 mg/L de progesterona, já ajustado no pH 9,56 encontrado na análise de PCZ. Colocou-se os 10 Erlenmeyer de 125 mL na incubadora shaker (Nova Técnica – modelo NT 715), por 24 horas com agitação à 100 rpm e com temperatura de  $25 \pm 2$  °C. Cada Erlenmeyer foi um tempo de retirada sendo eles em 10, 20, 30 45, 60, 120, 240, 360, 760 e 1440 minutos. Todas as amostras foram filtradas à vácuo (Millipore – Sterifil) com filtro simples para reter a parte sólida (biocarvão) do meio aquoso. Em seguida as amostras foram armazenadas em tubos cônicos e guardadas na geladeira à 5 °C para posterior leitura em CLAE, como mostra a figura 13.

Figura 13: Esquema do teste da cinética, com concentração fixa e variação de tempo, ao longo de 24h.



Fonte: Elaboração própria

#### 4.6.2 Isoterma de adsorção

A isoterma relaciona a quantidade de substância adsorvida e a concentração de equilíbrio de uma solução em uma determinada temperatura constante.

Para avaliar o tempo da biossorção foi utilizada uma massa também de 0,5 gramas de biocarvão e 35 mL das soluções com contaminantes, em cinco diferentes concentrações de 1,0; 0,8; 0,6; 0,4 e 0,2 mg/L para o EE2 e 10, 8, 6, 4, 2 mg/L para a progesterona, sendo que as concentrações correspondem as diferentes porcentagem de diluição de 100, 80, 60, 40 e 20%.

As amostras foram mantidas em agitação por 24h na incubadora *shaker* (Nova Técnica – modelo NT 715) previamente calibrada na temperatura de  $25 \pm 2$  °C em 100 rpm. Após o período de 24h as amostras foram filtradas à vácuo, e armazenadas em tubos cônicos e refrigeradas à 5 °C para posterior análise de CLAE, como mostra a Figura 14.

Figura 14: Organização dos procedimentos da isoterma, com diferentes concentrações e tempo fixo.



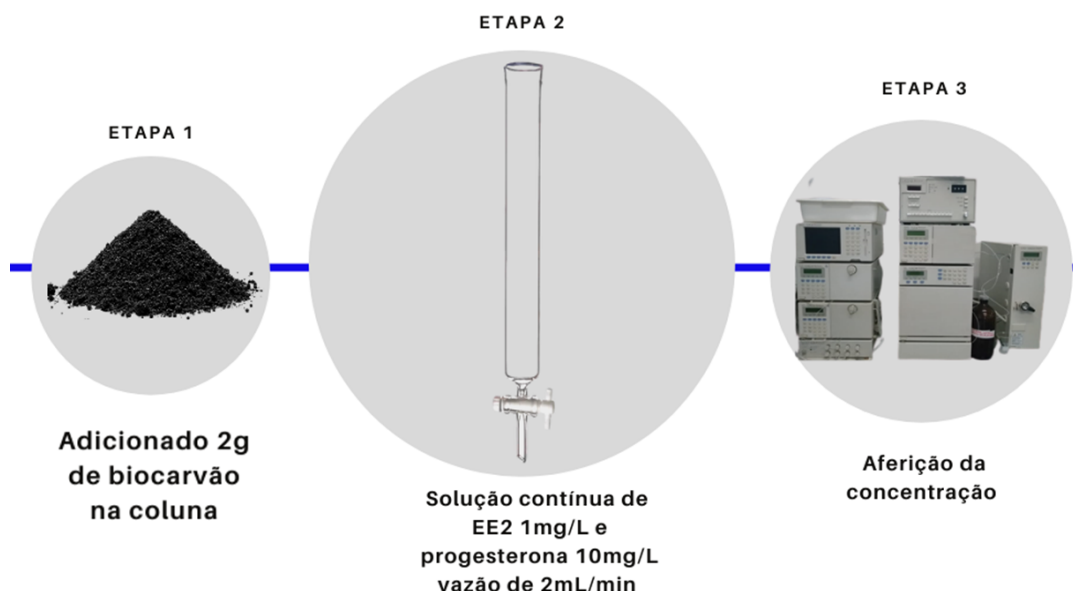
Fonte: Elaboração própria

#### 4.6.3 Leito fixo

Os testes do leito fixo, ilustrado na Figura 15, foram realizados apenas para o biocarvão que obteve a melhor porcentagem de remoção para os dois

contaminantes em estudo. A temperatura do experimento foi a ambiente, aproximadamente 25 °C. Utilizou-se uma coluna de cromatografia com placa porosa, torneira de teflon e diâmetro de 20 mm. A coluna foi preenchida com 2g de biocarvão, como leito fixo. A solução de EE2 e de Progesterona (separadamente e simultaneamente) passaram pela coluna a uma vazão de aproximadamente 3,4 mL/min. As amostras pós-coluna foram coletadas nos tempos de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180 e 240 minutos, as amostras foram armazenadas em tubo cônico à 5°C até análise em CLAE, como mostra figura 15.

Figura 15: Diagrama da organização do teste de leito fixo.



Fonte: Elaboração própria

#### 4.7 Análise das amostras

A técnica analítica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) consiste em um método de separação de compostos químicos em solução identificando e quantificando os compostos da mistura.

Para a quantificação dos hormônios nos testes de batelada, da cinética de adsorção, da isoterma e leito fixo, foi realizado análises em duplicatas. Utilizou-se coluna C18, com preenchimento de 5 µm, diâmetro de 4.6 mm e altura

de 125 mm (Thermo Scientific) à temperatura de 37°C no forno. A varredura ocorreu com pressão de 300 Kgf/cm<sup>2</sup>, com vazão de 1,6 mL/min, tempo de corrida de 4 minutos, injeção de 20µL da amostra, detecção à 202 nm, fase móvel composta por 70% acetonitrila padrão CLAE (Sigma-Aldrich) e 30% água ultra pura Milli-Q, em sistema isocrático conforme descrito por Unruh (2011). Foi realizado alguns testes para que pudesse ocorrer a análise simultânea dos dois hormônios em estudo, o EE2 e a progesterona. Então realizou-se alterações na vazão e no tempo de corrida, assim como na fase móvel para se obter uma análise clara das duas substâncias.

A curva analítica foi construída utilizando a amplitude dos picos e então, com a equação da reta, pôde-se calcular as concentrações de EE2 e progesterona das amostras. A curva de calibração foi realizada a partir da solução estoque, realizando diluição com água Milli-Q para o EE2 1; 0,5; 0,3; 0,1; 0,001 mg/L e para a progesterona nas concentrações de 10; 5; 3; 1; 0,1 mg/L.

Com o valor obtido da amplitude de cada concentração da curva analítica, foi possível obter a equação da reta para o EE2 (Equação 1) e para a progesterona (Equação 2).

$$y = 0,0241x + 0,0002 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

y= amplitude do pico

x= concentração de EE2

$$y = 0,0016x + 0,0008 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

y= amplitude do pico

x= concentração de progesterona

## **4.8 Cálculos dos resultados dos ensaios de adsorção**

### **4.8.1 Cinética de adsorção**

O tempo é uma variável importante na análise da cinética, pois ele determina o comportamento do adsorvente em determinada concentração de adsorvato (VIDAL *et al.*, 2014).

Diversos modelos matemáticos são encontrados na literatura, propondo os mecanismos de adsorção, sendo que os mais comuns são o de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem, expressados pelas Equações 3 e 4 respectivamente.

$$q_t = q_e [1 - \exp(-k_p t)] \quad (\text{Equação 3})$$

$$q_t = \frac{k_s q_e^2 t}{1 + k_s q_e t} \quad (\text{Equação 4})$$

Na qual

$q_t$ : quantidade adsorvida a um tempo (mg/g);

$q_e$ : quantidade adsorvida no equilíbrio (mg/g);

$k_p$ : constante cinética do modelo pseudo-primeira ordem ( $\text{min}^{-1}$ );

$k_s$ : constante cinética do modelo pseudo-segunda ordem ( $\text{min}^{-1}$ ).

O cálculo para a porcentagem de remoção em função do tempo de contato foi determinado pelas concentrações iniciais e finais de cada hormônio. A Equação 5 foi utilizada para construção do gráfico de porcentagem de remoção pelo tempo.

$$\text{remoção de (\%)} = \frac{(C_i - C_{eq})}{C_i} \times 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

$C_i$ : Concentração inicial (mg/L);

$C_{eq}$ : Concentração de equilíbrio (mg/L).

#### 4.8.2 Isoterma de adsorção

Os valores gráficos para obter o equilíbrio da adsorção, requer a utilização da isoterma de adsorção, sendo que a massa fixa do adsorvente é adicionada a um determinado volume de solução com concentração inicial diferente e conhecida. Ao atingir o equilíbrio da adsorção, tem-se a concentração final do

soluto em equilíbrio na unidade de mg/L e a capacidade de adsorção em mg/g, calculados pela Equação 6 (DWIVEDI *et al.*, 2011; MELO *et al.*, 2014).

$$q = \frac{v(C_i - C_{eq})}{M} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

q= quantidade de contaminante removido (mg contaminante/g biossorvente);

v= volume de solução carregada com o contaminante (L);

M= massa do biossorvente (g).

O modelo de Langmuir é muito utilizado em mecanismos de adsorção em monocamada, para superfícies que contém um número finito de sítios, quando se admite que a atividade dos sítios é proporcional a sua concentração e que o número total de sítios ativos seja constante, então a Equação 7 calcula a quantidade de contaminante adsorvido (PINO *et al.*, 2005).

$$q_e = \frac{q_{m\acute{a}x} \cdot k_{ads} \cdot C_{eq}}{1 + k_{ads} \cdot C_{eq}} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde:

q<sub>e</sub>: quantidade de adsorvato retido no sólido em equilíbrio (mg/g);

q<sub>máx</sub>: capacidade máxima de adsorção (mg/g);

k<sub>ads</sub>: constante de Langmuir relativa à energia de adsorção (L/mg);

C<sub>eq</sub>: concentração de equilíbrio;

Os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich são muito utilizados e de grande importância para a construção da isoterma. No entanto o modelo de Sips, Equação 8, combina os dois modelos para determinar o equilíbrio da adsorção dos contaminantes adsorvidos pelo biocarvão (SIPS, 1948; FOO; HAMEED, 2010).

$$q_e = \frac{q_{m\acute{a}x} \cdot K_{LF} \cdot C_e^n}{1 + K_{LF} \cdot C_e^n} \quad (\text{Equação 8})$$

Onde:

K<sub>LF</sub>: constante de equilíbrio de Sips;

n: parâmetro de heterogeneidade.

O modelo de Redlich-Peterson, expresso pela Equação 9, também é um modelo híbrido dos modelos de Langmuir e Freundlich, com um acréscimo de um parâmetro, podendo ser aplicado para diversas concentrações (FOO; HAMEED, 2010).

$$q_e = \frac{K_{RP} \cdot C_{eq}}{1 + a_{RP} \cdot C_{eq}^{\beta_{RP}}} \quad (\text{Equação 9})$$

Na qual,

$K_{RP}$ : constante de equilíbrio de Redlich-Peterson (L/g);

$a_{RP}$ : constante do modelo (mg/L)<sup>-β<sub>RP</sub></sup>;

$\beta_{RP}$ : número adimensional ( $0 < \beta_{RP} \leq 1$ ).

Outro cálculo necessário é o valor do fator de separação ( $R_L$ ), ele determina o grau de desenvolvimento da adsorção. É uma constante adimensional que permite verificar se a afinidade do adsorvato está para a fase sólida ou líquida. O fator de separação é expresso pela Equação 10.

$$R_L = \frac{1}{1 + q_{max} \cdot K_{LF}} \quad (\text{Equação 10})$$

A classificação da isoterma se dá em relação aos valores do fator de separação,  $0 < R_L < 1$  é classificado como uma isoterma favorável,  $R_L > 1$ , significa que o soluto apresenta mais afinidade com a fase líquida, sendo a adsorção desfavorável.  $R_L = 1$  representa uma isoterma linear e  $R_L = 0$  é irreversível (BARROS, 2001).

#### 4.8.3 Leito fixo

Para os cálculos em leito fixo, alguns parâmetros serão calculados para uma melhor visualização do processo de adsorção no leito. A densidade aparente é uma das variáveis que auxiliam na compreensão da forma que se apresenta o leito sendo a relação da massa por unidade de volume do adsorvente no leito, podendo ser determinada pelo método ASTM (American Society for Testing and Materials) D2854. A partir da densidade aparente pode-se determinar o volume aparente, que é o volume de partículas e então, é possível obter a densidade de empacotamento do leito e porosidade do leito, que

representa a fração de vazios dentro da coluna preenchida com o adsorvente (RAULINO, 2011).

Para o cálculo da densidade aparente ( $\rho_A$ ) pelo método ASTM, é necessário preencher uma proveta de 10 mL, pesando a proveta completada com o material adsorvente, em seguida pesar a proveta com água e por fim pesar o adsorvente com água. Então através da relação massa volume (Equação 11) chega-se no valor de  $\rho_A$ .

$$\rho_A = \frac{m}{V} \quad (\text{Equação 11})$$

Para o cálculo do volume aparente ( $V_{AP}$ ), da densidade de empacotamento do leito ( $\rho_E$ ) e da porosidade do leito ( $\epsilon$ ) utilizam-se as Equações 12, 13 e 14 (BARBOSA, 2011).

$$V_{ap} = \frac{ML}{\rho_A} \quad (\text{Equação 12})$$

$$\rho_E = \frac{ML}{VL} \quad (\text{Equação 13})$$

$$\epsilon = 1 - \left( \frac{\rho_E}{\rho_A} \right) \quad (\text{Equação 14})$$

Sendo:

m = massa;

V = volume da proveta.

ML = massa de material sorvente na coluna;

$\rho_a$  = densidade aparente;

VL = volume interno da coluna vazia;

$V_{AP}$  = volume aparente;

$\epsilon$  = porosidade do leito;

$\rho_E$  = densidade de empacotamento do leito;

A porção compreendida entre o ponto de exaustão e o ponto de ruptura é chamada de zona de adsorção primária (ZAP), o tempo total para que a ZAP seja estabelecida ( $t_x$ ) é dado pela Equação 15 (GUPTA *et al.*, 1997; 2000; KUNDU; GUPTA, 2005).

$$t_x = \frac{V_x}{F_m} \quad (\text{Equação 15})$$

Onde:

$t_x$  = Tempo total para estabelecimento da ZTM;

$F_m$  = fluxo volumétrico ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ );

$V_x$  = volume de exaustão (mL);

Também é possível determinar a taxa de uso do adsorvente, que é dado pela razão de massa do adsorvente na coluna e volume de solução tratada no ponto de ruptura, conforme Equação 16.

$$\text{Taxa do uso do adsorvente} = \frac{ML}{VB} \quad (\text{Equação 16})$$

Sendo:

VB = volume de solução tratada no ponto de ruptura (L);

ML = massa de material sorvente na coluna (g).

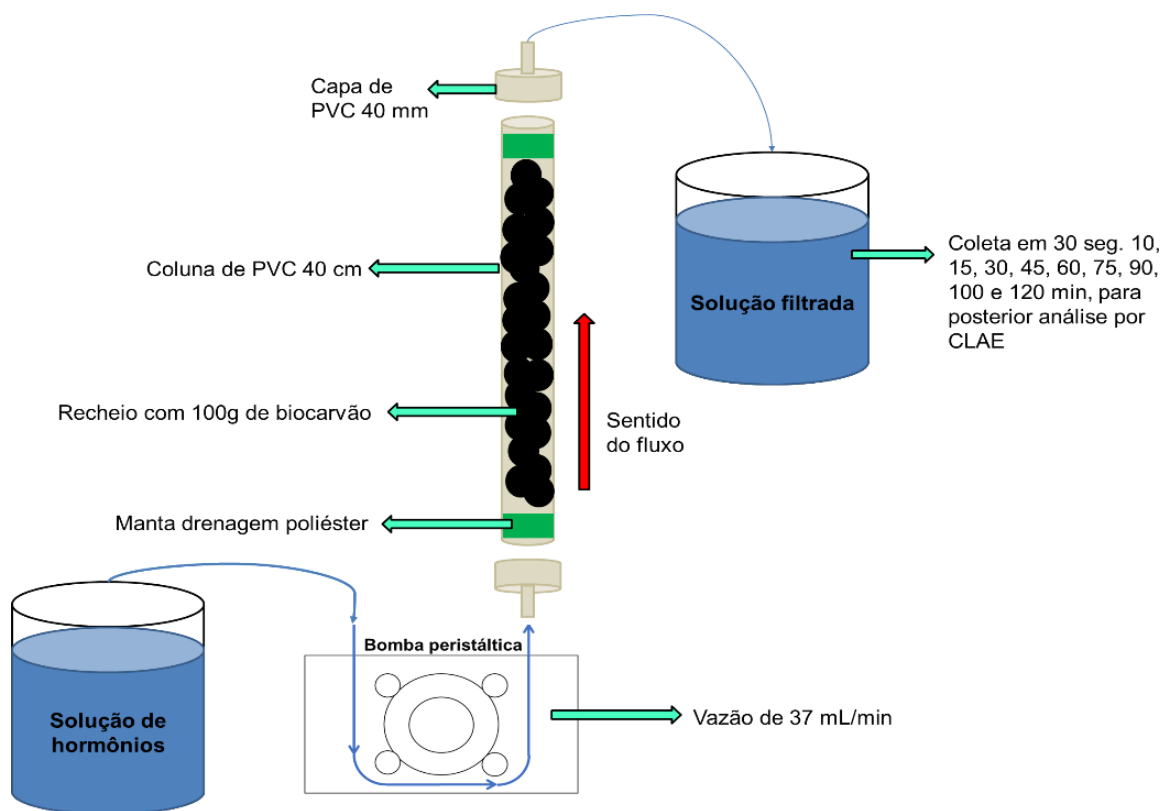
#### 4.9 Produção do filtro

O protótipo de filtro foi construído com o polímero de policloreto de vinila (PVC), utilizando cano de PVC de 40mm de diâmetro e 40 cm de altura e duas capas de PVC de 40mm para as duas extremidades da coluna, utilizou-se extensores de PVC para o encaixe das mangueiras de silicone da entrada da solução contaminada e saída da solução filtrada.

A coluna foi preenchida com 100 g do biocarvão produzido, e nas extremidades da coluna utilizou-se 6 cm de manta de drenagem poliéster, com a finalidade de reter o carvão no centro da coluna e impedindo a saída de material particulado. Para o bombeamento da solução contaminada, utilizou-se uma bomba peristáltica da marca TECNAL modelo TE-BP-01. A vazão utilizada foi a mínima do equipamento, de aproximadamente 37 mL/min.

O teste foi projetado para a o tratamento de aproximadamente 5 L de solução contendo hormônios, levando a um tempo máximo de vazão de solução de 2 hora e 20 minutos. Foi coletada amostras para análise em CLAE para determinar se o filtro possui eficiência no processo de adsorção, como mostra a figura 16.

Figura 16. Montagem e teste do protótipo de filtro com biocarvão



Fonte: Elaboração própria

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Artigo científico**

As seções Resultados e Discussão encontram-se agrupadas, e apresentam o manuscrito resultante deste trabalho, seguindo as “Orientações para apresentação de dissertações do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba”.

O artigo será submetido para a uma revista do estrato superior, e seguirá as normas indicadas pela revista.

## **Biochar from waste of the fungiculture production for treatment of water contaminated with hormones.**

Raquel Andrade Leite Vieira<sup>1</sup>; Thaisa Borim Pickler<sup>1</sup>; Angela Faustino Jozala<sup>1</sup>; Denise Grotto<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>University of Sorocaba, Laboratory of Toxicological Research - Lapetox, Rodovia Raposo Tavares, Km 92.5, Zip Code 18023-000. Sorocaba, São Paulo State, Brazil.

\* Endereço para correspondência:

Denise Grotto

Graduate Program in Pharmaceutical Sciences

University of Sorocaba,

Rodovia Raposo Tavares Km 92.5, CEP. 18023-000, Sorocaba, SP, Brazil;

Tel.: +55 15 2101 7104; Fax: +55 15 2101 7000

denise.grotto@prof.uniso.br

### **ACKNOWLEDGEMENT**

The authors are grateful for financial support of Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - Process number 2016/22873-4), and for fellowship from Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares (PROSUP/CAPES).

## Abstract

Effluent treatment methods using biochar have been a sustainable alternative for removing contaminants from water. The use of agricultural residues such as coal is an ecofriendly alternative after heat treatment, the biochar has a large surface area with formation of pores, enhancing the adsorption capacity of emerging contaminants such as hormones. In this way, a novel biochar from spent mushroom substrate was produced and assessed to remove hormones from water. Spent mushroom substrates were dried, grinded and pyrolysed. Pyrolysis was carried out in two conditions: at 250 and 450 °C with a residence time of 1h, and at 600 °C for 20min. The biochars were firstly tested in batch with a solution of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and progesterone. High Performance Liquid Chromatography technique was used to determine the residual concentration. Then, kinetics, isotherm and fixed bed tests were carried out, as well as biochar characterization using Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis. The biochar obtained at 600 °C was the one with the best results of isotherm, with the  $q_{max}$  for progesterone in the Sips model of 119.3 mg progesterone / g biochar and 16,35 mg EE2/ g biochar in the Langmuir model. Images from SEM showed that the 600 °C biochar presented a larger surface area with a greater formation of pores and recesses. In conclusion, the biochar showed a good percentage of removal and can be used as part of the water treatment process to remove contaminants such as hormones.

**Keywords:** Hormones, water treatment, biochar, spent mushroom substrate.

## 1. INTRODUCTION

The human endocrine system is an integrated structure of multiple organs, able to synthesize and release chemical messengers, named hormones. Hormones perform functions in target cells near or far from the release site. Endocrine system coordinates and integrates cellular activities throughout the body, such as the regulation of sodium and water balance and regulation of energy balance, regulation of development, growth, reproduction, and the aging process. When the correct combination of hormone and target cell receptor occurs, so the physiological response of the hormonal action (MOLINA, 2014; KABIR et al., 2015; LAURETTA et al., 2019).

However, the receptors do not have characteristic of only making connections with specific hormones. Receptors are capable to bind other chemicals with a compatible chemical structure to the same receptor. Chemicals responsible for making changes related to the endocrine system are named endocrine disruptors. These substances are microcontaminants originated from anthropic actions, which are released into the environment in trace concentrations ( $\mu\text{g/L}$  -  $\text{ng/L}$ ), affecting the ecosystem and the human health (ROGERS et al., 2013; LIMA et al., 2017).

According to World Health Organization, endocrine disruptors "are substances or mixtures of exogenous substances, which alter the normal functions of the endocrine system, causing adverse effects on the individual, his progeny or populations of organisms exposed to such substances" (WHO, 2012). The presence of these contaminants in water implies a real health risk. Studies and improvements in water treatment systems are crucial due to the final route of those contaminants ends up in water resources and water supply systems (BILA AND DEZOTTI, 2007; BOLONG, 2009).

The hormones  $17\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) and progesterone are widely used in the pharmaceutical industry, as contraceptives, and as hormonal cycling induction of cattle in the dairy industry. Both are found in nature by the contamination of water bodies, affecting the ecosystem (ARIS; PRAVEENA, 2014; HAVENS et al., 2019; VIEIRA, et al., 2020,).

There are still no environmental laws regarding hormones maximum concentrations in bodies of water or potable water and several studies presented concentrations of EE2 in different regions of the country between 0.194 ng/L and 48.2 µg/L (MACHADO, 2014; TORRES et al., 2015; PIMENTEL et al. 2016; FRANÇA et al. 2020), with the concentrations varying throughout the year. According to Cunha et al. (2016) concentrations above 0.035 ng/L are already sufficient to cause adverse effects on the induction of vitellogenin in male fish, affecting the reproduction system of this animals.

The use of biochar aiming the removal of microcontaminants has grown over the years. It seems a sustainable alternative to two problems: the waste from agricultural production, and water treatment (TAN et al., 2014). Spent mushroom substrate, a general residue from fungiculture, is a promising residue that can be used as a biochar. There are some studies regarding mushrooms as biosorbents of metals and dyes (KHAN et al., 2019; SEWU et al., 2019, WANG et al., 2019). However, studies regarding hormone biosorption by biochar are scarce. In this way we aimed i) to produce a biochar from spent mushrooms substrate and ii) to utilize the biochar in water hormone-contaminated.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

### **2.1 Biochar preparation**

The spent mushroom substrate (SMS) is a mixture of organic materials such as wood sawdust, bagasse, and bran, which is moistened and shaped into blocks for the cultivation of the mushroom. The SMS used in this study was supplied from the commercial company Yuri Cogumelos, located in the city of Sorocaba. The substrate was dried in an oven at 105 °C for 24 hours. Then the samples passed through the knife mill (Marconi® - MA340 Series 0004201) and later through the granulometric sieve; 80 mesh granulometry was used.

For the production of biochar, the pyrolysis process was conducted. Samples were weighed with 3 g of substrate for each of the 15 porcelain crucibles, then placed inside the SP Labor 1200 muffle furnace. At temperatures of 250 and 450°C a longer pyrolysis was performed for 1 hour of residence time

and for the temperature of 600°C the residence time was 20 minutes. The time of 20 minutes was determined based on pilot test ran for 1 hour at 600°C, in which the material was totally converted into ashes, preventing its use, so a shorter time at this temperature was used. After the pyrolysis process, the samples were weighed and stored in a plastic container.

## 2.2 Pilot batch test

In order to identify the biochar with the best hormone removal capacity, a pilot test in batches was run with three collection times: 10, 30 and 60 minutes. A mass of 0.5 g of each coal (made at 250, 450 and 600 °C) was added to 35 mL of EE2 + progesterone solution (1 and 10 mg/L, respectively, prepared in methanol: water 20:80 v/v). These concentrations are purposefully higher than those found environmentally. Analytically, removal efficiency and isotherm need to be run in high concentrations to saturate the aqueous medium and thus bioremediation is capable to be studied.

After each time collection, sample was filtered, and hormones quantifications were performed using the High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique.

## 2.3 Biochar characterization

The surface of the samples was characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM) (Jeol model JSM-IT200A). For a better sample scan, the metallization process was carried out, consisting of a deposition of a fine layer of metal on the sample. X-ray Fluorescence (Malvern Panalytical, model Epsilon1) analysis was performed to quantify and qualify the composition of the material, identifying each chemical element present in the sample.

## 2.4 Zero Charge Point - ZCP

ZCP analysis aims to determine the pH value in which the surface of the adsorbent material is electrically neutral, thus defining whether the adsorption is effective. In the experiment, 11 pH points were used, ranging from 2.0 to 12.0, according to Regalbuto and Tobles (2004). An amount of 20 mg of biochar were added in 20 mL of 0.1 mol/L aqueous NaCl solution, measuring 11 different initial

pH points, adjusted with HCl or NaOH 0.1 mol/L. After 24 hours at 100 rpm agitation and  $25 \pm 2$  °C, the final pH value was measured. ZCP corresponds to the point in which pH value is constant after the sample has reached equilibrium.

### 2.5 Adsorption kinetics

The biochar with the best adsorption result in the pilot test was used to perform the adsorption kinetic. A mass of 0.5 g of biochar was added to 35 mL of the hormone solution (1 mg/L of EE2 and 10 mg/L of progesterone), pH adjusted according to ZCP. Erlenmeyer flasks (n=10) were placed in a shaker incubator (New Technique - model NT 715) for 24 hours, 100 rpm at  $25 \pm 2$  °C. Each Erlenmeyer was a withdrawal time: 10, 20, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 760 and 1440 minutes. All samples were vacuum filtered (Millipore® - Sterifil) with a simple filter to retain the solid part (biochar) of the aqueous medium. Then residual aqueous solutions were stored at 5 °C until HPLC analysis.

### 2.6 Adsorption isotherm

Isotherm relates the amount of substance adsorbed and the equilibrium concentration of a solution at a given constant temperature. An amount of 0.5 g of biochar was added to 35 mL of the hormone solution in five different concentrations: 1.0; 0.8; 0.6; 0.4 and 0.2 mg/L for EE2 and 10, 8, 6, 4, 2 mg/L for progesterone. Samples were shake for 24 hours at  $25 \pm 2$  °C, 100 rpm in the shaker incubator (New Technique - model NT 715). After that, samples were vacuum filtered, and stored at 5 °C until HPLC analysis.

### 2.7 Fixed bed

The fixed bed test was also performed with the biochar that presented the best adsorption result in pilot. A chromatographic column with a porous plate, a teflon tap, a diameter of 20 mm and 22 cm height was used. The column was filled with 2 g of the biochar, as a fixed bed. The EE2 solution (and Progesterone, separately and simultaneously) passed through the column at a flow rate of approximately 3,4 mL/min, at 25 °C. The post-column samples were collected at 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180 and 240 minutes. The aqueous samples were stored at 5 °C until HPLC analysis.

## 2.8 HPLC analysis

The analytical technique of HPLC was applied for the hormone's quantification in batch tests, adsorption kinetic, isotherm and fixed bed. Duplicate analyzes were performed for all tests for greater reliability of results. A C18 reverse-phase column (Thermo Scientific) was used, 125 mm x 4,60 mm, with 5  $\mu$ m particle size. The column was thermostatic at 37°C. Some trials in the flow rate, running time, as well as in the mobile phase concentration were run to validate a simultaneous analysis of the two hormones EE2 and progesterone, based on the methodology of Unruh (2011).

Thus, the chromatographic conditions validated were flow rate 1.6 mL/min, 4 minutes running time, 20  $\mu$ L injection volume, detection at 202 nm, mobile phase composed of 70% acetonitrile standard HPLC (Sigma -Aldrich) and 30% Milli-Q water, in an isocratic system. Analytical curves were performed using the amplitude of the peaks. The concentrations for EE2 were 1.0; 0.5; 0.3; 0.1 and 0.001 mg/L and for progesterone were 10.0; 5.0; 3.0; 1.0 and 0.1 mg/L. The equation of the line (y) and the coefficient of determination ( $R^2$ ) were calculated using Microsoft Excel software. Curve was made in duplicate, and the arithmetic average of the amplitude values were used. The EE2 equation obtained by the least squared regression was  $y = 0.0241x + 0.0002$ , with  $R^2$  0.9903, and progesterone equation was  $y = 0.0016x + 0.0008$ , with  $R^2$  0.9912.

## 2.9 Data analysis

For data analysis the software Microsoft Office Excel and Origin 9.0 were used.

Absorption capacity [q (mg/g)] and removal efficiency (R) are expressed as follows:

$$q = \frac{V(C_0 - C_{eq})}{M} \quad (1)$$

$$R \% = \frac{(C_i - C_{eq})}{C_i} \times 100 \quad (2)$$

Where  $C_i$  and  $C_{eq}$  (mg/L) are the initial and equilibrium concentration of the hormones, respectively; V (L) is the volume of the hormone solution; and M (g) is the mass of biochar.

For the kinetics results, the equations of pseudo-first-order and pseudo-second-order kinetics models were calculated, by the expressions bellow:

$$q_t = q_e [1 - \exp(-k_p t)] \quad (3)$$

$$q_t = \frac{k_s q_e^2 t}{1 + k_s q_e t} \quad (4)$$

In which  $q_t$  (mg/g) is the adsorption capacity at the time  $t$  (min), and  $k_p$  and  $k_s$  ( $\text{min}^{-1}$ ) are the constants of pseudo-first order and pseudo-second order, respectively.

The isotherm results were analyzed by Langmuir, Sips and Redlich-Peterson models, which are expressed as the Equations follows:

$$q_e = \frac{q_{\text{máx}} \cdot k_{\text{ads}} \cdot C_{\text{eq}}}{1 + k_{\text{ads}} \cdot C_{\text{eq}}} \quad (5)$$

$$q_e = \frac{q_{\text{máx}} \cdot K_{\text{LF}} \cdot C_{\text{eq}}^n}{1 + K_{\text{LF}} \cdot C_{\text{eq}}^n} \quad (6)$$

$$q_e = \frac{K_{\text{RP}} \cdot C_{\text{eq}}}{1 + a_{\text{RP}} \cdot C_{\text{eq}}^{\beta_{\text{RP}}}} \quad (7)$$

Where  $q_e$  is the amount of adsorbate retained in the equilibrium,  $q_{\text{máx}}$  (mg/g) is the maximum adsorption capacity of the biochar;  $k_{\text{ads}}$  (L/mg) is the Langmuir constant;  $K_{\text{LF}}$  is the Sips constant;  $n$  is a heterogeneity parameter;  $K_{\text{RP}}$  (L/g) is the Redlich-Peterson equilibrium constant;  $a_{\text{RP}}$  ( $\text{mg/L}$ ) $^{-\beta_{\text{RP}}}$  constant of the model; and  $\beta_{\text{RP}}$  ( $0 < \beta_{\text{RP}} \leq 1$ ) is the dimensionless number

The separation factor ( $R_L$ ) determines the development degree of the adsorption. It is a dimensionless constant that allows checking whether the affinity of the adsorbate is for the solid or liquid phase. The separation factor is expressed Equation 8:

$$R_L = \frac{1}{1 + q_{\text{max}} \cdot K_{\text{LF}}} \quad (8)$$

For fixed bed, the apparent density is a variable that helps to understand the shape of the bed, being the ratio of mass per unit volume of the adsorbent in the bed. Apparent density can be determined by the ASTM (American Society for

Testing and Materials) method D2854. From the apparent density it is possible to determine the apparent volume, which is the volume of particles and then, it is possible to obtain the packing density of the bed and the porosity of the bed, which represents the fraction of voids inside the column filled with the adsorbent ( RAULINO, 2011).

For the apparent density ( $\rho_A$ ), it is necessary to fill a 100 mL beaker, then through the mass volume ratio (Equation 5) the value of  $\rho_A$  is arrived at.

$$\rho_A = \frac{m}{V} \quad (5)$$

Equations 6, 7 and 8 (BARBOSA, 2011) are used to calculate apparent volume ( $V_{AP}$ ), bed packing density ( $\rho_E$ ) and bed porosity ( $\varepsilon$ ).

$$V_{ap} = \frac{ML}{\rho_A} \quad (6)$$

$$\rho_E = \frac{ML}{VL} \quad (7)$$

$$\varepsilon = 1 - \left( \frac{\rho_E}{\rho_A} \right) \quad (8)$$

In which  $m$  (g) is the mass;  $V$  is the volume of the cylinder;  $ML$  is the mass of sorbent material in the column;  $\rho_a$  apparent density;  $VL$  the internal volume of the empty column;  $V_{AP}$  the apparent volume;  $\varepsilon$  the bed porosity; and  $\rho_E$  is the packing density of the bed.

The portion between the exhaustion point and rupture point is called the primary adsorption zone (PAZ), the total time for the PAZ to be established ( $t_x$ ) is given by Equation 9 (GUPTA et al., 1997; 2000; KUNDU; GUPTA, 2005).

$$t_x = \frac{V_x}{F_m} \quad (9)$$

Where  $t_x$  is the total time to establish the MTZ;  $F_m$  the volumetric flow (mL.min<sup>-1</sup>); and  $V_x$  the exhaust volume (mL)

It is also possible to determine the rate of use of the adsorbent, which is given by the mass ratio of the adsorbent in the column and the volume of solution treated at the breaking point, according to Equation 16.

$$\text{Rate of use of the adsorbent} = \frac{ML}{VB} \quad (10)$$

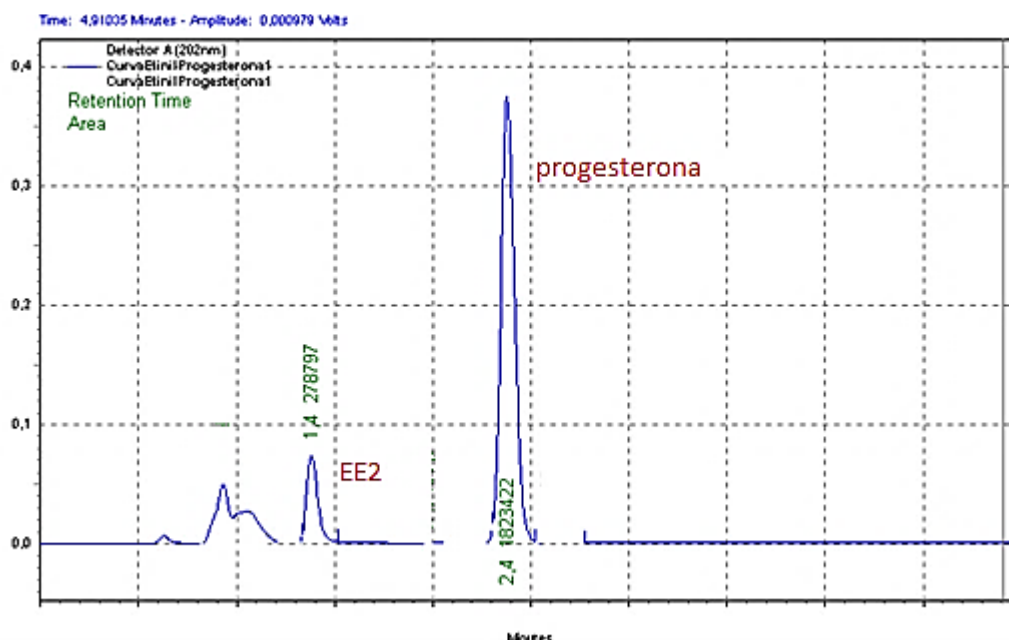
Where  $VB$  is the volume of solution treated at the breaking point (L); and  $ML$  the mass of sorbent material in the column (g).

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1 Chromatogram analysis

A method for simultaneous determination of EE2 and progesterone has been validated and a chromatogram with the retention times of the two hormones is shown in Figure 1. The retention time of EE2 occurred in 1.4 min and for progesterone in 2.4 min, the peak amplitude value was used to perform the analytical calibration curve. In 0.9 minutes, there was a peak, but it does not refer to any of the hormones, since it also appeared in the white sample.

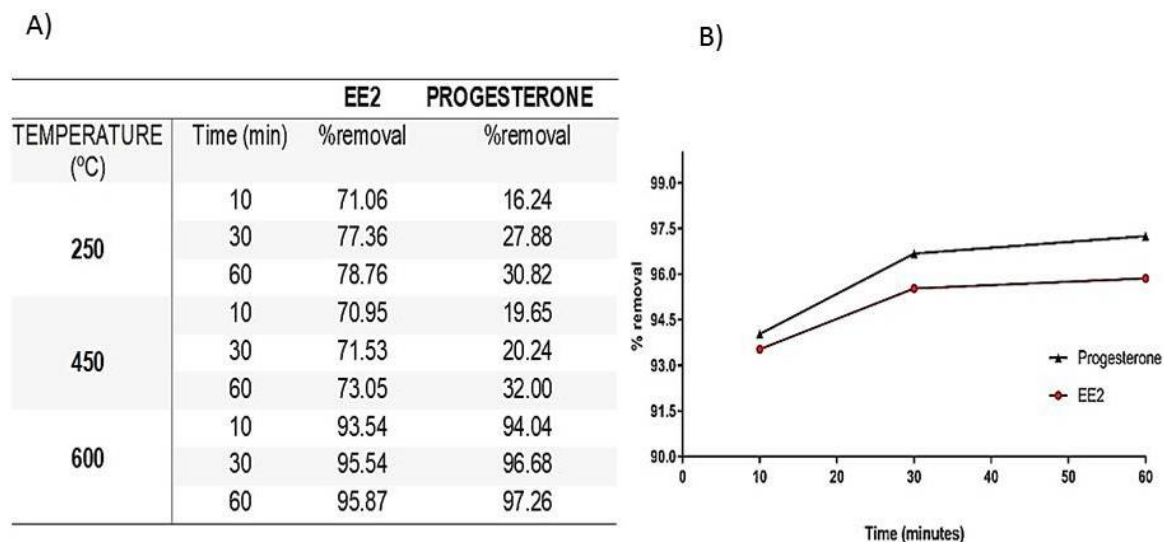
**Figure 1** - Chromatogram of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2), with a retention time of 1.4 minutes, and progesterone, with a retention time of 2.4 minutes.



#### 3.2 Pilot batch test

Figure 3 presents the results of the three biochar with the percentage of removal of contaminants, and the respective graph with the biochar that have the best removal capacity.

**Figure 3** – Comparison of removal capacity in the pilot batch test for the different pyrolysis temperatures of the biochar (A); graph with the best % removal capacity of ethinylestradiol (EE2) and progesterone with the biochar of 600 °C (B).

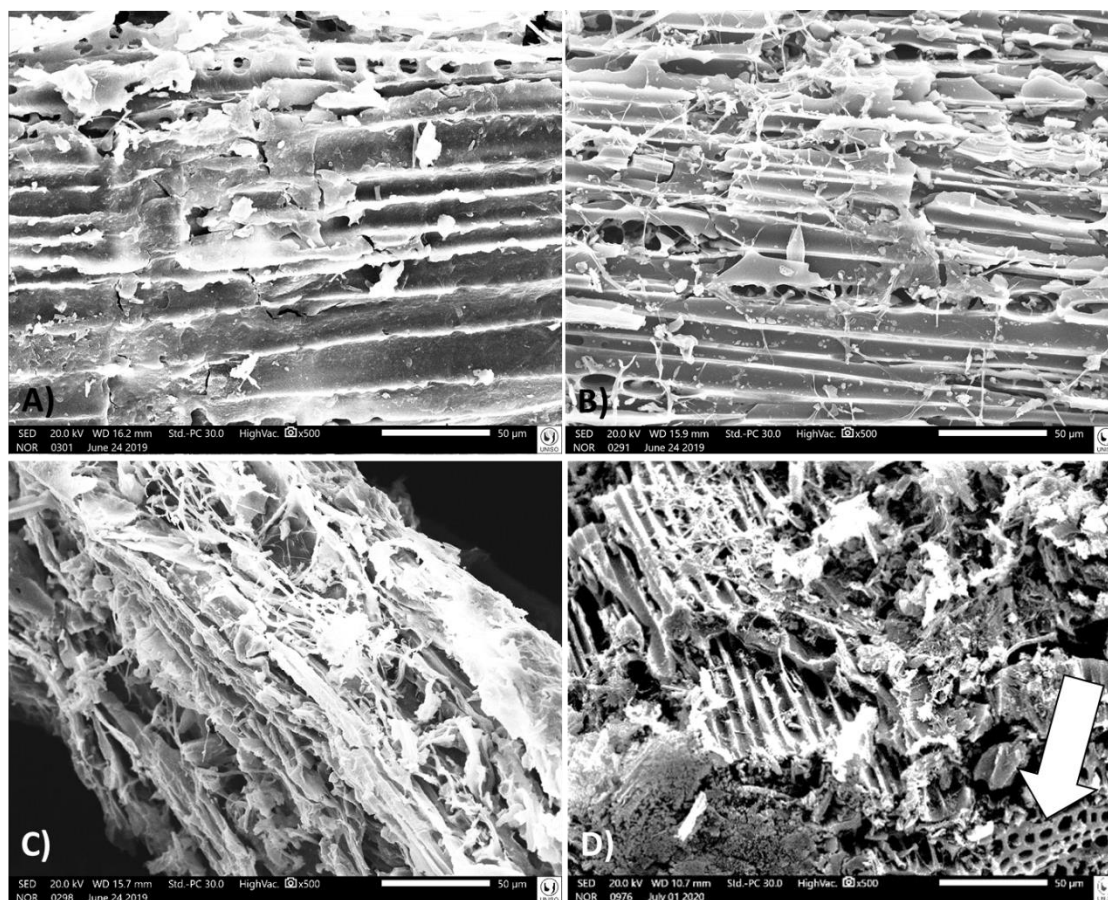


The batch test was an important analysis to optimize further processes. It was observed that the biochar with the best performance in removing both hormones was the one pyrolyzed at 600 °C.

### 3.3 Biochar characterization

Biochar surface characterization was performed by Scanning Electron Microscopy (SEM) as it's showed in Figure 2. The spent mushroom substrate was evaluated before and after the pyrolysis process, to identify the structural changes induced by thermal treatment and how large was the formation of pores and the increase in the surface area.

**Figure 2** - Images of scanning electron microscopy of A) Spent mushroom substrate, before pyrolysis; in B) Biochar of the substrate after pyrolysis at 250 °C; in C) Biochar of the substrate after pyrolysis at 450°C; in D) Biochar of the substrate after pyrolysis at 600 °C. The white arrow shows the blisters reviled.



It is possible to observe that spent mushroom substrate before pyrolysis had a more homogeneous structure, with longitudinally patterned recesses. With the pyrolysis processes, is clearly visualized the break of the mushroom substrate structure, and the unveiling of small tubes at 600 °C, increasing the surface area and consequently improving contaminants removal (INYANG & DICKENSON, 2014). Pores with sizes from 1.5 to 5.0  $\mu\text{m}$  were obtained in the pyrolysis process at 600 °C, compared to the surface substrate before pyrolysis. In the pyrolysis processes at 250 and 450 °C with 1h residence time, proved not to be sufficient to porous formation. At 600 °C with 20 min residence time, the biochar presented a greater formation of pores and recesses. This finding is totally justified by the increasing of the surface area and consequent greater removal of hormones, showed in the results of the pilot batch tests.

The biochar at 600°C had defined and identifiable tubes with different geometry. Also, blisters unveiling was detected both intrinsically (within the pores) and externally on the surface. These blisters can result from incomplete

or non-bursting bubbles generated by the escaping volatiles during the pyrolysis process of the organic material. Broken pieces of this structure can be seen dispersed on the surface of the biochar suggesting the fragile nature (SEWU et al., 2017).

### 3.5 X-ray fluorescence

Table 1 shows the concentration of the chemical elements present in the spent mushroom substrate before and after the pyrolysis process at 600 °C, assessed by X-ray fluorescence. It is possible to observe an increase in the concentrations of many elements due to the process of heating, reducing the organic matrix, and consequently concentrating other chemical elements.

**Table 1** - Concentration of chemical elements in samples of dried spent mushroom substrate (SMS) and biochar after pyrolysis at 600 °C.

| Compound                | SMS (%) | Biochar (%) |
|-------------------------|---------|-------------|
| <b>Organic Material</b> | 96.5    | 79.4        |
| <b>Co</b>               | 0.004   | 0.005       |
| <b>Mg</b>               | 0.355   | 3.368       |
| <b>Al</b>               | 0.002   | 0.151       |
| <b>Si</b>               | 0.390   | 1.286       |
| <b>S</b>                | 0.094   | 0.146       |
| <b>K</b>                | 0.606   | 3.783       |
| <b>Ca</b>               | 0.924   | 5.473       |
| <b>Mn</b>               | 0.050   | 0.275       |
| <b>Fe</b>               | 0.085   | 0.462       |
| <b>Cu</b>               | 0.001   | 0.009       |
| <b>Zn</b>               | 0.008   | 0.046       |
| <b>Rb</b>               | 0.003   | 0.018       |
| <b>Sr</b>               | 0.004   | 0.026       |

The results show the decrease of 17.7% of organic material in the biochar after pyrolysis process. And the compounds Mg, K, Ca, Mn, Si, Al and Fe have been risen with the increase in temperature, as organic material transformed into hydroxides. This fact explains the high pH value in ZCP test. The mineral

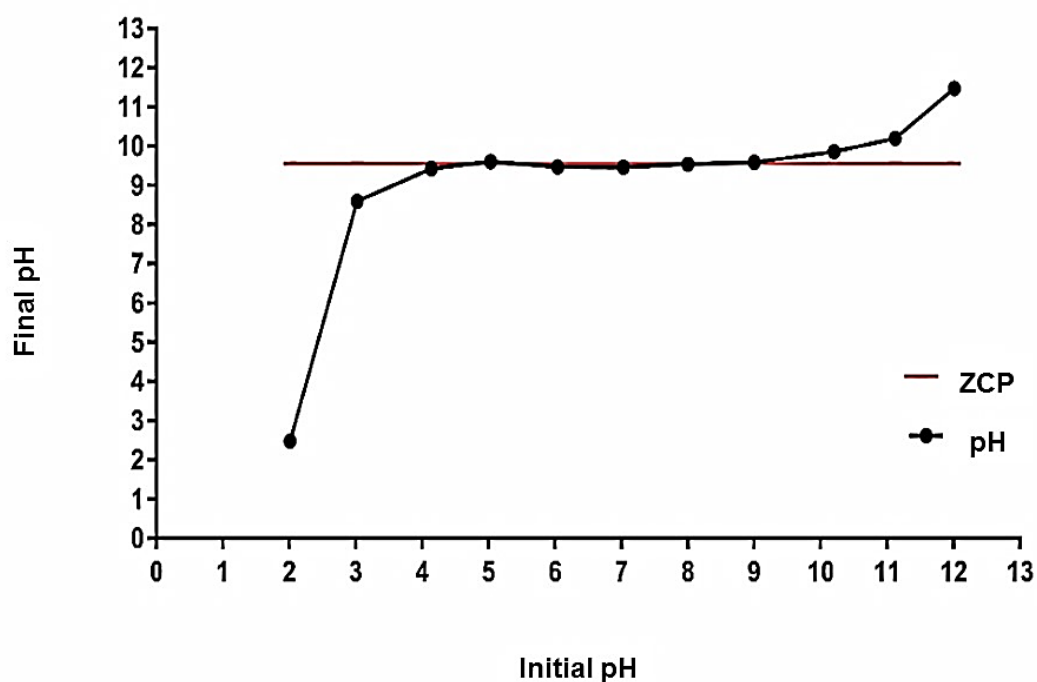
elements concentration, in general, increased because the of loss of organic material during pyrolysis (WANG et al., 2019).

Naturally some of the minerals are present on all types of biomass, and some of the minerals are deposited on the material due to the treatment of the SMS in the process, were the material have being in contact with the stove, the knife mill, the muffle and the crucibles, that previously were used in others tests and could contain residue of Al, Si, Fe and Mg (SHAHIM, 2018).

### 3.4 Zero charge point - ZCP

ZCP was performed with the biochar pyrolyzed at 600 °C. The results are shown in Figure 4. The mean value of ZCP was  $9.56 \pm 0.14$ . Thus, as the most basic pH the best adsorption of contaminants with this characteristic. All solutions were adjusted to pH 9.56. However, for extra-tests, the adsorption capacity was also evaluated without pH adjustment, and the results remained at the same removal percentage for solutions with pH up to 4.3, demonstrating the biochar's robustness.

**Figure 4** - Behavior of pH for the Zero Charge Point test for the biochar pyrolyzed at 600 °C.



Solid material, when in contact with a solution with pH below ZCP value, starts to have a positively charged surface, and thus anions are attracted to balance the positive charges, generating an increase of the solvent affinity, which in many cases is the water. In solutions with a pH higher than ZCP value, the adsorbent surface is negatively charged, thus attracting cations. The difference in charges between the adsorbent and the adsorbent is an important factor for efficient adsorption (GUILARDUCI et al., 2006).

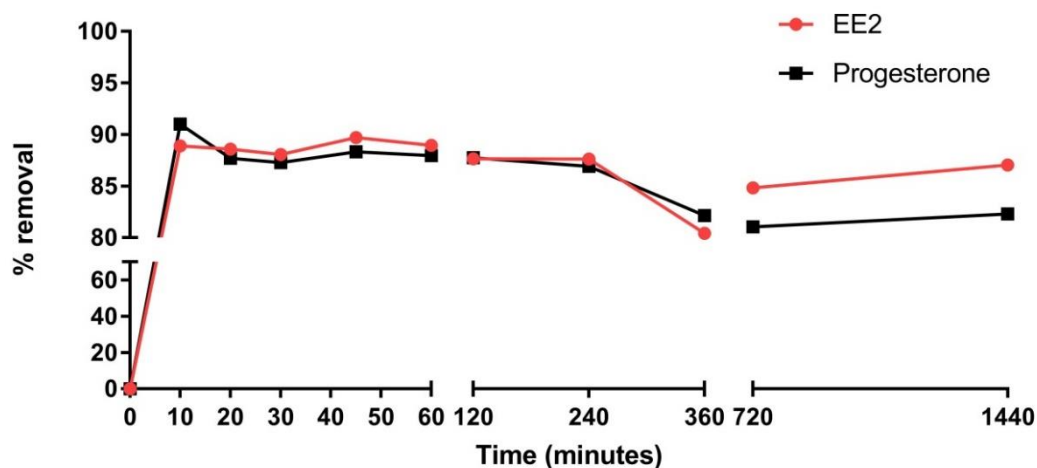
Liu and collaborators (2012) used rice husks to produce biochar to adsorb drugs such as Tetracycline from water. They obtained a ZCP of 8.0, which means the best adsorption in alkaline solutions. Guillarduci et al. (2006) conducted a study with activated carbon for phenol compounds removal. ZCP test helped to conclude pH 10.0 was the one with the best result, due to in high pH values basic groups present on the coal surface are ionized, becoming available for the formation of donor-receptor complexes. Another point for the result of the ZCP was due to not washing the biochar after the pyrolysis process, which may have led to an increase in pH.

### 3.6 Kinetics

Time is an important variable in the analysis once it determines the behavior of the adsorbent at a given concentration of adsorbate (VIDAL et al., 2014). Considering the fixed EE2 and progesterone concentrations of 1.0 and 10 mg/L, respectively, the best time of contact of the adsorbent (biochar) with the solutes is presented in Figure 5.

There was a high removal rate, 89% for EE2 and 91% for progesterone in the first 10 minutes of contact between adsorbent and contaminants. The results show that initially, the adsorbent removes a large part of the contaminants due to its free surface area for adsorption.

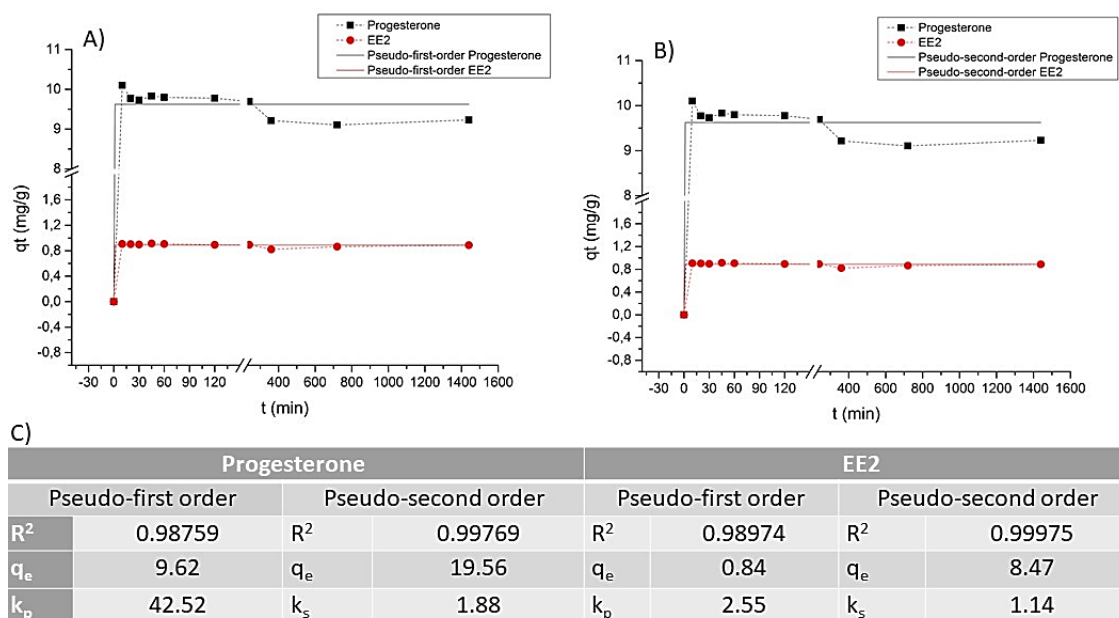
**Figure 5** - Removal efficiency over time of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) and progesterone.



Over time, the removal percentage begins to decline slowly. Generally, the adsorption occurs first on the surface of the material, followed by intraparticle adsorption, which occurs slowly (VIDAL et al., 2014a). In addition, desorption process can occur, that is, the adsorbed contaminant returns to the aqueous medium. From 40 to 240 minutes, in both contaminants, there was linearity in the removal, with removal between 86 and 88%, followed by a drop.

Figure 6 (A and B) shows the kinetic graphs. The pseudo-first order model is based on the supposed that adsorption rate is controlled by the adsorbate diffusion, and the pseudo-second order model relies on the supposed the rate-limiting step is the chemical adsorption step due to surface adsorption interactions (WU et al., 2019). Both EE2 and progesterone adsorption onto biochar showed two distinct phases: a rapid phase over the first 10 minutes and a second slow phase until reaching equilibrium at approximately 12 h.

**Figure 6** – Kinetic adsorption in pseudo-first order (A) and pseudo-second order (B) and experimental data (C) represented by determination coefficient ( $R^2$ ), amount of adsorbate retained in the equilibrium ( $q_e$ ) and constants of pseudo-first and pseudo-second orders ( $k_p$  and  $k_s$ ).

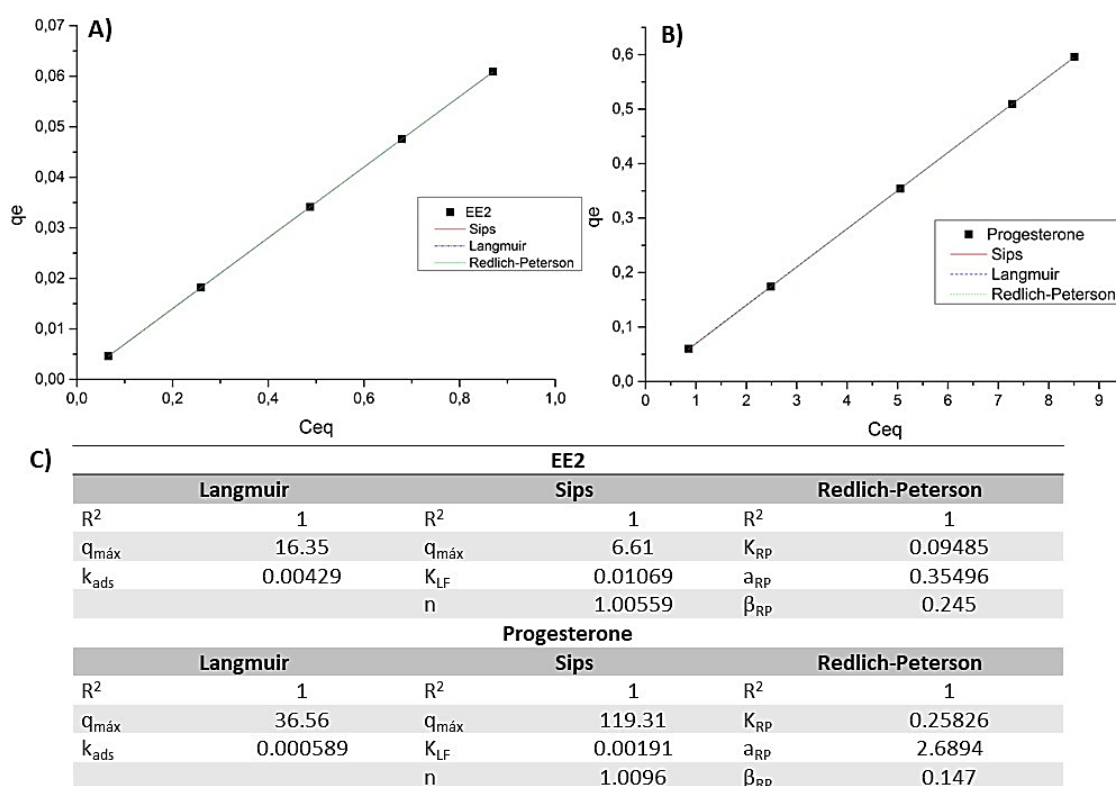


According to the experimental data presented, the pseudo-second order determination coefficients ( $R^2$ ) (0.99769 and 0.99975) were higher than the pseudo-first order ones (0.98759 and 0.98974). That fact indicated the pseudo-second order kinetic model can be considered for both hormones' adsorption and EE2 and progesterone adsorptions can be due to chemisorption, that means the adsorption processes involves chemical binding between the contaminant and the biochar.

### 3.7 Adsorption isotherms

Adsorption isotherms were evaluated to express the distribution or equilibrium ratio of the remaining EE2 and progesterone in the solution and the amount of adsorbate adsorbed by the biochar. In addition, adsorption isotherms reveal information about the maximum capacity of adsorption of the biochar ( $q_{\text{máx}}$ ). The adsorption isotherms following Langmuir, Sips and Redlich-Peterson models for both hormones are showed in Figure 7.

**Figure 7** - Adsorption isotherm of the biochar for A) 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) and B) progesterone. In C) parameters of the isotherms.



The three isotherms models showed an exceptional value for R<sup>2</sup>, and the R<sup>2</sup> was the same for all models. Thus, the parameter maximum absorption capacity (q<sub>máx</sub>) was the one that determined the better model for biochar adsorption capacity. Comparing Langmuir, Sips and Redlich-Peterson models (Figure 7C), EE2 had the best q<sub>máx</sub> in Langmuir isotherm – 16.35 mg of EE2/g biochar. On the other hand, Sips model reached a q<sub>máx</sub> of 119.3 mg progesterone/g biochar, being the best isotherm model. Heterogeneity parameter (n) indicates if the Sips model will reduce to Langmuir equation, if n ≥ 1. So, the result shown in Figure 7 for n was greater than 1, for both hormones, meaning a better fit for the Langmuir isotherm, confirmed by the R<sup>2</sup> value obtained in the Langmuir isotherm.

Comparing to other studies, q<sub>máx</sub> obtained in the Sips model was higher than those reported in literature for other biochar and other contaminants, showed in Table 2 (LOU et al.; 2015, WEI et al., 2018).

**Table 2** – Studies with different biochars for removal organic contaminants

| Biochar           | Contaminant      | $q_{\text{máx}}$ (mg/g) | Reference             |
|-------------------|------------------|-------------------------|-----------------------|
| Bamboo            | Chloramphenico   | 2.1                     | Fan et al., 2010      |
| Rice husk         | Tetracycline     | 58.8                    | Liu et al., 2012      |
| Corn straw        | Atrazine         | 11.6                    | Zhao et al., 2013     |
| Paper mill sludge | Pentachloropheno | 50.0                    | Devi and Saroha, 2015 |

The large surface area of the material makes it a good candidate for the adsorption of several other contaminants.

It is a quite difficult to compare the adsorption capabilities of our biomaterial to other research, due to inconsistency and lack of data. Most of the tests had different adsorption conditions, they were conducted in batch or columns, and mainly different types of adsorbent preparation and contaminants (MOHAN et al., 2014).

Menk and colleagues (2019) evaluated the adsorption capacity of some mushrooms in their natural form (shiitake and champignon), as well as the spent mushroom substrate, for possible use as adsorbers for EE2 and paracetamol drug. The spent mushroom substrate (SMS) presented a  $R^2$  0.97906 for the Sips model and  $q_{\text{máx}}$  0.31 mg EE2/g substrate. At the moment, the use of a biochar from spent mushroom substrate for hormones adsorption has not been reported. And based on the findings reported by Menk et al. (2019), SMS achieved a significant improvement when submitted to pyrolysis, once  $q_{\text{máx}}$  for EE2 was upgraded to 6.61 mg EE2/g biochar. The  $q_{\text{máx}}$  values are related with a surface phenomonal, in which the higher values refer to smaller particles and higher surface area, what makes increasing the adsorption. Adsorption values from biochar at 250 and 450 °C were lower than those founded by Menk et al. (2019), due to there was no effective formation of pores at those temperatures and because the degradation of functional groups, as lignin.

Isotherm classification is given in relation to the values of the separation factor,  $0 < R_L < 1$  is classified as a favorable isotherm,  $R_L > 1$ , means that the solute has more affinity with the liquid phase, and the adsorption is unfavorable.  $R_L = 1$  represents a linear isotherm and  $R_L = 0$  is irreversible (BARROS, 2001). For the Sips isotherms the  $R_L$  factor, calculated using Equation 8, the value obtained was

0.82 for progesterone and 0.93 for EE2, which means that is lower than 1 e higher than 0, classifying the isotherm as favorable.

Peres et al. (2011) reported a  $q_{\text{máx}}$  2.817 mg/g, for an initial concentration of 10 mg/L EE2, using a commercial coal from pine wood. Moreover, in a study with corn straw biochar the adsorption of  $q_{\text{máx}}$   $1,696 \pm 202 \mu\text{g/g}$  of EE2 was found (Guo et al., 2019). Compared to our findings,  $q_{\text{máx}}$  for EE2 in this research is higher than those reported in the literature. Biochar of SMS had the greatest sorption capacity for EE2.

### 3.8 Fixed bed

The apparent density was  $1.23 \text{ g/cm}^3$  was found and an apparent volume of  $2.14 \text{ g/cm}^3$ . The column volume calculates was  $10 \text{ cm}^3$ , a packing density of  $0.26 \text{ g/cm}^3$  and a porosity of 0.97.

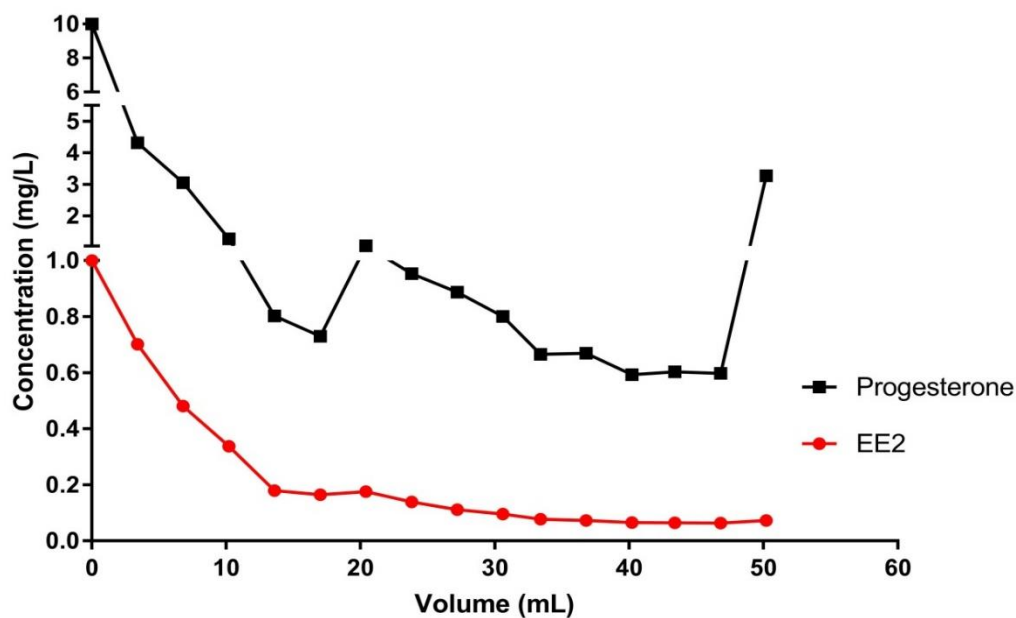
According to Amaral (2009), the fluid tends to move to regions with greater empty space, thus forming the preferred paths. Therefore, it is important to take into account the arrangement of the fiber in the column (spatial arrangement), in order to avoid the occurrence of such paths. Therefore, a higher packing density does not necessarily mean a greater mass transfer since the dead zones (from the preferred paths) increase with the packing density. In a filling column system in which preferential paths are present, it implies a shorter residence time, that is, a less effective interaction between the solid and the hormone (ZANIN, 2009).

Porosity, as well as packing density, are important parameters for studying the behavior of fixed bed process. Packing density characterizes the bed as to the voids between the particles. Thus, when the system has a high packing density and small particles, there is a great loss of pressure, that is, a loss of flow force. In systems with low packing density and small particles, preferential paths are formed, that is, paths that present an easier passage for the eluent (BARBOSA, 2011).

The rupture curve is a data used to describe the contaminant concentration by the volume of treated contaminated solution. In this way, it is possible to identify the breaking point of the process, which means the exhaust volume of the adsorbent (MOREIRA, 2008). The rupture curves for EE2 and progesterone

are shown in Figure 8. The break point was above 50 mL for EE2 and starting at 46.8 mL for progesterone.

**Figure 8** - Breakthrough curves of the pyrolyzed biochar for 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) and progesterone



However, in some cases, the adsorbents have a large adsorption capacity leading to longer times to reach the breakthrough volume and the process exhaustion to the treated volume. For progesterone, the disruption process began to appear within 240 minutes. The total volume for establishment of the mass transfer zone (MTZ), where the final concentration is equal to the initial one, could not be identified in the EE2 graph due to the time being greater than 360 minutes. For progesterone there was a tendency to break at the last point of the curve. The rate of use of the adsorbent for biochar was 40 g/L, which means that a smaller mass of biosorbent is necessary for the process of adsorption of contaminants (RAULINO, 2011).

According to Barbosa (2011), the smaller the MZT, the closer to ideality of process that means the breakthrough curve has the behavior of a step function and, thus, the removal is favorable. Thus, it is estimated that after this time, bed saturation would occur. The primary adsorption zone (PAZ) is the space between the rupture point (the moment when the MZT reaches the end of the column, that

is, the last portion that still exists free space for adsorption to occur) and the point of exhaustion (when all the biosorbent is already saturated). Therefore, the longer the time for the formation of the PAZ, the longer the column will function. However, the calculation of the time establishment for the PAZ can be determinate obtaining a value of 0.056.

#### 4. CONCLUSION

The spent mushroom substrate can be ideal raw material for the preparation of biochar. The large surface area and numerous microporous structures of biochar were beneficial for hormones adsorption. EE2 and progesterone adsorption can be described as chemisorption and monolayer adsorption process.

The mushroom biochar pyrolyzed at 600 °C have a  $q_{max}$  119 mg progesterone/g biochar in the Sips model, and for EE2 the best  $q_{max}$  in Langmuir isotherm was 16.35 mg of EE2/g biochar. Also, the removal capacities for both hormones were high in the first 10 minutes, showing the fast adsorption properties, which are important in water treatment.

#### REFERENCES

- AHMAD, M., LEE, S.S., DOU, X., MOHAN, D., SUNG, J.K., YANG, J.E., OK, Y.S., Effects of pyrolysis temperature on soybean stover-and peanut shell-derived biochar properties and TCE adsorption in water. **Bioresour. Technol.** 118, 536-544. 2012.
- AMARAL, R. A. **Remoção de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>S do gás natural por contactores com membranas.** Dissertação de Pos-Graduação em Engenharia Química na Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009, pp. 104.
- ARIS, Z. A; SHAMSUDDIN, S. A; PRAVEENA, M. S. Occurrence of 17 $\alpha$  ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. **Environment International**, v. 69, p. 104-119, 2014.
- BARBOSA, A. L. S. **Avaliação de um sistema de colunas de leito fixo utilizando xisto retortado e pó da casca do coco para a remoção de arsênio, óleos e graxas de um efluente real.** 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado) em

Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 2011.

BOLONG, N., ISMAIL, A. F., SALIM, M. R.; MATSUURA, T. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. **Desalination**, v. 239, p. 229-246, 2009.

BILA, D. M. & DEZZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, p. 651-666, 2007.

CHEN, X., CHEN, G., CHEN, L., CHEN, Y., LEHMANN, J., MCBRIDE, M.B., HAY, A.G. Adsorption of copper and zinc by biochars produced from pyrolysis of hardwood and corn straw in aqueous solution. **Bioresour. Technol.** 102, 8877–8884. 2011.

CUNHA, D. L.; SILVA, S. M. C.; BILA, D. M.; Oliveira, J. L. M.; Sarcinelli, P. N.; Larentis, A. L. Regulamentação Do Estrogênio Sintético 17 $\alpha$ -Ethinilestradiol em Matrizes Aquáticas na Europa, Estados Unidos e Brasil. **Cad. Saúde Pública** 2016, 32, 1–13. DOI: 10.1590/0102-311X00056715.

CUNHA, T. J. F.; NOVOTNY, E. H.; MADARI, B. E.; BENITES, V. de M.; MARTIN NETO, L.; SANTOS, G. de A. O carvão pirogênico. **Embrapa Semiárido**. 2010. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/889019>

DEVI, P., SAROHA, A.K., 2014. Synthesis of the magnetic biochar composites for use as an adsorbent for the removal of pentachlorophenol from the effluent. **Bioresource Technology** 169, 525-531.

European Commission (2019) Effects of endocrine disruptors. [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/definitions/affect\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/definitions/affect_en.htm). Acessado em 1 de Agosto 2020.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 1, p. 2–10, 2010.

FAN, Y., WANG, B., YUAN, S., WU, X., CHEN, J., WANG, L., 2010. Adsorptive removal of chloramphenicol from wastewater by NaOH modified bamboo charcoal. **Bioresource Technology** 101, 7661-7664.

FRANÇA, J. F., PICKLER, T. B., JOZALA, A. F., SANTOS, C. A., BATISTA, B. L., PEDRON T., VIEIRA, R. A. L., GROTO, D. Determination of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and toxic metals in surface waters, and estimation of daily intake. **Environ. Monit. Assess.** 192: 21, 2020.

GHISELLI G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de campinas: Ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 27 de setembro de 2006.

GUILARDUCI, V. V. S. et al. Adsorção de fenol sobre carvão ativado em meio alcalino. **Química Nova**, v. 29, p. 1226-1232, 2006.

HAVENS, A. M.; HEDMAN, C. J.; HEMMING, J. D. C.; MIERITZ, M. G.; SHAFER, M. M.; SCHAUER, J. J. Occurrence of estrogens, androgens and progestogens and estrogenic activity in surface water runoff from beef and dairy manure amended crop fields. **Science of the Total Environment**. 2019.

HU, X., DING, Z., ZIMMERMAN, A. R., WANG, S., & GAO, B. (2014). Batch and column sorption of arsenic onto iron-impregnated biochar synthesized through hydrolysis. **Water Research**, 68, 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.009>

INYANG, M.; DICKENSON, E.; The potential role of biochar in the removal of organic and microbial contaminants from potable and reuse water; A review. **Chemosphere** v. 134 p. 232-240, 2015.

KABIR, E. R., RAHMAN, M. S., RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v.40 , p .241–258. 2015.

KHANI, ALI M., AFTAB M., SHAKIR S., QAYYUM S., HALEEM K. S., TAUSEEF I. Mycoremediation: a treatment for heavy metal-polluted soil using indigenous metallatolerant fungi. **Environ Monit Assess**. 2019, 191:622. DOI: 10.1007/s10661-019-7781-9.

LAURETTA R, SANSONE A, SANSONE M, ROMANELLI F AND APPETECCHIA M. (2019) Endocrine Disrupting Chemicals: Effects on Endocrine Glands. **Front. Endocrinol**. 10:178.doi: 10.3389/fendo.2019.00178

LI C, WEI Y, ZHANG S, TAN W (2020a) Advanced methods to analyze steroid estrogens in environmental samples. **Environ Chem Lett**. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00961-2>

LIMA, D. R. S.; TONUCCI, M. C.; LIBÂNIO, M.; AQUINO, S. F. Fármacos e desreguladores endócrino em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Eng. Sanit Ambiental**, v.22 n.6, p. 1043-1054, 2017.

LIU, P., LIU, W.J., JIANG, H., CHEN, J.J., LI, W.W., YU, H.Q., 2012. Modification of bio-char derived from fast pyrolysis of biomass and its application in removal of tetracycline from aqueous solution. **Bioresource Technology** 121, 235-240.

LUO L., XU C., CHEN Z., ZHANG S. (2015). Properties of biomass-derived biochars: Combined effects of operating conditions and biomass types, **Bioresource Technology**, 192: 83-89

MACHADO, K.S., CARDOSO, F. D., AZEVEDO, J. C. R., BRAGA, C. B. (2014). Occurrence of female sexual hormones in the Iguazu river basin, Curitiba, Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum Technology**, v.36, p.421-427.

MENK, J. J. **Biossorção de medicamentos por cogumelos**. Dissertação de mestrado. Universidade de Sorocaba, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Sorocaba. 2019

MOHAN, D. et al. Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent - A critical review. **Bioresource Technology**, v. 160, p. 191–202, 2014.

MOREIRA, D. S., AQUINO, S. F., AFONSO, R. J. C. F., SANTOS, E. P. C. C., PÁDUA, V. L. **Ocorrência de estradiol, etinilestradiol e nonilfenol em mananciais da Região Metropolitana de Belo Horizonte**. Anais do 25º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2009.

MOREIRA, S. A. **Adsorção de íons metálicos de efluente aquoso usando bagaço de pedúnculo de caju: estudo de batelada e coluna de leito fixo**. 2008. 133 f. Dissertação de pós graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2008.

PRAVEENA, S. M.; Lui, T. S.; Hamin, N. A.; Razak, S. Q. N. A.; Aris, A. Z. Occurrence of Selected Estrogenic Compounds and Estrogenic Activity in Surface Water and Sediment of Langat River (Malaysia). **Environ. Monit. Assess** 2016, 188, 442. DOI: 10.1007/s10661-016-5438-5.

PIMENTEL M. F., DAMASCENO E. P., JIMENEZ P. C., ARAÚJO P. F. R., BEZERRA M. F., MORAIS P. C. V., CAVALCANTE R. M., LOUREIRO S., LOTUFO L. V. (2016). Endocrine disruption in *Sphoeroides testudineus* tissues and sediments highlights contamination in a northeastern Brazilian estuary. **Environmetal Monitoring Assessment**, <https://doi.org/10.1007/s1066101653009>

PROCÓPIO, A. M. S. **Avaliação da eficiência de remoção do hormônio 17  $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) em águas utilizando como biossorvente um resíduo agroindustrial**. Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Itajubá/MG, 2017.

RAULINO, G. S. C. **Sistema piloto de adsorção de íons de metais em coluna (leito fixo) utilizando como adsorvente o pó da casca de coco verde**. 2011. 110 f. Dissertação (Pós-graduação) em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza 2011.

REGALBUTO, J. R.; ROBLES, J. O. **The Engineering of Pt/Carbon Catalyst Preparation**. Chicago: University of Illinois: 14 p. p. 2004.

ROGERS JA, METZ L, WEE YONG V (2013) Review: endocrine disrupting chemicals and immune responses: a focus on bisphenol- A and its potential mechanisms. **Mol Immunol** 53:421–430. doi:10.1016/j.molimm.2012.09.013

ROSALES, E., MEIJIDE, J., PAZOS, M., SANROMAN, M.A., 2017. Challenges and recent advances in biochar as low-cost biosorbent: from batch assays to continuous-flow systems. **Bioresour. Technol.** 246, 176e192.

SEWU, D.D., BOAKYE, P., JUNG, H., WOO, S.H., Synergistic dye adsorption by biochar from co-pyrolysis of spent mushroom substrate and *Saccharina japonica*. **Bioresource Technology** (2017), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.103>

SEWU, D. D.; JUNG, H.; KIM, S. S.; LEE, D. S.; WOO, S. H. Decolorization of cationic and anionic dye-laden wastewater by steam-activated biochar produced at an industrial-scale from spent mushroom substrate. **Bioresource Technology**, v.277, p.77-86, 2019.

SHAHIN, F. **Removal of Heavy metals and Hormones from Wastewater Using Rice husk and Rice straw Biochar Packed Columns**. The University of Guelph. Environmental Engineering. Guelph, Ontario, Canada. 2018

SHEN, Y.S., WANG, S.L., TZOU, Y.M., YAN, Y.Y., KUAN, W.H. Removal of hexavalent Cr by coconut coir and derived chars—the effect of surface functionality. **Bioresour. Technol.** 104, 165–172. 2012.

TAN, X.; LIU, Y.; ZENG, G.; HU, X.; GU, Y.; YANG, Z. Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions. **Chemosphere**, 2014.

TORRES, N. H., AGUIAR, M. M., FERREIRA, L. F., AMÉRICO, J. H., MACHADO, A. M., CAVALCANTI, E. B., TORNISIELO V. L. (2015). Detection of hormones in surface and drinking water in Brazil by LC-ESI-MS/MS and ecotoxicological assessment with *Daphnia magna*. **Environmental Monitoring Assessment**, <https://doi.org/10.1007/s106610154626z>

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.

VIDAL, C. B. et al. Cinética de adsorção. In: (Ed.). **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará, p.51-65, 2014a.

VIEIRA, W. T., FARLAS M, B, SPAOLONZI, M. P., SILVA M. G. C., VIEIRA, M. G. A. Removal of endocrine disruptors in water by adsorption, membrane filtration and biodegradation. A review. **Environmental Chemistry Letters** <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01000-1>. 2020.

WANG X., LI X., LIU G., HE Y., COHEN C., LIU X., LI G., GU Y., ZHAO Y. Mixed heavy metals removal from wastewater by discarded mushroom-stick biochar: adsorption properties and mechanisms. **Environ. Sci.: Processes Impacts**, 2019, DOI:10.1039/C8EM00457A

WEI, D., LI, B., HUANG, H., LUO, L., ZHANG, J., YANG, Y., GUO, J., TANG, L., ZENG, G., ZHOU, Y., Biochar-based functional materials in the purification of agricultural wastewater: Fabrication, application and future research needs, **Chemosphere** (2018), doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.193.

WHO, World Health Organization. Possible Developmental Early Effects of Endocrine Disrupters on Child Health; **Public Health & Environment Department (PHE), Health Security & Environment Cluster (HSE)**: Geneva, Switzerland, pp 1–93, 2012.

WHO, World Health Organization. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012; **United Nations Environment Programme and World Health Organization**: Geneva, Switzerland; pp 1–289, 2012.

YAO, Y., GAO, B., CHEN, H., JIANG, L., INYANG, M., ZIMMERMAN, A.R., CAO, X., YANG, L., XUE, Y., LI, H. Adsorption of sulfamethoxazole on biochar and its impact on reclaimed water irrigation. **J. Hazard. Mater.** 209, 408–413. 2012.

ZANIN, C. I. C. B.; FIGUEIREDO, F. C. A. Remoção de chumbo (II) em sistemas contínuos por carvão ativado com vapor. **Química Nova**, Santo André – SP, v.32, n.9, p. 2318-2322, novembro 2009.

ZHAO, X., OUYANG, W., HAO, F., LIN, C., WANG, F., HAN, S., GENG, X., 2013. Properties comparison of biochars from corn straw with different pretreatment and sorption behaviour of atrazine. **Bioresource Technology** 147, 338-344.

ZHOU, N., CHEN, H., XI, J., YAO, D., ZHOU, Z., TIAN, Y., & LU, X. (2017). Biochars with excellent Pb (II) adsorption property produced from fresh and dehydrated banana peels via hydrothermal carbonization. **Bioresource Technology**, 232, 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.074>

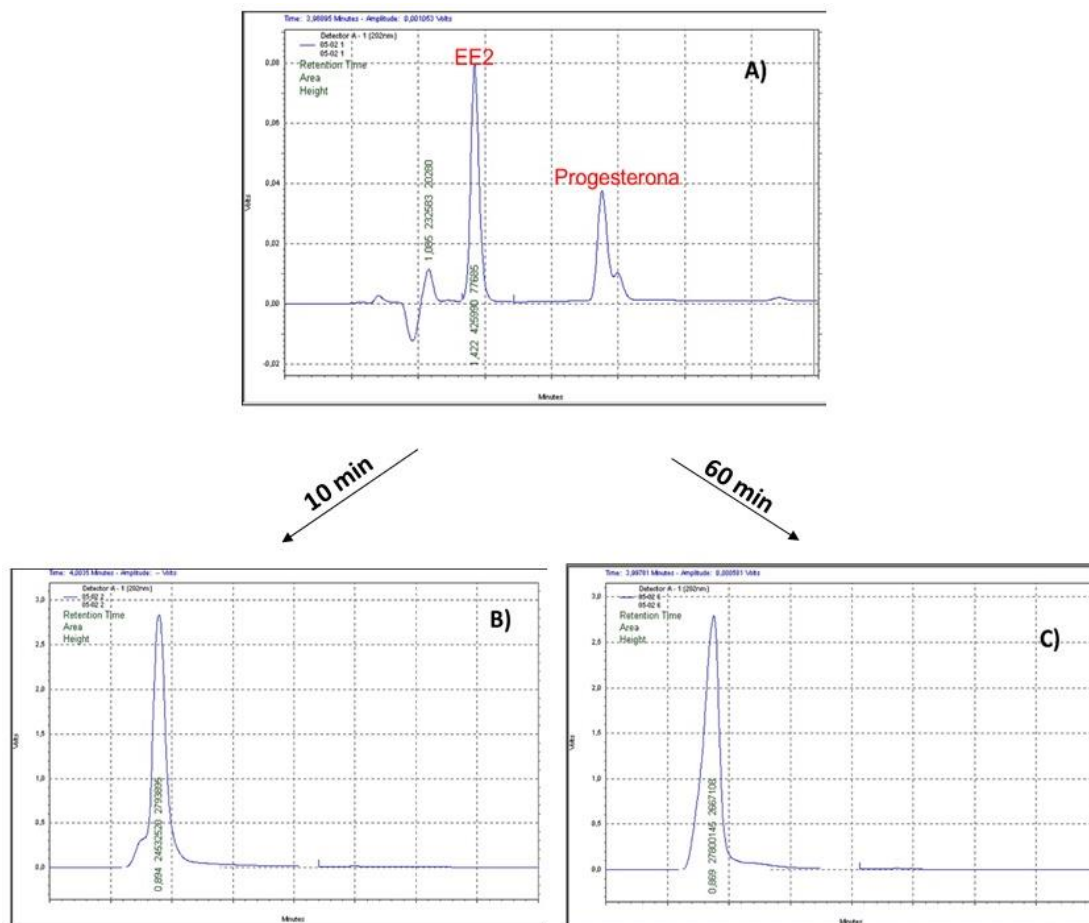
## 5.2 Protótipo do filtro com biocarvão de substrato

Um efluente de laboratório real, usando os descartes das soluções de EE2 e progesterona durante a pesquisa, foi usado para avaliar o protótipo do filtro com biocarvão. A solução contaminada com hormônios passou pelo filtro, e alíquotas foram coletadas ao longo do tempo. As coletas foram realizadas por 1 hora, devido a vazamentos na coluna após este tempo, pelo aumento da pressão dentro do leito fixo. Seis amostras foram coletadas, nos primeiros 30 segundos, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos, após a saída do efluente da coluna. As amostras foram analisadas em HPLC para medir a concentração de hormônios EE2 e progesterona.

O efluente do laboratório continha 3,29 mg/L de EE2 e 22,95 mg/L de progesterona. Depois de passados pelo filtro, os cromatogramas não apresentaram picos relacionados ao tempo de retenção dos hormônios, como mostra a figura 17.

Isso ocorreu devido à sensibilidade do equipamento, sugerindo concentrações menores que 1,0 µg/L para EE2 e menores que 100 µg/L para progesterona, com base na curva de calibração. Esse foi um achado importante, justificado pelas concentrações extremamente baixas que permaneceram nas amostras de água após a filtração, indicando que o filtro tinha grande capacidade de remoção dos hormônios. Porém, por se tratar de um protótipo de teste, não é possível confirmar a eficiência do filtro para vazões superiores às utilizadas no teste. Mesmo assim, o filtro é um modelo promissor para melhoria do tratamento de água.

Figura 17. Cromatograma das amostras de efluente contaminado com horônios. Em A) efluente antes de passar pelo filtro; B) efluente coletado 10 min depois de passar pelo filtro; C) efluente coletado 60 min depois de passar pelo filtro de biocarvão.



Fonte: Elaboração própria

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de resíduos orgânicos para a produção de materiais adsorventes se tornou uma alternativa sustentável para a remoção de contaminantes do meio ambiente. Neste estudo, o substrato pós-cultivo de cogumelo foi uma matéria-prima excelente para a preparação do biocarvão pela grande área de superfície e numerosas estruturas microporosas.

O biocarvão obtido na temperatura de 600°C foi o que apresentou os melhores resultados quanto ao percentual de remoção dos hormônios, sendo que a maior remoção foi nos primeiros 10 minutos de análise no processo piloto batelada. Já para a coluna, depois de 4 horas de teste o biocarvão apresentava ainda grande capacidade de adsorção, devido à baixa saturação do leito.

A temperatura da pirólise desempenhou um papel muito importante na composição física e química do biocarvão. Em temperaturas mais altas, a matéria orgânica, volátil e os grupos funcionais diminuem, enquanto o conteúdo de carbono pirogênico, ou seja, o carbono inerte da matéria orgânica como o grafite e a fuligem, esses aumentam durante a pirólise. Foi observado também que a área de superfície do biocarvão aumentou devido à rápida volatilização dos materiais, conseqüentemente aumentando o número de poros. A perda de grupos funcionais leva a um aumento no valor de pH total do biocarvão o que foi observado no teste de PCZ.

Na análise de Microscopia eletrônica de varredura foi possível identificar o aumento na superfície, em relação ao aumento da temperatura de pirólise, assim levando a um aumento na capacidade de adsorção do biocarvão.

As cinéticas e isotermas se adequaram aos dados obtidos no teste piloto batelada, sendo que alguns modelos com melhores ajustes como a cinética de pseudo-segunda-ordem e uma capacidade máxima de adsorção de 119 mg de progesterona/g de biochar no modelo Sips e de 16,35 mg de EE2/ g de biochar no modelo Langmuir, sendo que adsorção dos hormônios pode ser descrita como quimiossorção e processo de adsorção em monocamada.

O protótipo do filtro apresentou uma grande capacidade de adsorção para uma solução contaminada com os hormônios EE2 e progesterona, podendo ser aplicado, com mais estudos, no processo de tratamento de água.

No geral, o biocarvão do substrato de cogumelo é um adsorvente eficaz, podendo ser considerado um produto sustentável e de baixo custo de produção, pelo fato de utilizar um resíduo orgânico da fungicultura em um processo contínuo de tratamento de água.

Mais estudos e testes ainda são necessários para tornar o filtro uma ferramenta aplicável no tratamento de água, já que novos produtos requerem testes específicos para a obtenção de certificação. Testes para outros contaminantes também são necessários, assim como determinar o volume de efluente máximo para o ponto de exaustão do filtro.

## REFERÊNCIAS

ABDELHAFEZ, A. A.; LI, J. Removal of Pb(II) from aqueous solution by using biochars derived from sugar cane bagasse and orange peel. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 61, p. 367–375, 2016.

AHMAD, M. *et al.* Effects of pyrolysis temperature on soybean stover-and peanut shell-derived biocharproperties and TCE adsorption in water. **Bioresour.Technol.** 118, 536 544. 2012.

AMARAL, R. A. **Remoção de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>S do gás natural por contactores com membranas.** Dissertação de Pos-Graduação em Engenharia Química na Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009, pp. 104.

AQUINO, S.F. *et al.* **Destino e mecanismos de remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto.** Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 18, p. 5-9, 2013.

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

BARBOSA, A. L. S. **Avaliação de um sistema de colunas de leito fixo utilizando xisto retortado e pó da casca do coco para a remoção de arsênio, óleos e graxas de um efluente real.** 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado) em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 2011.

BERGMAN, Å. *et al.* State of the science of endocrine disrupting chemicals. Suíça: United Nations Environment Programme and the **World Health Organization**. 260p. 2012.

BOLONG, N., *et al.* A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. **Desalination**, v. 239, p. 229-246, 2009.

BIEKETT, J.W., LESTER, J.N. – Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes, **Lewis Publishers**, London, 2003.

BILA, D. M. & DEZZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, p. 651-666, 2007.

BOTTONI, P.; CAROLI, S.; CARACCILO, A.B. Pharmaceuticals as priority water contaminants. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 92, n. 3, p. 549-565, 2010.

BRASIL. (2011b) Ministério da Saúde. Portaria n.º 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Normas e padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano**. Brasília.

CHEN, X., *et al.* Adsorption of copper and zinc by biochars produced from pyrolysis of hardwood and corn straw in aqueous solution. **Bioresour. Technol.** 102, 8877–8884. 2011.

CHOI, K.J., *et al.* Removal efficiencies of endocrine disrupting chemicals by coagulation/flocculation, ozonation, powdered/granular activated carbon adsorption, and chlorination. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 3, p. 399-408, 2006.

CUNHA, D. L., *et al.* Regulamentação Do Estrogênio Sintético 17a-Etinilestradiol em Matrizes Aquáticas na Europa, Estados Unidos e Brasil. **Cad. Saúde Pública** 2016, 32, 1–13. DOI: 10.1590/0102-311X00056715.

CUNHA, T. J. F., *et al.* O carvão pirogênico. **Embrapa Semiárido**. 2010. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/889019>

DIAS, E. S. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciênc,Agrotec.**, Lavras, v.34, n.4, p.795-803, 2010.

DINIZ, F. Cogumelos comestíveis: Embrapa impulsiona Mercado no Distrito Federal. 2008. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_1/Cogumelos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/Cogumelos/index.htm)

DUARTE, P. A. F. **Novos poluentes. Principais impates de compostos desreguladores endócrinos na saúde pública. Universidade de Lisboa. Faculdade de Ciências e Tecnologia.** Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente. Lisboa, 2008.

European Commission. Effects of endocrine disruptors. 2019. Disponível em <https://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/definitions/affecten.html> Acesso em: 1 de ago. 2020.

European Parliament Committees (2019) Endocrine disruptors: from scientific evidence to human health protection. Disponível em: <https://www.europarl.europa.eu/committees/en/supporting-analyses-search.html>. Acesso em: 1 ago. 2020.

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

FREUNDLICH, F. M. H. Over the Adsorption in Solution. **The Journal of Physics Chemistry**, v. 57, p. 385-471, 1906.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 1, p. 2–10, 2010.

GHISELLI G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de campinas: Ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 27 de setembro de 2006.

GUILARDUCI, V. V. S. et al. Adsorção de fenol sobre carvão ativado em meio alcalino. **Química Nova**, v. 29, p. 1226-1232, 2006.

HADIBARATA T, KRISTANTI RA, MAHMOUD AH. Occurrence of endocrine-disrupting chemicals (EDCs) in river water and sediment of the Mahakam River. **J Water Health**, v.18, p. 38–47, 2019. <https://doi.org/10.2166/wh.2019.100>

HAVENS, A. M., *et al.* Occurrence of estrogens, androgens and progestogens and estrogenic activity in surface water runoff from beef and dairy manure amended crop fields. **Science of the Total Environment**. 2019.

HU, X., DING, Z., ZIMMERMAN, A. R., WANG, S., & GAO, B. Batch and column sorption of arsenic onto iron-impregnated biochar synthesized through hydrolysis. **Water Research**, v. 68, p. 206–216, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.009>

INYANG, M.; DICKENSON, E.; The potential role of biochar in the removal of organic and microbial contaminants from potable and reuse water; A review. **Chemosphere** v. 134 p. 232-240, 2015.

KABIR, E. R., RAHMAN, M. S., RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v.40, p. 241–258. 2015.

KHAN I., *et al.* Mycoremediation: a treatment for heavy metal-polluted soil using indigenous metallatolerant fungi. **Environ Monit Assess**, v. 191, p.622. 2019. DOI: 10.1007/s10661-019-7781-9.

LAURETTA R, SANSONE A, SANSONE M, ROMANELLI F AND APPETECCHIA M. (2019) Endocrine Disrupting Chemicals: Effects on Endocrine Glands. **Front. Endocrinol**. 10:178.doi: 10.3389/fendo.2019.00178

LEUSCH, F. D. L.; Neale, P. A.; Arnal, C.; Aneck-Hahn, N. H.; Balaguer, P.; Bruchet, A.; Escher, B. I.; Esperanza, M.; Grimaldi, M.; Leroy, G.; et al. Analysis of Endocrine Activity in Drinking Water, Surface Water and Treated Wastewater from Six Countries. **Water Res**, v. 139, p. 10–18. 2018. DOI: 10.1016/j.watres.2018.03.056.

LI, C., *et al.* Advanced methods to analyze steroid estrogens in environmental samples. **Environ Chem Lett**, v. 18, p. 543–559, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00961-2>. Acesso em 03 nov. 2020.

LIMA, D. R. S., *et al.* Fármacos e desreguladores endócrino em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Eng. Sanit Ambiental**, v. 22 n.6, p. 1043-1054, 2017.

LUO, L., *et al.* Properties of biomass-derived biochars: Combined effects of operating conditions and biomass types, **Bioresource Technology**, v. 192, p. 83-89, 2015.

MENK, J. J. **Biossorção de medicamentos por cogumelos**. Dissertação de mestrado. Universidade de Sorocaba, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Sorocaba. 2019

MOHAN, D. *et al.* Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar, a renewable, low cost and sustainable adsorbent - A critical review. **Bioresource Technology**, v. 160, p. 191–202, 2014.

MOREIRA, D. S., *et al.* **Ocorrência de estradiol, etinilestradiol e nonilfenol em mananciais da Região Metropolitana de Belo Horizonte**. Anais do 25º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2009.

MOREIRA, S. A. **Adsorção de íons metálicos de efluente aquoso usando bagaço de pedúnculo de caju: estudo de batelada e coluna de leito fixo**. 2008. 133 f. Dissertação de pós graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2008.

MOLINA, P. E. Fisiologia Endócrina, ed. 4, **AMGH editora**, p.15-50. 2014.

OLADIPO A.A., IFEBAJO A.O., VAZIRI R. Green Adsorbents for Removal of Antibiotics, Pesticides and Endocrine Disruptors. In: Crini G., Lichtfouse E. (eds) Green Adsorbents for Pollutant Removal. Environmental Chemistry for a Sustainable World, **Springer, Cham**, v. 19, p. 327-351, 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-92162-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-92162-4_10). Acesso em: 10 set. 2019.

OTOMO, J. I. **Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica Para Determinação de Hormônios, Considerados Disruptores Endócrinos, Nas Águas Destinadas ao Abastecimento Público na Região Do Rio Paraíba Do Sul, SP**. Dissertação. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2010.

PERES, M. R. **Remoção dos interferentes endócrinos 17 $\alpha$ -etinilestradiol, 17 $\beta$ -estradiol e 4-nonilfenol por adsorção em carvão ativado em pó em água de abastecimento público**. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. Campinas, 2011.

ESTADO de São Paulo é o maior produtor de cogumelo do país. **Portal do Governo**, 2019. Disponível em: < <https://www.saopaulo.sp.gov.br/sala-de-imprensa/release/estado-de-sao-paulo-e-o-maior-produtor-de-cogumelos-do-pais/#:~:text=Atualmente%2C%20505%20produtores%20distribu%C3%ADdos>

%20em,toneladas%20de%20cogumelos%20por%20ano.> Acesso em: 07 de fev. de 2021.

PRAVEENA, S. M., *et al.* Occurrence of Selected Estrogenic Compounds and Estrogenic Activity in Surface Water and Sediment of Langat River (Malaysia). **Environ. Monit. Assess**, v. 188, p. 442, 2016. DOI: 10.1007/s10661-016-5438-5.

PROCÓPIO, A. M. S. **Avaliação da eficiência de remoção do hormônio 17  $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) em águas utilizando como biossorvente um resíduo agroindustrial.** Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Itajubá/MG, 2017.

QIAN, L., CHEN, B. Dual role of biochars as adsorbents for aluminum: the effects of oxygen-containing organic components and the scattering of silicate particles. **Environ. Sci. Technol**, v. 47, p. 8759–8768, 2013.

RAULINO, G. S. C. **Sistema piloto de adsorção de íons de metais em coluna (leito fixo) utilizando como adsorvente o pó da casca de coco verde.** 2011. 110 f. Dissertação (Pós-graduação) em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza 2011.

REGALBUTO, J. R.; ROBLES, J. O. **The Engineering of Pt/Carbon Catalyst Preparation.** Chicago: University of Illinois, p.14, 2004.

ROGERS JA, METZ L, WEE YONG V. Review: endocrine disrupting chemicals and immune responses: a focus on bisphenol- A and its potential mechanisms. **Mol Immunol**, v. 53, p. 421–430, 2013. doi:10.1016/j.molimm.2012.09.013

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

SANTOS, D.; MATOS, M.; COIMBRA, A. M. Developmental toxicity of endocrine disruptors in early life stages of zebrafish, a genetic and embryogenesis study. **Neuro toxicology and Teratology**, v. 46, p.18-25, 2014.

SCHMID, S., *et al.* Effects of new generation progestins, including as mixtures and in combination with other classes of steroid hormones, on zebrafish early life stages. **Science of the Total Environment**, v. 709, p. 136, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136262>. Acesso em: 11 jul. 2020.

SEWU, D.D., *et al.* Synergistic dye adsorption by biochar from co-pyrolysis of spent mushroom substrate and *Saccharina japonica*. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1142-1149, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.103>

SEWU, D. D., *et al.* Decolorization of cationic and anionic dye-laden wastewater by steam-activated biochar produced at an industrial-scale from spent mushroom substrate. **Bioresource Technology**, v. 277, p. 77-86, 2019.

SHAHIN, F. **Removal of Heavy metals and Hormones from Wastewater Using Rice husk and Rice straw Biochar Packed Columns**. The University of Guelph. Environmental Engineering. Guelph, Ontario, Canada. 2018

SHEN, Y.S., *et al.* Removal of hexavalent Cr by coconut coir and derived chars—the effect of surface functionality. **Bioresour. Technol.** v. 104, p. 165–172. 2012.

SKARIYACHAN S., *et al.* Environmental assessment of the degradation potential of mushroom fruit bodies of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. towards synthetic azo dyes and contaminating effluents collected from textile industries in Karnataka, India. **Environ Monit**, v. 188, p. 121, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5125-6>

SOCCOL, C. R.; VÍTOLA, F. M. D.; RUBEL, R.; *et al.* Cogumelos: uma fonte promissora de compostos ativos para o desenvolvimento de bioprodutos farmacêuticos e nutracêuticos. **Biotecnologia Aplicada à Agro e Indústria Fundamentos e Aplicações**. v. 4, p. 315-360, 2016

TAN, X., *et al.* Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions. **Chemosphere**, v. 125, p.70-85, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.058>. Acesso em: 23 mai. 2020.

THINES, K.R., *et al.* Synthesis of magnetic biochar from agricultural waste biomass to enhancing route for waste water and polymer application: A review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews** v. 67, p. 257-276, 2017.

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.

VALCÁRCEL, Y., *et al.* Determining the Presence of Chemicals with Suspected Endocrine Activity in Drinking Water from the Madrid Region (Spain) and Assessment of Their Estrogenic, Androgenic and Thyroidal Activities. **Chemosphere**, v. 201, p. 388–398, 2018. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2018.02.099](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.099).

VIDAL, C. B. *et al.* Cinética de adsorção. In: (Ed.). **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará, p.51-65, 2014a.

VIEIRA, W. T., *et al.* Removal of endocrine disruptors in water by adsorption, membrane filtration and biodegradation. A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 18, p. 1113–1143, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01000-1>.

WANG X., *et al.* Mixed heavy metals removal from wastewater by discarded mushroom-stick biochar: adsorption properties and mechanisms. **Environ. Sci.: Processes Impacts**, v. 21, p. 584-592, 2019. DOI:10.1039/C8EM00457A

WEI, D., *et al.* Biochar-based functional materials in the purification of agricultural wastewater: Fabrication, application and future research needs, **Chemosphere**, v. 12, p. 193, 2017. doi: 10.1016/j.chemosphere.

WHO, World Health Organization Possible Developmental Early Effects of Endocrine Disrupters on Child Health; **Public Health & Environment Department (PHE), Health Security & Environment Cluster (HSE)**: Geneva, Switzerland, pp 1–93, 2012.

WHO, World Health Organization. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012; **United Nations Environment Programme and World Health Organization**: Geneva, Switzerland; pp 1–289, 2012.

YAO, Y., *et al.* Adsorption of sulfamethoxazole on biochar and its impact on reclaimed water irrigation. **J. Hazard. Mater.** v. 209, p. 408–413, 2012.

ZANIN, C. I. C. B.; FIGUEIREDO, F. C. A. Remoção de chumbo (II) em sistemas contínuos por carvão ativado com vapor. **Química Nova**, Santo André – SP, v.32, n.9, p. 2318-2322, novembro 2009.

ZHOU, N., *et al.* Biochars with excellent Pb (II) adsorption property produced from fresh and dehydrated banana peels via hydrothermal carbonization. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 204–210, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.074>