

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL  
CAMPUS LONDRINA E APUCARANA**

**JOSÉ RAFAEL ROSSI**

**TRATAMENTO ELETROQUÍMICO DO ANTIBIÓTICO CLORIDRATO DE  
TETRACICLINA EM EFLUENTE SINTÉTICO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**LONDRINA  
2017**

**JOSÉ RAFAEL ROSSI**

**TRATAMENTO ELETROQUÍMICO DO ANTIBIÓTICO CLORIDRATO DE  
TETRACICLINA EM EFLUENTE SINTÉTICO**

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito para defesa da dissertação e obtenção do título de “Mestre em Engenharia Ambiental”.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Nagamine Costanzi

Co-orientador: Prof. Dr. Alexei Lorenzetti Novaes Pinheiro

**LONDRINA  
2017**

## TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

R831t Rossi, José Rafael  
Tratamento eletroquímico do antibiótico cloridrato de tetraciclina em efluente sintético / José Rafael Rossi - Londrina: [s.n.], 2017.  
88 f. ; il. ; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Nagamine Costanzi  
Coorientador: Prof. Dr. Alexei Lorenzetti Novaes Pinheiro  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Londrina, 2017.  
Bibliografia: f. 80-88

1. Efluentes. 2. Antibióticos. 3. Tetraciclina. I. Costanzi, Nagamine, orient. II. Pinheiro, Alexei Lorenzetti Novaes, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. V. Título.

CDD: 628



**Ministério da Educação**  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental  
Campus Apucarana/Londrina



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **TRATAMENTO ELETROQUÍMICO DO ANTIBIÓTICO CLORIDRATO DE TETRACICLINA EM EFLUENTE SINTÉTICO**

por

**José Rafael Rossi**

Dissertação de mestrado apresentada no dia 04 de maio como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

---

Prof. Dr Ricardo Nagamine Costanzi - Orientador  
(UTFPR)

---

Prof. Dr Luiz Henrique Dall'Antonia - Membro Titular  
(UEL)

---

Prof. Dr<sup>a</sup> Juliana Feijó de Souza Daniel - Membro Titular  
(UTFPR)

---

Prof. Dr Edson Fontes de Oliveira

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por ter me dado à permissão de chegar até aqui, e por toda a força concedida na concretização desse sonho. Além disso, agradeço a Ele por todas as pessoas que cruzaram meu caminho e que estão aqui citadas, todas muitíssimo especiais.

Ao Professor Doutor Ricardo Nagamine Costanzi, agradeço, primeiramente, por ter me aceitado, e por ter acreditado em mim, pelos ensinamentos acadêmicos e também de vida, pela confiança, pelos conselhos, pela amizade, enfim, por seu comprometimento em concluir esse trabalho.

Ao Professor Doutor Alexei Lorenzetti Novaes Pinheiro, meu coorientador, agradeço, por todos os ensinamentos, por enriquecer meu trabalho com suas ideias, pelo tempo dedicado, por ensinar além da química um pouco de toda sua experiência.

A Professora Doutora Juliana Feijó de Souza Daniel, pela ajuda primordial nas análises microbiológicas, por sempre me atender com atenção e vontade de ajudar, pelos contatos na aquisição das bactérias, por muito mais, pela amizade.

A banca examinadora, por todos os apontamentos e contribuições a fim de valorizar o trabalho, pela disponibilidade em participar e colaboração.

A Ana Paula Cosso Silva Araujo, amiga e companheira de laboratório, pelas inúmeras vezes que me ajudou principalmente nas análises estatísticas.

Aos meus pais, José Moacir e Maria de Lourdes, minhas bases, simplesmente por terem me feito existir, por tanto amor, por tudo o que sou, por cada oração, por terem me proporcionado educação e amor pelos estudos, e, apesar das inúmeras dificuldades, por sempre me estimularem a continuar.

A minha esposa, Daiane, pela sua incansável boa vontade em me ajudar, por se privar de horas e fins-de-semana ao meu lado, para eu me dedicar à pesquisa, por estar ao meu lado compartilhando meus ideais e incentivando-me a prosseguir, insistindo para que eu avançasse cada vez mais. Enfim, por estar sempre me apoiando, sendo muito mais do que se pode esperar. Amo você!

A todos, muito obrigado!

## Resumo

ROSSI, J. R. **Tratamento eletroquímico do antibiótico cloridrato de tetraciclina em efluente sintético**. 2017. 88f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2017.

A acumulação de determinados poluentes orgânicos no meio ambiente tem se tornado um aspecto ambiental mundialmente relevante, isto em virtude da ampla utilização destes compostos e de sua persistência a biodegradação.

O fato de muitos destes poluentes orgânicos apresentarem resistência à degradação bioquímica leva à procura de técnicas alternativas. Neste contexto, os tratamentos eletroquímicos, em particular a oxidação anódica, podem ser uma alternativa promissora para a degradação de tais compostos.

O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar o tratamento de efluente sintético quanto a degradação do fármaco cloridrato de tetraciclina, antibiótico, muito utilizado na medicina humana e veterinária, por meio do sistema de oxidação anódica, aplicando como ânodo o eletrodo de  $\text{Ti/Ru}_{0,3}\text{Ti}_{0,7}\text{O}_2$ . Os ensaios de degradação eletroquímica do cloridrato de tetraciclina foram realizados em sistema com agitação, numa célula eletroquímica que contém um eletrodo dimensionalmente estável, como ânodo, como cátodo uma placa de titânio porosa e um eletrodo de  $\text{Ag/AgCl}$  saturado como referência, com capacidade de 1000 mL de solução.

O delineamento estatístico aplicado aos ensaios de degradação do fármaco foi o Delineamento Composto Central Rotacional. As variáveis independentes aplicadas foram: corrente, pH do efluente bruto e tempo de eletrooxidação. Para caracterização do efluente e averiguar a degradação do composto foram efetuadas análises de demanda química de oxigênio (DQO), pH, condutividade elétrica, espectrofotometria de absorção do ultravioleta-visível e de cromatografia líquida de alta eficiência.

O efluente bruto apresentou DQO média de  $122 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , pH de 4,02, condutividade elétrica de  $30,72 \text{ mS cm}^{-1}$  e concentração de cloridrato de tetraciclina de  $87,20 \text{ mg L}^{-1}$ . Após o tratamento do efluente observou-se que não houve variação do pH e da condutividade elétrica. O tratamento eletroquímico apresentou uma baixa remoção da DQO, porém em determinados ensaios o cloridrato de tetraciclina não foi detectado pela análise de cromatografia líquida de alta eficiência caracterizando a formação de fragmentos sem mineralização do fármaco. Os pontos de melhor eficiência do tratamento foram  $E_4$ ,  $E_8$  e  $E_{12}$ , que apresentam altas correntes e tempo de eletrooxidação, sendo que o pH do efluente não influenciou na eficiência de remoção do cloridrato de tetraciclina.

Para avaliar a toxicidade dos fragmentos de degradação foram realizados ensaios de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, verificando que o efluente não apresentava toxicidade e sua diminuição foi pouco acentuada após o tratamento. Por fim para identificar a atividade bacteriana do cloridrato de tetraciclina e seus produtos de degradação após o tratamento, testes de sensibilidade bacteriana com as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram realizados, constatando que os efluentes após o tratamento eletroquímico não apresentaram atividades antibióticas para as bactérias selecionadas.

**Palavras-chave:** cloridrato de tetraciclina, eletrooxidação, efluente sintético, degradação, toxicidade, atividade antibacteriana.

## Abstract

ROSSI, J. R. **Electrochemical treatment of the antibiotic tetracycline hydrochloride in synthetic effluent.** 2017. 88f. Thesis (Master's Degree in Environmental Engineering) – Federal Technological University of Paraná. Londrina, 2017.

The accumulation of certain organic pollutants in the environment has become a globally relevant environmental aspect, due to the wide use of these compounds and their persistence to biodegradation. The fact that many of these organic pollutants are resistant to biochemical degradation leads to the search for alternative techniques. In this context, electrochemical treatments, in particular anodic oxidation, may be a promising alternative for the degradation of such compounds. The present work had as main objective to evaluate the treatment of synthetic effluent in the degradation of the tetracycline hydrochloride drug, antibiotic, widely used in human and veterinary medicine, by means of the anodic oxidation system, applying as anode the electrode,  $\text{Ti/Ru}_{0,3}\text{Ti}_{0,7}\text{O}_2$ . The electrochemical degradation assays of tetracycline hydrochloride were carried out in a shaking system in an electrochemical cell containing a dimensionally stable electrode, as an anode, as a cathode a porous titanium plate and a saturated  $\text{Ag} / \text{AgCl}$  electrode as reference, capable of 1000 mL of solution. The statistical design applied to the drug degradation assays was the Central Rotational Compound Design. The independent variables applied were: current, crude effluent pH and electrooxidation time. For characterization of the effluent and to verify the degradation of the compound, chemical oxygen demand (COD), pH, electrical conductivity, ultraviolet-visible absorption spectrophotometry and high performance liquid chromatography were performed. The crude effluent had a mean COD of  $122 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , a pH of 4.02, an electrical conductivity of  $30.72 \text{ mS cm}^{-1}$  and a tetracycline hydrochloride concentration of  $87.20 \text{ mg L}^{-1}$ . After treatment of the effluent it was observed that there was no variation of pH and electrical conductivity. The electrochemical treatment showed a low removal of COD, but in certain tests the tetracycline hydrochloride was not detected by the high performance liquid chromatography analysis characterizing the formation of fragments without mineralization of the drug. The best treatment efficiency points were  $E_4$ ,  $E_8$  and  $E_{12}$ , which present high currents and electrooxidation time, and the pH of the effluent did not influence the removal efficiency of tetracycline hydrochloride. In order to evaluate the toxicity of the degradation fragments, toxicity tests were carried out against the microcrack *Artemia salina*, verifying that the effluent showed no toxicity and its decrease was not accentuated after the treatment. Finally, to identify the bacterial activity of tetracycline hydrochloride and its degradation products after treatment, bacterial sensitivity tests with the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were performed, noting that the effluents after the electrochemical treatment did not present antibiotic activities for the bacteria Selected.

**Keywords:** Tetracycline hydrochloride, electrooxidation, synthetic effluent, degradation, toxicity, antibacterial activity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Origem e principais vias de contaminação de antibióticos .....	19
Figura 2- Estrutura química do cloridrato de tetraciclina .....	21
Figura 3- Degradação da tetraciclina em meio ácido e sua epimerização .....	23
Figura 4- Degradação da tetraciclina em iso-tetraciclina em meio básico .....	23
Figura 5- Estruturas químicas das tetraciclinas e os seus produtos de degradação .....	24
Figura 6-Sistema de eletrooxidação, célula e agitador magnético.....	27
Figura 7- Espectro de absorção de soluções de tetraciclina em pH variados .....	30
Figura 8- Espectro de absorção do efluente bruto e efluente tratado em pH 4.....	39
Figura 9- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 5.....	40
Figura 10- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 6,5.....	41
Figura 11- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 8.....	41
Figura 12- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 9.....	42
Figura 13- Cromatograma do efluente bruto. ....	42
Figura 14- Cromatograma de efluente bruto e tratados, com detecção a 365 nm .....	44
Figura 15-Cromatograma de efluente bruto e tratados, com detecção a 260 nm .....	45
Figura 16- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de TC (%) dos ensaios com as variáveis tempo(s) e corrente (A) .....	46
Figura 17- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de TC (%) dos ensaios com as variáveis pH e corrente (A) .....	50
Figura 18- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de TC (%) dos ensaios com as variáveis pH e tempo (s).....	50
Figura 19- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de DQO (%) dos ensaios com as variáveis tempo (s) e corrente (A) .....	51
Figura 20- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de DQO (%) dos ensaios com as variáveis pH e corrente (A) .....	53
Figura 21- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de DQO (%) dos ensaios com as variáveis pH e corrente (A) .....	53
Figura 22- Gráfico de Pareto para variável resposta remoção de cloridrato de tetraciclina. ....	54



- Figura 23- Gráfico dos valores experimentais versus valores preditivos do modelo do ensaio de remoção de cloridrato de tetraciclina.....55
- Figura 24- Gráfico dos valores dos resíduos padronizados versus os ensaios para variável remoção de cloridrato de tetraciclina..... 56
- Figura 25- Gráfico de distribuição dos valores dos resíduos padronizados em torno da reta que indica a normalidade para os ensaios de remoção de cloridrato de tetraciclina .....56
- Figura 26- Gráfico de Pareto para a variável resposta remoção de DQO. ....57
- Figura 27- Gráfico dos valores experimentais versus valores preditivos do modelo do ensaio de remoção de DQO ..... 58
- Figura 28- Gráfico dos valores dos resíduos padronizados versus os ensaios para a variável remoção de DQO ..... 58
- Figura 29- Gráfico de distribuição dos valores dos resíduos padronizados em torno da reta que indica a normalidade para os ensaios de remoção de DQO..... 59
- Figura 30- Placa de teste disco difusão com a bactéria *Escherichiacoli*. A) Controle positivo e branco e B) Efluente bruto ..... 60
- Figura 31- Placas de teste disco difusão realizado com a bactéria *Staphylococcus aureus*, para efluente bruto, com presença de controle negativo e controle positivo. 61
- Figura 32- Placas de teste disco difusão realizado com a bactéria *Escherichia coli*, para efluente bruto, tratados, controle negativo e controle positivo.....62
- Figura 33- Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $K_2SO_4$  0,1 mol.dm<sup>-3</sup>) pH 4,00 com velocidades de varredura de (a) 50 mVs<sup>-1</sup> e (b) 20 mVs<sup>-1</sup> .....65
- Figura 34- Curva de polarização para o eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $K_2SO_4$  0,1 mol.dm<sup>-3</sup>) em pH 4,00 (a). Variação da corrente ao longo do tempo para na presença de íons cloreto (efluente sintético) para o potencial de 1,45 V. .... 67
- Figura. 35- (a) Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $K_2SO_4$  0,1 mol.dm<sup>-3</sup>) em pH 6,50 com velocidades de varredura de 20 mVs<sup>-1</sup>. (b) Curva de polarização do eletrodo DSA nas mesmas soluções..... 68
- Figura 36- (a) Variação da corrente ao longo do tempo para na presença de íons cloreto (efluente sintético, 1,4 V) e (b) na presença de cloreto e TC (efluente sintético + TC 1,53 V)..... 68
- Figura 37- (a) Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $K_2SO_4$  0.1 mol.dm<sup>-3</sup>) em pH 9,00 com velocidades de varredura de 20 mVs<sup>-1</sup>. (b) Curva de polarização do eletrodo DSA nas mesmas soluções..... 69

Figura 38- Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) em diferentes pHs (a) e com potencial corrigido para escala ERH (b). Em (c) e (d) são mostradas as respectivas curvas de polarização nas duas escalas de potencial. ....	69
Figura 39- Estrutura da Tetraciclina indexada para referência à estruturas e grupos funcionais .....	74
Figura 40- Mecanismo de degradação da TC proposto por WU et. al. (2012).....	75
Figura 41- Mecanismo de degradação da TC proposto por KHAN et. al. (2010).....	77

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 -Composição química do efluente artificial.....	29
Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos estabelecidos para monitoramento do efluente.	33
Tabela 3 - Bactérias utilizadas para avaliar a sensibilidade do antibiótico tetraciclina .	35
Tabela 4 -Valores codificados do DCCR, corrente, pH e tempo de eletrooxidação para ensaios com efluente artificial dopado com cloridrato de tetraciclina .....	37
Tabela 5 -Caracterização do efluente sintético sem tratamento .....	38
Tabela 6 -Características da eletrooxidação, concentração de TC após tratamento e porcentagem de remoção do fármaco .....	47
Tabela 7- Efeito da corrente sobre a porcentagem de remoção de TC .....	48
Tabela 8 - Efeito do tempo de eletrooxidação sobre a porcentagem de remoção de TC. ....	48
Tabela 9 - Efeito do pH sobre a porcentagem de remoção de TC.....	49
Tabela 10 - Características da eletrooxidação, valores de DQO e sua porcentagem de remoção, após tratamento .....	52
Tabela 11- Análise de variância (ANOVA) por regressão aplicada a variável respostaremoção de .....	55
Tabela12 - Análise de variância (ANOVA) por regressão aplicada a variável resposta remoção de DQO. ....	57
Tabela 13 - Características da eletrooxidação, DL50 e porcentagem de remoção da TC. ....	63

**LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS**

ACTC	Anidrotetraciclina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	American Public Health Association
ATC	Anidrotetraciclina
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTC	Clortetraciclina
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
DFT	Teoria do funcional de densidade
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DSA	Ânodo Dimensionalmente Estável
ECTC	Epiclortetraciclina
EOTC	Epoxitetraciclina
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETC	Epitetraciclina
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FDA	Food and Drugs Administration
HOMO	Orbital molecular ocupado de mais alta energia
LC/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa
LUMO	Orbital molecular não ocupado de mais alta energia
OTC	Oxitetraciclina
pH	Potencial hidrogeniônico
pKa	Constante de Acidez
POA	Processos oxidativos avançados
RDH	Reação de desprendimento de hidrogênio
RDO	Reação de desprendimento de oxigênio
TC's	Tetraciclina
UV/VIS	Ultra Violeta/Visível
VC	Voltametria Cíclica

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVO .....</b>	<b>16</b>
2.1 Objetivo Geral .....	16
2.2 Objetivos Específicos .....	16
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>17</b>
3.1 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES.....	17
3.2 IMPACTOS DOS FARMACOS AO AMBIENTE .....	17
3.3 ANTIBIÓTICOS .....	18
3.4 FONTES E OCORRÊNCIA DE ANTIBIÓTICOS NO AMBIENTE .....	19
3.5 ANTIBIÓTICOS TETRACICLÍNICOS .....	21
3.6 TETRACICLINAS E PRODUTOS DE SUA DEGRADAÇÃO .....	22
3.7 PROCESSOS DE TRATAMENTO AVANÇADOS DE RESÍDUOS E EFLUENTES .....	24
3.8 PROCESSOS ELETROQUÍMICO.....	25
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>28</b>
4.1 EFLUENTE SINTÉTICO.....	28
4.2 CÉLULA ELETROLÍTICA .....	29
4.3 MATERIAIS ELETRÓDICOS .....	30
4.4 EXPERIMENTOS ELETROQUÍMICOS.....	31
4.5 ANÁLISES UV/VIS .....	32
4.6 ANÁLISE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)...	32
4.7 PARÂMETROS DE MONITORAMENTO DO EFLUENTE PRÉ E PÓS- TRATAMENTO.....	33
4.7.1 pH.....	33
4.7.2 Condutividade elétrica .....	34
4.8 TÉCNICA DISCO-DIFUSÃO: AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE AO ANTIBIÓTICO .....	35
4.9 TESTES DE TOXICIDADE FRENTE AO MICROCRUSTÁCEO <i>ARTEMIA</i> <i>SALINA</i> .....	36
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE SINTÉTICO .....	38
5.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DA TETRACICLINA ...	39
5.3 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DA DEGRADAÇÃO DOS EFLUENTES TRATADOS.....	40
5.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA .....	43
5.5 DEGRADAÇÃO DA TETRACICLINA .....	46

	13
5.5.1 EFEITO DA CORRENTE SOBRE O TEOR DE REMOÇÃO DE TC .....	48
5.5.2 EFEITO DO TEMPO DE ELETROOXIDAÇÃO SOBRE A TEOR DE REMOÇÃO DE TC .....	48
5.5.3 EFEITO DO pH SOBRE O TEOR DE REMOÇÃO DE TC .....	49
5.6 REMOÇÃO DE DQO.....	51
5.7 MODELOS MATEMÁTICOS .....	54
5.7.1 Validação Do Modelo Matemático Remoção de Cloridrato de Tetraciclina .....	54
5.7.2 Validação Do Modelo Matemático Remoção de DQO.....	57
5.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EFLUENTES TRATADOS.....	59
5.9 TOXICIDADE DO EFLUENTE FRENTE AO MICROCRUSTÁCEO <i>ARTEMIA SALINA</i> .....	63
5.10 CARACTERIZAÇÕES ELETROQUÍMICAS .....	64
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>80</b>

## 1INTRODUÇÃO

Nos últimos anos uma grande variedade de resíduos de fármacos tem sido detectados no meio ambiente, em especial no solo, estação de tratamento de esgotos, estação de tratamento de água e em águas naturais (TAUXE-WUERESH et al., 2005).

A principal entrada desses poluentes no ambiente é oriunda da sua utilização intensiva e extensiva como medicamento em humanos e em medicina veterinária na produção de animais que após sua aplicação são parcialmente metabolizados e excretados por urina ou fezes na forma inalterada ou como um metabólito ativo, alcançando, principalmente, os corpos hídricos receptores das águas servidas (CHAPMAN, 2006). Estudos realizados por Mulroy (2001) determinaram que 50% a 90% de uma dosagem de fármaco são excretadas de forma inalterada e persistente no meio ambiente contribuindo com o aumento da concentração desses compostos no solo e nas águas superficiais e subterrâneas. Também são utilizados frequentemente como antibióticos promotores de crescimento ou aditivos alimentares (BILA e DEZOTTI, 2003).

Outra via de contaminação está associada à lixiviação destes compostos em lodos, que consiste em um processo de extração ou solubilização seletiva de constituintes químicos pela ação de um fluido percolante que pode atingir sistemas hídricos (HEBERER, 2002).

Os produtos farmacêuticos são divididos em diversas classes como: analgésicos, antibióticos, anti-inflamatórios, anticancerígenos, anticonvulsivos, antidepressivos, antissépticos, fragrâncias, hormônios sintéticos e estimulantes (KANIOU et al., 2005). Os antibióticos compreendem uma quantidade significativa de produtos farmacêuticos, pois são utilizados no controle de diversas infecções. Dentre os antibióticos mais comuns, estão as penicilinas, amoxicilina, ciprofloxacina, sulfametoxazol e a tetraciclina, sendo que a tetraciclina é o segundo grupo de antibiótico mais utilizado no início deste século de acordo com a *Food and Drugs Administration* (FDA).

Concentrações de antibióticos foram encontrados em esgoto bruto na Itália, França, Grécia, Suécia e Suíça (GOLET et al. 2001), águas subterrâneas na Alemanha (STACKELBERG et al. 2004), e em águas superficiais nos Estados Unidos (KOLPIN et al. 2002). No Brasil, há uma expectativa maior de encontrar compostos orgânicos persistentes, devido a suas deficiências na coleta e tratamento de esgoto.

Os antibióticos têm diferentes efeitos sobre o meio ambiente, e um deles é a contribuição no desenvolvimento de bactérias resistentes, Segundo Jorgensen et al. (1998), há indícios de que o desenvolvimento de resistência antibiótica é favorecido por baixas concentrações.

(MIRANDA e CASTILHO, 1998) investigaram a incidência de resistência microbiana em uma espécie de *Aeromonas* isolada de ambientes aquáticos, constatando que a resistência ocorreu com vários antibióticos testados, dentre esses, cloranfenicol, trimetropim, sulfametoxazol e tetraciclina, avaliaram o desenvolvimento da resistência bacteriana aos antibióticos usados em hospitais, os quais são poderosos focos de desenvolvimento de resistência bacteriana.

Estudos sobre os efeitos causados ao meio ambiente com o uso de antibióticos na aquicultura foram desenvolvidos por vários pesquisadores. Um desses efeitos descreve o desenvolvimento de uma população de bactérias resistentes em sedimentos marinhos (WU, 1995).

Neste estudo foi selecionado o antibiótico cloridrato de tetraciclina um fármaco amplamente utilizado na medicina humana e veterinária. Este composto será tratado por eletrooxidação anódica em efluente sintético utilizando eletrodo de  $\text{Ti/Ru}_{0,3}\text{Ti}_{0,7}\text{O}_2$ , monitorando alguns parâmetros como corrente elétrica, pH e tempo de eletrooxidação, a fim de verificar sua degradação e/ou mineralização, para se obter um efluente tratado menos tóxico.



## 2 OBJETIVO

### 2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é a degradação eletroquímica do antibiótico cloridrato de tetraciclina em meio a efluente sintético utilizando eletrodo de  $\text{Ti/Ru}_{0,3}\text{Ti}_{0,7}\text{O}_2$  no processo de eletrooxidação.

### 2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Realizar a caracterização físico-química do esgoto sanitário sintético, com relação aos parâmetros DQO, pH, condutividade elétrica associado a concentração de cloridrato de tetraciclina;
- Determinar os pontos ótimos das variáveis independentes pH, corrente elétrica e tempo de eletrooxidação aplicadas experimentalmente para oxidação anódica na remoção do antibiótico cloridrato de tetraciclina em meio aquoso;
- Avaliar a sensibilidade microbiana do efluente bruto e tratado para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.
- Avaliar a toxicidade dos produtos de degradação frente ao micro crustáceo *Artemia salina*.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES

A indústria, a agropecuária e o uso desenfreado de medicamentos (automedicação) contribuem para o aparecimento de uma infinidade de compostos químicos no ambiente, provocando uma preocupação mundial com o impacto destes compostos no ambiente e na saúde humana (DEBLONDE et al., 2011).

Constantemente, têm sido relatadas evidências da presença de novos compostos, designados por poluentes emergentes, nas águas residuais, nas águas subterrâneas e nas águas superficiais (PETROVIC et al., 2009). Os poluentes emergentes são produtos novos ou produtos químicos sem regulamentação, cujos efeitos sobre o meio ambiente e a saúde humana são desconhecidos. Incluem surfactantes, fármacos e produtos de higiene pessoal, desreguladores endócrinos, drogas ilícitas, aditivos de combustíveis dentre outros grupos de compostos.

Sua principal característica é a de não persistir no ambiente para causar efeitos negativos, uma vez que a sua introdução contínua no meio ambiente compensa suas possíveis formas de transformação ou remoção (BARCELÓ, 2003).

#### 3.2 IMPACTOS DOS FÁRMACOS AO AMBIENTE

Têm sido detectados alguns fármacos (ou seus metabólitos e produtos da degradação) nas águas para consumo humano, aumentando as preocupações acerca da possibilidade de efeitos adversos (PENA et al., 2010).

A presença de fármacos em corpos receptores, muitas vezes utilizados como fonte de água para abastecimento público, contribui para o aumento das preocupações quanto à sua presença na água potável e, conseqüentemente aos efeitos na saúde humana (STACKELBERG et al., 2004).

Áreas com elevada densidade populacional e com presença significativa de atividade agrícola e pecuária constituem também situações muito preocupantes, não se conhecendo limites para as concentrações de fármacos descarregados no ambiente a partir de estação de tratamento de esgoto (ETE) ou de fontes agrícolas (JONES et al., 2004). Grandes centros urbanos têm tendência à reutilização das águas, estas medidas

incluem a utilização de águas residuais tratadas, processo este designado por reutilização indireta de água potável. No entanto, a presença de fármacos nos efluentes de águas residuais é um dos aspectos mais desafiantes da reutilização indireta de água potável, devido ao grande número de fármacos que podem estar presentes, à impossibilidade de determinar todos esses compostos, bem como à falta de informação relativa à sua toxicidade e inexistência de valores-limite para muitos deles (STACKELBERG et al., 2004).

O uso de águas residuais não eficientemente tratadas (industrial e doméstica) e de biosólido (lama de esgoto e estrume) na agricultura causa a contaminação de solos, águas superficiais, águas subterrâneas e de toda a cadeia alimentar com compostos farmacêuticos, seus metabolitos e os produtos da sua degradação (REHMAN et al., 2013).

Têm sido realizadas várias pesquisas com o intuito de desenvolver novos métodos analíticos para monitorar fármacos, produtos da sua degradação, metabolitos e a toxicidade da mistura, como consequência da contaminação farmacêutica por estes contaminantes farmacêuticos emergentes (REHMAN et al., 2013).

### 3.3 ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos são um dos grupos mais importantes de fármacos utilizados, é um agente quimioterapêutico que inibe ou suprime o crescimento de microorganismos, tais como bactérias, fungos ou protozoários (KUMMERER, 2009).

Os primeiros antibióticos eram de origem natural, como as penicilinas, produzida por fungos do gênero *Penicillium*, ou a estreptomicina, produzida a partir de bactérias do gênero *Streptomyces*. Atualmente, os antibióticos são obtidos por síntese química, como as sulfonamidas, ou por modificação química de compostos de origem natural.

A definição clássica de um antibiótico é um composto produzido por microrganismo que inibe o crescimento de outro. Ao longo dos anos, esta definição foi expandida para incluir produtos sintéticos e semissintéticos (KUMMERER, 2009). São usados extensivamente na medicina humana, na medicina veterinária e na aquicultura com a finalidade de prevenir ou tratar infecções microbianas, enquanto que na criação de gado, aves e suínos podem ainda ser utilizados para promover o crescimento dos

animais. Alguns antibióticos são usados também na fruticultura e na apicultura (KUMMERER, 2008).

É um grupo diverso de produtos químicos que pode ser dividido em subgrupos diferentes, tais como beta-lactamas, quinolonas, tetraciclina, macrolídeos, sulfonamidas e outros. Podem em diferentes condições de pH, ser neutros, catiônicos ou aniônicos. Devido a diferentes funcionalidades dentro de uma única molécula, as suas propriedades físico-químicas e biológicas, tais como a solubilidade, a hidrofobicidade, o comportamento de sorção, a foto-reatividade, a atividade antibiótica e a toxicidade podem sofrer alterações com o pH (KUMMERER, 2008).

### 3.4 FONTES E OCORRÊNCIA DE ANTIBIÓTICOS NO AMBIENTE

Antibióticos humanos e veterinários têm sido detectados em diferentes matrizes ambientais. Estes poluentes são continuamente descarregados no ambiente na sua formulação inicial ou como produtos da sua degradação ou de ambas as formas por uma diversidade de fontes de entrada, como mostra na Figura 1.

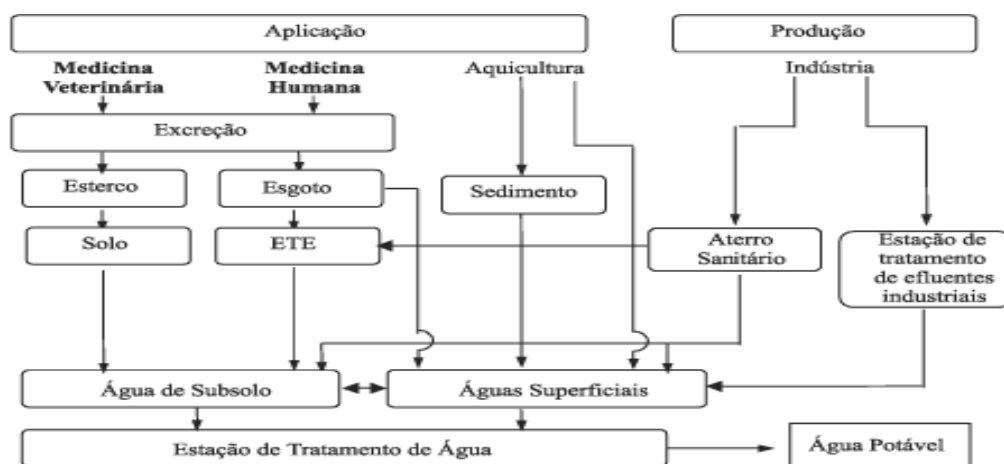


Figura 1-Origem e principais vias de contaminação de antibióticos (adaptado de BILA e DEZOTTI, 2003).

O problema reside no fato de que as ETE não são projetadas para remover micro poluentes altamente polares como os antibióticos (XU et al., 2007), que podem assim ser transportados para águas superficiais e subterrâneas depois da lixiviação. Em última análise, as águas superficiais contaminadas podem entrar nas estações de

tratamento de água (ETA's), que também não estão preparadas para remover estes compostos, atingindo os sistemas de distribuição de água.

Têm sido relatados vários estudos sobre a ocorrência de resíduos de antibióticos em ecossistemas aquáticos, em águas superficiais, águas subterrâneas, águas marítimas, águas potáveis e efluentes (KUMMERER, 2001; BROWN et al., 2006; XU et al., 2007; WATKINSON et al., 2009; PENA et al., 2010). Os antibióticos também têm sido detectados em matrizes terrestres e em biossólido (KINNEY et al., 2006; JONES-LEPP e STEVENS, 2007).

Geralmente, os antibióticos são detectados em efluentes hospitalares, águas residuais municipais, águas superficiais, águas do mar e águas subterrâneas numa gama compreendida entre  $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{ngL}^{-1}$ . Além disso, tem-se verificado que os sedimentos dos rios junto às zonas agrícolas têm mostrado maiores concentrações de antibióticos do que a água adjacente ou outros sedimentos de rios localizados longe das áreas agrícolas. Isto indica a possibilidade de contaminação de terras por escoamento (KUMMERER, 2009). Análises de solos revelaram também a presença de resíduos de antibióticos atribuídos à aplicação de lamas como adubo ou fertilizantes (KUMAR et al., 2005). Além de que, já foi detectada a presença deste tipo de resíduos em legumes (SHENKER et al., 2011).

A persistência e a acumulação de antibióticos no meio ambiente podem produzir efeitos nocivos, tanto no ecossistema aquático como terrestre, mesmo a baixos níveis de concentração. A extensa e indiscriminada utilização destes compostos em medicina humana e veterinária e sua introdução contínua nas matrizes ambientais podem explicar tal bioacumulação e persistência. A elevada polaridade e natureza não volátil da maior parte dos antibióticos impedem a sua saída destas matrizes (HERNANDO et al., 2006).

As propriedades físico-químicas de cada antibiótico, como a estrutura molecular, a forma e o tamanho, a solubilidade e a hidrofobicidade, vão definir a sua distribuição nas matrizes ambientais sólidas ou líquidas (KEMPER, 2008). Além desses fatos, os antibióticos são suspeitos de serem responsáveis pela produção dos microrganismos resistentes, causando sérios problemas de saúde pública, ou seja, dificuldades no tratamento de patologias e desequilíbrio dos ecossistemas microbianos (BAILÓN-PÉREZ et al., 2008).

Foram estabelecidos limites legais de antibióticos nos alimentos  $4\text{-}1500\text{ mg kg}^{-1}$  para o leite e  $25\text{-}6000\text{ mg kg}^{-1}$  para os outros produtos alimentares de origem animal, mas não existe uma legislação aplicada a matrizes ambientais. Assim, em contraste com as propriedades e efeitos terapêuticos desejados a partir das aplicações de antibióticos,

essas mesmas propriedades são muitas vezes desvantajosas para os organismos no ambiente (KUMMERER, 2008).

A fim de avaliar os impactos ambientais, têm sido feitos cada vez mais estudos no sentido de conhecer e compreender as fontes, ocorrência e destino destes compostos no ambiente. Além disso, têm sido estudados vários processos que visam remover ou degradar os antibióticos do meio ambiente.

### 3.5 ANTIBIÓTICOS TETRACICLÍNICOS

As tetraciclinas (TC's) são um grupo de produtos naturais e semissintéticos que são agentes bacteriostáticos e com atividade contra uma ampla variedade de organismos. Em meados do século vinte, foram desenvolvidas pela primeira vez a partir de microrganismos presentes em amostras de solo, as *Streptomyces*, recolhidos em todo o mundo, devido à necessidade de antibióticos mais potentes (RODRÍGUEZ et al., 1998).

As tetraciclinas são caracterizadas por uma estrutura de quatro anéis, com um grupo funcional carboxilamida e vários outros grupos funcionais ionizáveis, tricarbonil metano, dicetona fenólica e dimetil amônio, bem como as cadeias laterais, que são responsáveis pelo seu pKa e pela carga aniônica, catiônica ou zeuteriônica (Figura 2) (SANLI et al., 2009).

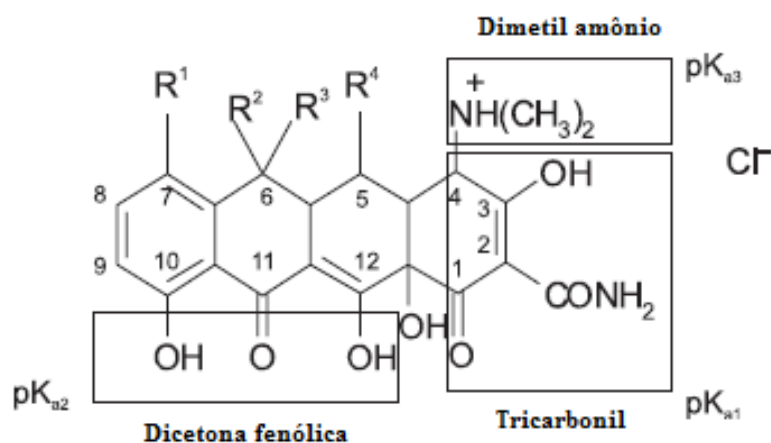


Figura 2- Estrutura química da tetraciclina e seus pKa (adaptado de SANLI et al., 2009).

O cloridrato de tetraciclina tem como fórmula molecular ( $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ ), massa molecular  $480,90 \text{ g mol}^{-1}$ , é um pó cristalino, amarelo e inodoro, moderadamente higroscópico e estável quando em contato com o ar. No entanto, quando exposta a luz intensa e umidade ocorre seu escurecimento (HALLING SORENSEN et al., 2002).

Este composto possui grupos funcionais múltiplos com propriedades ácido-base, sendo que a primeira constante de dissociação ácida da tetraciclina, com um valor de  $pK_{a1}$  de aproximadamente 3,35 é atribuída ao grupo hidroxil do sistema tricarbonil. A segunda constante de dissociação ácida, com um valor de  $pK_{a2}$  de aproximadamente 7,29 está associada com o grupo hidroxil do sistema dicetona fenólica. A terceira e última com um valor de  $pK_{a3}$  de aproximadamente 9,88 está associada ao grupo amino do dimetil amônio. (SANLI et al., 2009).

### 3.6 TETRACICLINAS E PRODUTOS DE SUA DEGRADAÇÃO

As tetraciclinas são conhecidas por se degradarem através de fatores abióticos, dependendo do pH, propriedades redox e condições de luz, e os produtos de degradação podem ser formados através da epimerização, desidratação e vias de transferência de prótons (Figura 3 e 4) (HALLING SORENSEN et al., 2003).

As 4-Epi-TC's, como a 4-epitetraciclina (ETC) da tetraciclina (TC), a 4-epoxitetraciclina (EOTC) da oxitetraciclina (OTC), e a 4-epiclortetraciclina (ECTC) da clortetraciclina (CTC), podem ser formadas em condições aquosas em meio ligeiramente ácido pH 2 a 6, e podem ser revertidas de volta à sua forma ativa sob condições alcalinas específicas, na presença de um metal de complexação. Sob condições fortemente ácidas ( $pH < 2$ ), as anidro-TC's, como a anidro tetraciclina (ATC) e a anidro clortetraciclina (ACTC), são as mais formadas. Enquanto, que as anidro-TC's são estáveis, a anidro-OTC é instável e forma rapidamente compostos  $\alpha$  e  $\beta$ -apo-OTC. A CTC é particularmente vulnerável à decomposição alcalina e forma iso-CTC sob condições alcalinas. Os referidos produtos também podem sofrer epimerização (ANDERSON et al., 2005). Vários destes produtos de degradação têm potência antibiótica, ao mesmo nível de concentração que os seus compostos precursores (Figura 5) (HALLING SORENSEN et al., 2002).

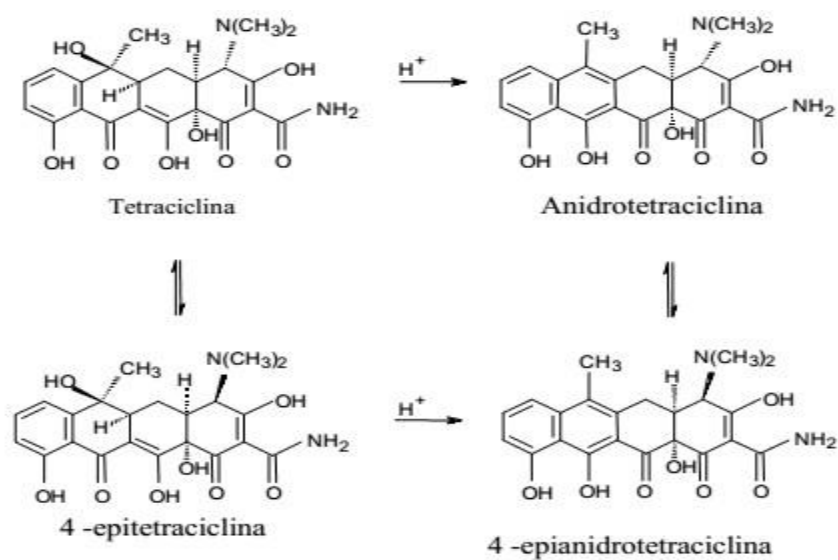


Figura 3- Degradação da tetraciclina em meio ácido e sua epimerização

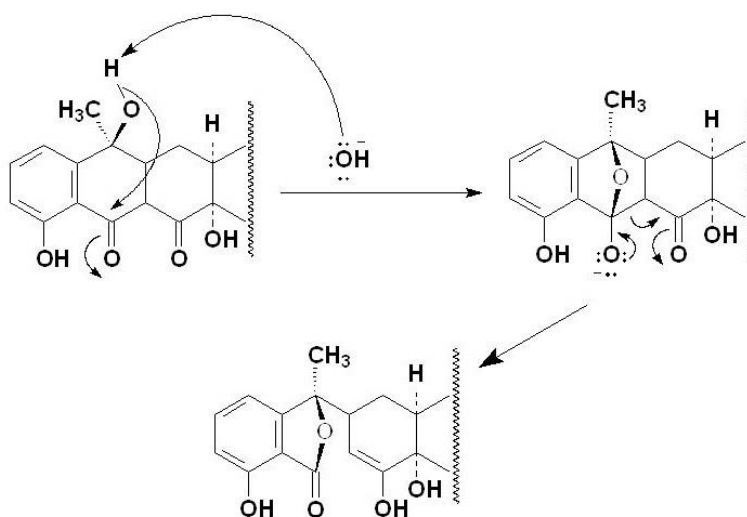


Figura 4- Degradação da tetraciclina em iso-tetraciclina em meio básico.



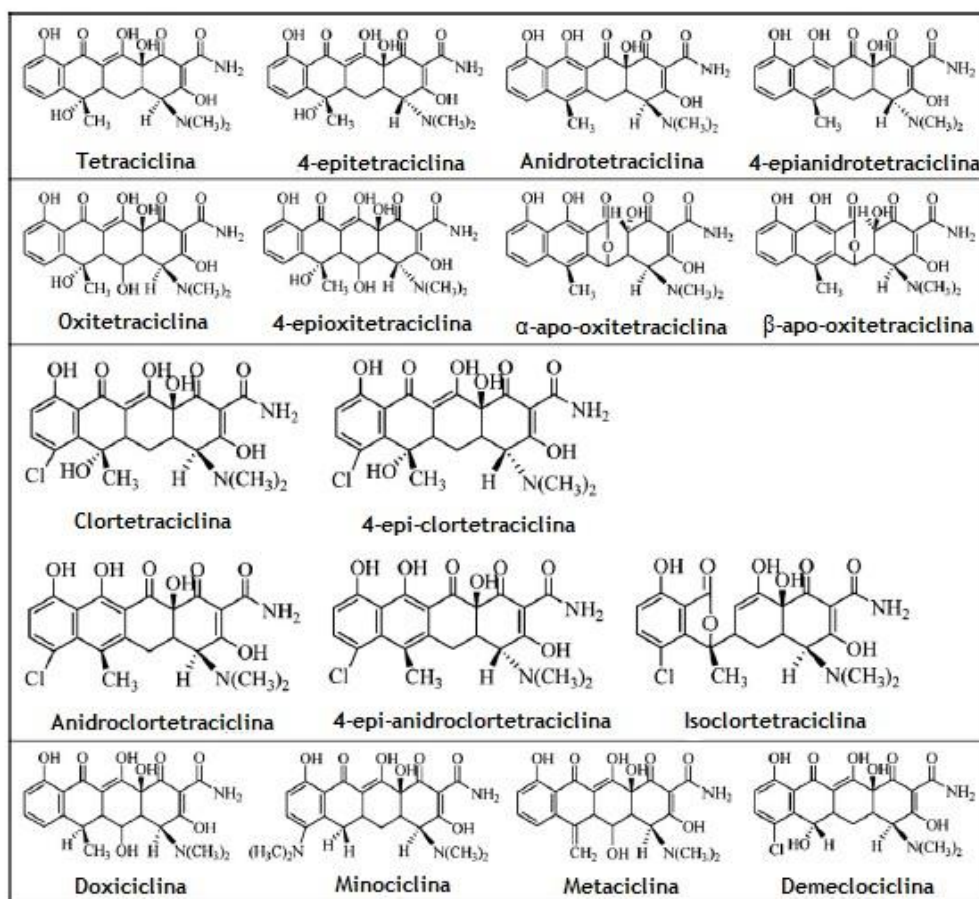


Figura 5- Estruturas químicas das tetraciclina e os seus produtos de degradação (JIA et al., 2009)

### 3.7 PROCESSOS DE TRATAMENTO AVANÇADOS DE RESÍDUOS E EFLUENTES

Os antibióticos tetraciclínicos têm sido detectados em várias matrizes ambientais, embora a quantidade de resíduos de antibióticos no ambiente aquático seja baixa, a acumulação de resíduos farmacêuticos constitui um risco potencial para os organismos aquáticos e terrestres em longo prazo (SIRÉS e BRILLAS, 2012).

A remoção de antibióticos é difícil e o processo apresenta altos custos, por esse motivo tem havido crescente interesse para o tratamento da poluição gerada por resíduos farmacêuticos, incluindo os antibióticos (ELMOLLA e CHAUDHURI, 2010; DAGHRIRA et. al., 2012; HOU et al., 2012).

Os processos biológicos, o mais rentável para o tratamento de águas residuais, são métodos destrutivos e têm sido extensivamente estudados (OLLER et al., 2011), mas nem sempre parecem relevantes para remoção de compostos recalcitrantes, devido à sua fraca biodegradabilidade.

Algumas técnicas físicas e físico-químicas têm provado a sua eficiência, entre as técnicas físicas a adsorção, a floculação, a eletro-floculação, a osmose inversa, a ultrafiltração e a coagulação têm sido aplicadas para remover poluentes recalcitrantes, porém estes métodos são não destrutivos e simplesmente transferem os poluentes de uma fase para outra, o que resulta em poluição secundária (ALONSO-SALLES et al., 2010).

Os processos físico-químicos são destrutivos e são também amplamente usados para remover os compostos recalcitrantes. Entre eles, os processos de oxidação avançada constituem o grupo de processos mais amplamente estudados (LEE et al., 2011), e podem ser divididos em três categorias: processos fotoquímicos, ozonização combinada com radiação UV e/ou peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), e produção *in situ* de radicais livres ( $\bullet OH$ ) por outras tecnologias (YAHIAOUI et al., 2013).

Os POA's são métodos oxidativos baseados na geração de radicais hidroxilo ( $\bullet OH$ ) que são extremamente reativos e menos seletivos do que outros oxidantes. O seu potencial padrão de oxidação ( $E = 2,8 V$ ) é maior do que o dos oxidantes convencionais, tornando-o extremamente eficaz na oxidação de uma grande variedade de compostos orgânicos (HERNANDEZ et al., 2002). Nestes processos, é de esperar que os compostos orgânicos sejam oxidados a espécies intermediárias ou mesmo mineralizadas a  $CO_2$  e  $H_2O$  e sais inorgânicos. Contudo, algumas vezes, os metabolitos produzidos são potencialmente mais perigosos do que o composto original (DANTAS et al., 2008).

### 3.8 PROCESSOS ELETROQUÍMICO

Nos últimos anos, os processos eletroquímicos têm demonstrado ser eficazes para o tratamento de efluentes contendo poluentes orgânicos persistentes e tóxicos (PANIZZA e CERISOLA, 2009).

Os tratamentos eletroquímicos são processos que permitem remover compostos tóxicos orgânicos, aplicando uma tecnologia eficaz, versátil, rentável, fácil e limpa. Nos processos eletroquímicos, a oxidação ocorre no ânodo (que pode ser de grafite,  $TiO_2$ , ligas à base de Ti, óxidos de Ir, Ru, Pb, Sn, Sb), na presença de um eletrólito (PANIZZA e CERISOLA, 2009).

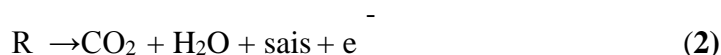
A oxidação eletroquímica oferece diversas vantagens para a prevenção e solução dos problemas ambientais. Trata-se de um processo limpo que pode funcionar a baixas temperaturas e, na maioria dos casos, sem adição de qualquer reagente nem formação de lamas, utilizando equipamento simples e de fácil operação (ANGLADA et al., 2009).

Durante a oxidação anódica de poluentes orgânicos, podem ser seguidas duas vias diferentes (DROGUI et al., 2007):

- conversão eletroquímica - os compostos orgânicos são apenas parcialmente oxidados, equação (1), podendo ser necessário um tratamento subsequente.



- combustão eletroquímica - os compostos orgânicos são transformados em água, dióxido de carbono e outros componentes inorgânicos, equação (2).



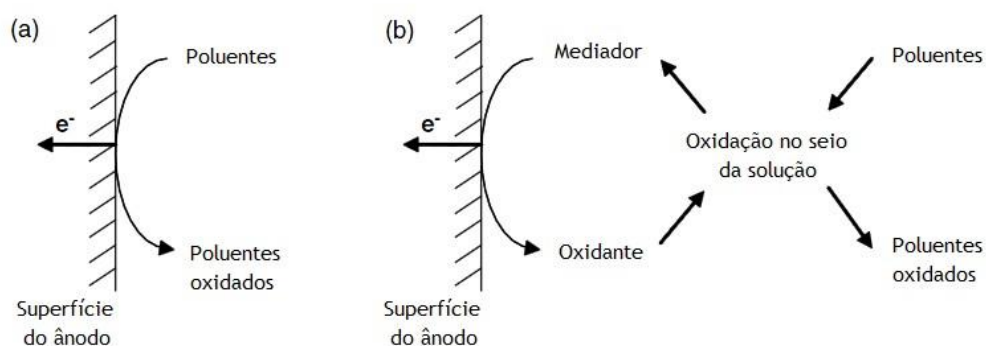
Os compostos orgânicos, em meio aquoso, podem ser oxidados num ânodo por oxidação direta ou indireta.

A oxidação pode ocorrer diretamente na superfície do eletrodo, designando-se por oxidação anódica direta (MOHAN et al., 2007). Ocorre em duas etapas: (1) difusão de poluentes a partir do seio da solução para a superfície do ânodo e (2) a oxidação dos poluentes na superfície do ânodo. Conseqüentemente, a eficácia do processo eletroquímico dependerá da relação entre a transferência de massa do substrato e a transferência de elétrons na superfície do eletrodo. No entanto, o principal problema é a atividade catalítica diminuir, efeito comumente chamado de envenenamento, devido à formação de um filme polimérico na superfície do ânodo. Esta diminuição depende da adsorção de poluentes na superfície do ânodo, da concentração de poluente e da natureza dos compostos orgânicos (PANIZZA e CERISOLA, 2009).

No processo de oxidação anódica indireta, agentes oxidantes fortes são eletrogerados na superfície do ânodo, destruindo, posteriormente, os poluentes no seio da solução (ANGLADA et al., 2009). Assim, a eletrólise indireta evita a formação de filmes passivantes na superfície do eletrodo, evitando a troca direta de elétrons entre produtos orgânicos e a superfície do ânodo, sendo os poluentes, na eletrólise indireta, oxidados através da mediação de reagentes redox gerados eletroquimicamente.

Estes reagentes agem como um intermediário, se deslocando entre o eletrodo e os poluentes orgânicos, podendo esta reação ocorrer na mediação da superfície do ânodo, como é o caso do radical hidroxilo, ou no seio da solução, como é o caso do cloro, do ozono e do peróxido de hidrogênio. Os principais requisitos para a obtenção de altas eficiências no processo de oxidação anódica indireta são: o potencial ao qual a

espécie intermediária é produzida não deve estar perto do potencial de evolução do oxigênio, a taxa de geração de intermediários deve ser elevada, a taxa de reação da espécie intermediária com os poluentes deve ser maior que a taxa de qualquer reação concorrente e a adsorção de poluentes deve ser minimizada (PANIZZA e CERISOLA, 2009).



**Figura 6 – Esquemas de tratamento eletroquímico de poluentes por oxidação (a) direta e (b) indireta (Adaptado de Rajeshwar et al., 1997)**

## 4 METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de pesquisa da UTFPR de Londrina, utilizando sistema de eletrooxidação para tratamento de efluente sintético dopado com antibiótico cloridrato de tetraciclina.

### 4.1 EFLUENTE SINTÉTICO

Os experimentos foram realizados utilizando-se soluções modelo que simulam as características essenciais de um efluente em termos de sua condutividade elétrica e pH, sem prejudicar a reprodutibilidade do meio tratado. A composição de efluentes reais pode prejudicar a interpretação dos resultados (PIDOU et al., 2007). Pois as presenças de compostos orgânicos adicionais podem interferir a degradação e identificação da molécula de interesse, no caso o cloridrato de tetraciclina.

A solução modelo utilizada para reproduzir as características do efluente foi preparada pela dissolução dos sais: cloreto de sódio (NaCl), cloreto de cálcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), sulfato de potássio ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ), cloreto de magnésio hexahidratado ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) e cloridrato de tetraciclina ( $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot \text{HCl}$ ) em 1 litro de água, as composições químicas do efluente artificial são mostradas na tabela 1. O cloridrato de tetraciclina foi adquirido da farmácia Pharmanostra e apresenta pureza de (96,4%), de acordo com certificado de análise.

Segundo Mills et al., (1993) os fatores mais importantes que influenciam os processos de eletrooxidação são: condutividade e pH, por esse motivo haverá um controle de pH ajustando-o com soluções de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e  $\text{NaOH}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  para se obter um efluente sintético de pH variável de 4,00 a 9,00.

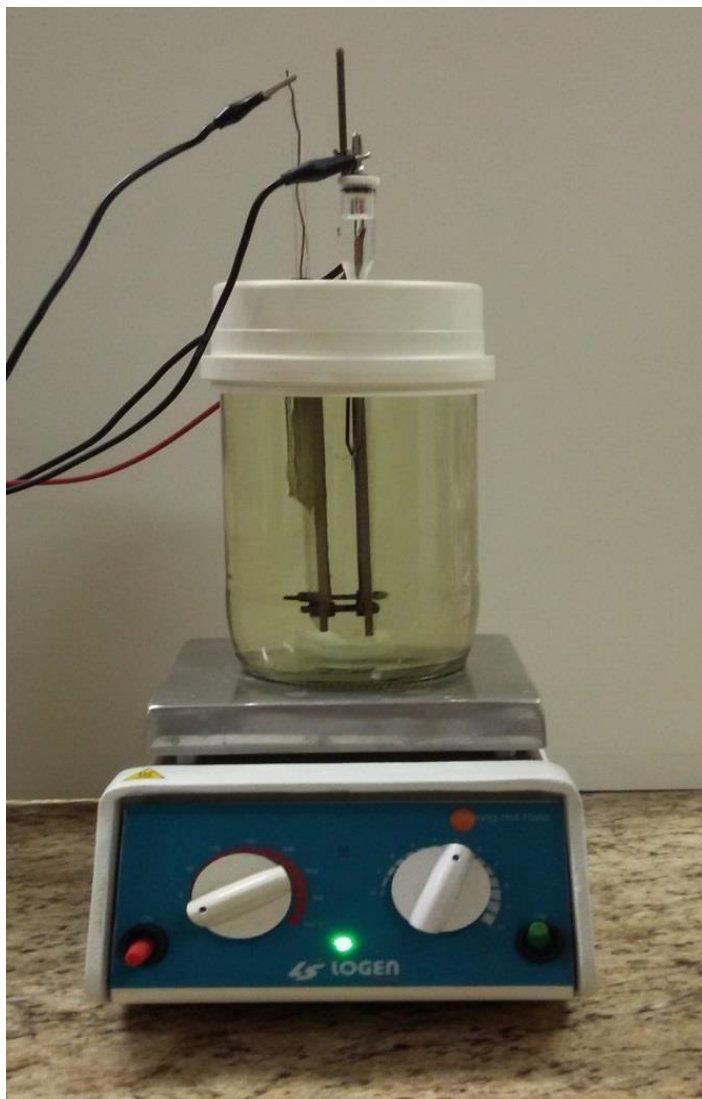
Tabela 1. Composição química do efluente sintético

Reagente	Concentração (mol L <sup>-1</sup> )
Cloreto de Sódio (NaCl)	4,30. 10 <sup>-3</sup>
Cloreto de Cálcio dihidratado (CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O)	3,06. 10 <sup>-5</sup>
Sulfato de Potássio (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1,00. 10 <sup>-2</sup>
Cloreto de Magnésio hexahidratado (MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	9,30. 10 <sup>-5</sup>
Cloridrato de Tetraciclina (C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> .HCl)	1,93. 10 <sup>-4</sup>

#### 4.2 CÉLULA ELETROLÍTICA

O reator experimental para gerar os processos eletroquímicos constitui-se de uma célula eletroquímica de 1 compartimento com capacidade de 1000 ml de solução num arranjo de 3 eletrodos, o cátodo e ânodo da célula eletrolítica e um eletrodo de Ag/AgCl(sat) como eletrodo de referência. A célula para a eletrólise foi montada com o cátodo e o ânodo espaçados de 1,0 cm entre eles, valores típicos de eletrolisadores comerciais (VIELSTICH et al., 2003). A célula eletroquímica, incluindo as conexões dos sistemas de controle de corrente e potencial, contendo o efluente artificial a ser tratado e chapa de agitação está apresentada na Figura 7.

O efluente em tratamento foi mantido em agitação constante por meio de um agitador magnético sem aquecimento ou resfriamento.



**Figura 7- Sistema de eletrooxidação, célula e agitador magnético.**  
**Fonte: Autor**

#### 4.3 MATERIAIS ELETRÓDICOS

Os eletrodos da célula eletrolítica foram montados com placas de titânio poroso sinterizado comercial adquirido da Boaji Intelle Metals CO.,Ltda. (ASTM. B265 99 – 99,5%) como cátodo e ânodo dimensionalmente estável (DSA)  $\text{Ti/Ru}_{0,3}\text{Ti}_{0,7}\text{O}_2$  fornecido pela empresa De Nora do Brasil, em formato retangular com área geométrica de  $70 \text{ cm}^2$  cada uma. As placas foram coladas em um suporte de acrílico que permite controlar o espaçamento entre os eletrodos, como mostrado na Figura 4. Antes de serem utilizadas, as faces ativas foram desengorduradas, por enxágue com acetona seguida de álcool etílico e água ultra pura.

O titânio foi escolhido como contra eletrodo por haver evidências da participação de processos catódicos na eletrooxidação de fármacos pela redução de O<sub>2</sub> no cátodo formando peróxidos radicalares (mecanismo de 2 elétrons), além do radical hidroxila e cloro formados no ânodo, espécies que contribuem para a degradação indireta do composto orgânico (FÓTI et al., 2009).

Outra peculiaridade do contra eletrodo (Cátodo), é que o material deve-se apresentar inerte e resistente à corrosão em meio alcalino, pois em altas densidade de corrente há uma pronunciada elevação do pH local na superfície do cátodo, o que promove a dissolução química do cátodo (dissolução catódica). Como exemplo, o alumínio não é adequado como cátodo por ser bastante susceptível a esse processo (ANGLADA et al., 2009).

#### 4.4 EXPERIMENTOS ELETROQUÍMICOS

Foram utilizadas as técnicas eletroquímicas de voltametria cíclica (VC) e cronoamperometria para obtenção do comportamento corrente/potencial ( $i/V$ ) do reator (BARD e FAULKNER, 2000). A técnica de voltametria cíclica é útil para uma apreciação geral do comportamento do eletrolisador. A partir do voltamograma cíclico, pode-se obter uma série de informações iniciais sobre o sistema, como as janelas de potencial onde os processos faradáicos ocorrem, bem como fornecem bons indicativos para identificação dos processos faradáicos predominantes de oxidação e redução.

Foi investigado o comportamento do sistema eletroquímico de tratamento em diversas correntes, acompanhando-se a remoção do cloridrato de tetraciclina em intervalos de tempo definidos. Durante o experimento, o potencial do eletrodo de trabalho foi registrado de forma contínua. Esse dado é importante para poder identificar ou postular as possíveis vias de mecanismos de eletrooxidação (direta ou indireta).

O experimento de voltametria cíclica foi montado utilizando um potenciostato modelo 173 PAR (Princeton Applied Research) e uma rampa PAR (modelo 173). Os sinais de potencial e corrente foram registrados através de uma placa de aquisição de dados da National Instruments (PCI-6024E) em computador.

A curva de polarização de estado (quasi) estacionário foi feita utilizando-se uma fonte de alimentação modelo HP6632A (Hewlett Packard) para controle de potencial e registro da corrente no eletrolisador, acoplada a um computador via uma interface GPIB (GPF-4301, Interface). O potencial do ânodo em relação ao eletrodo de referência será



medido por um multímetro digital (Minipa) conectado ao computador através da porta serial RS232. O potencial foi registrado após 5 minutos de polarização da corrente, tempo suficiente para garantir que os processos capacitivos, pseudo-capacitivos e o relaxamento dos processos difusionais não contribuam mais com os processos do sistema. Isto pode ser verificado pelo perfil do transiente de potencial durante a polarização.

#### 4.5 ANÁLISES UV/VIS

Foram traçados espectros na faixa de UV-Visível, assim quando a radiação incide sobre a substância, uma parte é absorvida seletivamente pela substância conforme a sua estrutura molecular e atômica. Todas as substâncias possuem níveis de energia que são uma característica específica das moléculas que a constituem. Em trabalho semelhante BUTH (2009) encontrou picos de máxima absorção em 257 e 353 nm para o cloridrato de tetraciclina e para quantificação do fármaco foi usado o segundo comprimento de onda, onde o comprimento de onda de 353 nm corresponde a estrutura fenólica.

No monitoramento dos ensaios de eletrodegradação por espectrofotometria de absorção UV-visível, as determinações espectrofotométricas foram efetuadas a temperatura ambiente, usando um espectrofotômetro da PerkinElmer Lambda 25. Os espectros foram traçados em intervalo de varrimento entre 200 a 700 nm e utilizando células de quartzo com percurso ótico de 1,00cm. As soluções analisadas foram diluídas em balão volumétrico de 10 mL, utilizando 1 mL do efluente tratado e avolumado com solução tampão correspondente ao pH do efluente tratado. O procedimento descrito foi realizado tanto para as amostras quanto para o branco.

#### 4.6 ANÁLISE CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (CLAE)

A fim de verificar quantitativamente os resultados das análises espectrofotométricas e o teor de degradação do fármaco, as amostras e padrões foram analisados no CLAE. Realizadas segundo método validado pela Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010) que consiste na aferição de uma solução padrão e uma solução referência.

As concentrações de cloridrato de tetraciclina foram determinadas utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Ultimate 3000 da Thermo Scientific) e uma coluna C-18 (Agilent, 4,6 x 150 mm) com granulometria de 5 $\mu$ m como fase estacionária (Eclipse XDB-C18). Como fase móvel foi utilizado um eluente composto por uma mistura de 70% de ácido oxálico (0,01 M), 20% de metanol e 10% de acetonitrila, com fluxo de 0,8mL min<sup>-1</sup>. O volume injetado das amostras de 20  $\mu$ L com tempo de corrida de 15 minutos. O comprimento de onda de 365 nm foi utilizado, para detecção do fármaco, com pressão do sistema constante em 58 Kgf min<sup>-1</sup> e temperatura ambiente.

#### 4.7 PARÂMETROS DE MONITORAMENTO DO EFLUENTE PRÉ E PÓS-TRATAMENTO

A Tabela 2 apresenta os parâmetros de monitoramento e os métodos utilizados, seguindo as recomendações do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012).

Os fundamentos e procedimentos envolvidos nesses métodos são discutidos nos tópicos a seguir.

**Tabela 2. Parâmetros físico-químicos estabelecidos para monitoramento do efluente**

<b>Parâmetros</b>	<b>Método analítico</b>
DQO (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	5220 D (APHA, 2012)
pH	4500 H+ B (APHA, 2012)
Condutividade (mS cm <sup>-1</sup> )	2510 A (APHA, 2012)

##### 4.7.1 pH

No tratamento físico-químico de efluentes industriais, muitos são os exemplos de reações dependentes do pH, é conhecido como um dos parâmetros mais importantes na eletrooxidação de compostos orgânicos, e seu aumento em geral implica em maiores taxas reacionais, estas observações podem ser atribuídas ao aumento de espécies oxigenadas na solução na forma de OH<sup>-</sup>, estas espécies tem papel importante no ataque químico a compostos orgânicos (MORIN et al., 1990).

Desta forma, o pH é um parâmetro importante no controle dos processos físico-químicos de tratamento de efluentes industriais. Constitui-se também em padrão de emissão de esgotos e de efluentes líquidos industriais, tanto pela legislação federal quanto pela estadual. Na legislação do Estado de São Paulo, estabelece-se faixa de pH entre 5,00 e 9,00 para o lançamento direto nos corpos receptores (artigo 18 do Decreto 8468), mesmos limites impostos pela RESOLUÇÃO CONAMA n° 357/2005.

Para verificar a influência do pH do efluente na eficiência da degradação da tetraciclina pelo processo de eletrooxidação, foram realizados experimentos variando o pH inicial de 4,00 a 9,00, conforme descrito no planejamento experimental.

#### 4.7.2 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da solução é também um parâmetro importante de ser monitorado, pois está diretamente relacionado com o a queda ôhmica no eletrolisador. Além disso, o monitoramento desse parâmetro pode servir de base para uma estimativa indireta da quantidade de sólidos solúveis ionizáveis e de fragmentos formados na eletrooxidação.

#### 4.7.3 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A demanda química de oxigênio consiste em uma técnica utilizada para a avaliação do potencial de matéria redutora de uma amostra, através de um processo de oxidação química em que se emprega o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ). Neste processo, o carbono orgânico é convertido em gás carbônico e água. A DQO é um parâmetro indispensável nos estudos de caracterização de efluentes, neste trabalho em específico é importante para verificar remoção do fármaco, sendo este a única fonte de carbono orgânico no efluente, sendo assim possível verificar indiretamente a mineralização do antibiótico.

#### 4.8 TÉCNICA DISCO-DIFUSÃO: AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE AO ANTIBIÓTICO

As escolhas das bactérias para desenvolvimento da avaliação de sensibilidade antimicrobiana estão indicadas na tabela 3. Esta foi baseada em análise das quais são mais utilizadas na rede pública de saúde, conforme ANVISA (2010) e relacionadas a cada um dos antibióticos em estudo conforme Barros et. al. (2008), CLSI (2013), HAUSER (2010) e OMS (2014).

**Tabela 3. Bactérias utilizadas para avaliar a sensibilidade do antibiótico tetraciclina**

<b>Bactéria</b>	<b>Antibióticos</b>
<i>Escherichia coli</i>	Cefalexina, Ampicilina, Tetraciclina, Vancomicina, Eritromicina.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina, Vancomicina, Eritromicina, Tetraciclina, Cloranfenicol.

Fonte: BARROS et. al. (2008); ANVISA (2010), HAUSER (2010), CLSI (2013) e OMS (2014)

Foi verificada a atividade antibacteriana do efluente bruto (E<sub>0</sub>) e dos efluentes após a eletrooxidação, a fim de avaliar se os efluentes tratados e seus produtos de degradação mantiveram ou perderam a atividade biológica. Para verificar a atividade antibacteriana das soluções, utilizaram-se os microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Os microrganismos foram inoculados em uma solução 0,85% de NaCl até atingir uma turvação equivalente à 0,5 Farland, esta solução apresenta turbidez próxima a uma densidade bacteriana de 10<sup>8</sup> UFC (unidades formadoras de colônias).

Foram semeados 50 µL dos inóculos microbianos na superfície das placas de petri contendo 20 ml de Ágar Mueller Hinton (38g L<sup>-1</sup>) com uma alça de Drigalski. Após o espalhamento, com auxílio de um furador foram formados discos de 6 mm de espessura nas placas, as amostras dos efluentes foram liofilizadas para eliminar quaisquer interferência proveniente de cloro ativo em seguida diluídas com água ultra pura na concentração de 50 µg mL<sup>-1</sup> e adicionados 5µL das amostras sobre os orifícios (discos).

Para cada bactéria selecionada um controle negativo e positivo foi inserido a placa, como controle negativo foi utilizado efluente sem a adição de antibiótico, já para controle positivo utilizou-se diferentes antibióticos, para a bactéria *Escherichia coli* o antibiótico tetraciclina na concentração de  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  e para a bactéria *Staphylococcus aureus* o antibiótico penicilina na concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em seguida as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas (Conforme especificação para cada bactéria segundo CLSI – 2013).

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada medindo a formação de halos de inibição ao redor dos locais onde foram aplicados os inóculos após o tempo de incubação, com o auxílio de uma régua mediram-se os diâmetros dos halos inibitórios ao redor de cada disco. Pela análise do tamanho do halo determinará se a bactéria é sensível ou resistente aos efluentes testados comparando com as informações de sensibilidade a antibióticos conforme instruções de CLSI (2013).

#### 4.9 TESTES DE TOXICIDADE FRENTE AO MICROCRUSTÁCEO *ARTEMIA SALINA*

Os ensaios de toxicidade sobre *Artemia salina* foram realizados através da adaptação da metodologia de MEYER et al. (1982). Preparando-se uma solução de sal marinho artificial, solubilizou-se 23 g de cloreto de sódio (NaCl), 11 g de cloreto de magnésio hexa-hidratado ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), 4 g de sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 1,3 g de cloreto de cálcio di-hidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) e 0,7 g de cloreto de potássio (KCl), em 1000 mL de água destilada. O pH ajustado entre 8,0 e 9,0, por meio de solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH. Utilizou-se esta solução para eclosão dos ovos de *Artemia salina* e no preparo das demais diluições. Cerca de 10 larvas de *A. salina* foram transferidas para tubos contendo a solução salina e efluente bruto e tratado, nas seguintes concentrações de efluente: 2, 6, 12, 18 e 24%. O ensaio foi realizado em quadruplicada de amostras, sendo a contagem dos animais mortos e vivos realizada após 24 horas. Aos dados de porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas, em relação ao aumento da concentração de efluente foi utilizado para estimar a concentração de efluente responsável por matar 50% das *Artemia salina* valor representativo da  $\text{CL}_{50}$  (concentração letal do efluente para 50% da população) calculado por método estatístico de Probit. O teste foi acompanhado de um controle negativo, somente com água salina e um controle positivo de dicromato de potássio (HASEGAWA et. al., 2014).

## 4.10 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento estatístico aplicado foi baseado no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). As variáveis independentes estabelecidas para os ensaios serão pH, corrente e tempo. De acordo com o método do DCCR, os esquemas a serem utilizados foram fatorial completo  $2^3$ , tendo três variáveis independentes. Para os ensaios foram realizados 8 ensaios nos pontos fatoriais, 6 nos pontos axiais e 4 repetições no ponto central, totalizando 18 ensaios (RODRIGUES e LEMMA, 2009).

**Tabela 4. Valores codificados do DCCR, corrente, pH e tempo de eletrooxidação para ensaios com efluente artificial dopado com cloridrato de tetraciclina.**

Ensaio	Variáveis Codificadas			Variáveis Reais		
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	Corrente (A)	Tempo (s)	pH
$n^\circ$						
E <sub>1</sub>	-1	-1	-1	0,7	2.669	5,00
E <sub>2</sub>	1	-1	-1	1,3	2.669	5,00
E <sub>3</sub>	-1	1	-1	0,7	8.731	5,00
E <sub>4</sub>	1	1	-1	1,3	8.731	5,00
E <sub>5</sub>	-1	-1	1	0,7	2.669	8,00
E <sub>6</sub>	1	-1	1	1,3	2.669	8,00
E <sub>7</sub>	-1	1	1	0,7	8.731	8,00
E <sub>8</sub>	1	1	1	1,3	8.731	8,00
E <sub>9</sub>	-1,682	0	0	0,5	5.700	6,50
E <sub>10</sub>	1,682	0	0	1,5	5.700	6,50
E <sub>11</sub>	0	-1,682	0	1,0	600	6,50
E <sub>12</sub>	0	1,682	0	1,0	10.800	6,50
E <sub>13</sub>	0	0	-1,682	1,0	5.700	4,00
E <sub>14</sub>	0	0	1,682	1,0	5.700	9,00
E <sub>15</sub>	0	0	0	1,0	5.700	6,50
E <sub>16</sub>	0	0	0	1,0	5.700	6,50
E <sub>17</sub>	0	0	0	1,0	5.700	6,50
E <sub>18</sub>	0	0	0	1,0	5.700	6,50

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

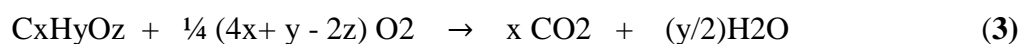
### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE SINTÉTICO

Na caracterização do efluente bruto (sem tratamento), foram realizadas análises de DQO, pH e condutividade elétrica, a tabela 5 indica os resultados para cada parâmetro.

**Tabela 5. Caracterização do efluente sintético sem tratamento**

Parâmetros	Resultados
DQO (mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	122
pH	4,02
Condutividade elétrica (mS cm <sup>-1</sup> )	30,72

Segundo Piveli e Kato (2006) a DQO teórica da solução é calculada a partir da estequiometria de sua oxidação. O valor teórico pode ser comparado com o valor experimentalmente obtido. Considerando a matéria orgânica como C<sub>x</sub>H<sub>y</sub>O<sub>z</sub>, a reação de oxidação é expressa em conformidade com a equação (3).



Assim, pode-se calcular a DQO teórica de uma solução de C<sub>x</sub>H<sub>y</sub>O<sub>z</sub> com a equação (4).

$$\text{DQO}_{\text{total}} = 8(4x + y - 2z) / (12x + y + 16z) \text{ mg de DQO} / \text{mg de C}_x\text{H}_y\text{O}_z \quad (4)$$

Para o fármaco cloridrato de tetraciclina que apresenta fórmula molecular C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, tem-se como DQO:

$$\text{DQO} = 1,51 \text{ mg.O}_2/\text{mgC}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8 \text{ (TC)} \quad (5)$$

Os cálculos para a solução de  $90\text{mg L}^{-1}$  de TC possuem uma DQO teórica de  $136,21\text{ mg O}_2\text{ L}^{-1}$ , compatível ao determinado experimentalmente.

Para o parâmetro pH, o valor 4,00 corresponde ao pH natural da solução de tetraciclina com concentração de  $90\text{ mg L}^{-1}$ . Este parâmetro é fundamental no estudo da degradação do fármaco, pois em diferentes pHs pode ocorrer modificação em sua estrutura.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DA TETRACICLINA

A tetraciclina se degrada em diferentes pHs (como observado nas figuras 3 e 4). Esta mudança é perceptível experimentalmente, pois com a elevação do pH, a coloração da solução amarelo claro se intensifica para amarelo escuro. No espectro de absorção UV/VIS (figura 8), pode-se observar duas bandas características de máxima absorção (276 e 359nm) em pH ligeiramente ácido e próximo a neutralidade, além de um deslocamento nas bandas de absorção da tetraciclina em pH básico.

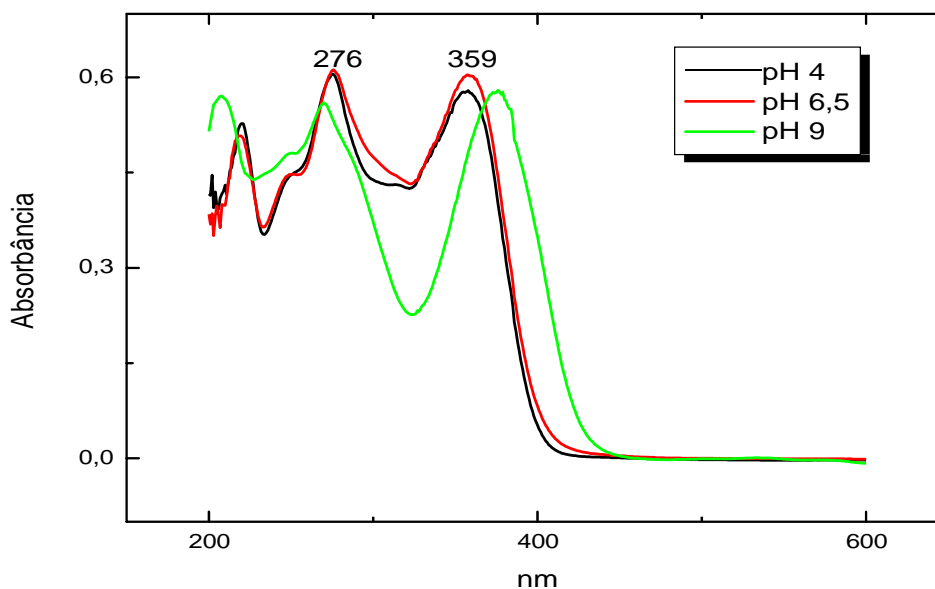


Figura 8- Espectro de absorção de soluções de tetraciclina em pH variados



### 5.3 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DA DEGRADAÇÃO DOS EFLUENTES TRATADOS

Com a finalidade de avaliar a ocorrência da degradação do antibiótico cloridrato de tetraciclina, foram realizadas varreduras espectrofotométricas para cada tratamento, em diferentes pHs, comparando-os com seus respectivos efluentes brutos (figuras 9 a 13).

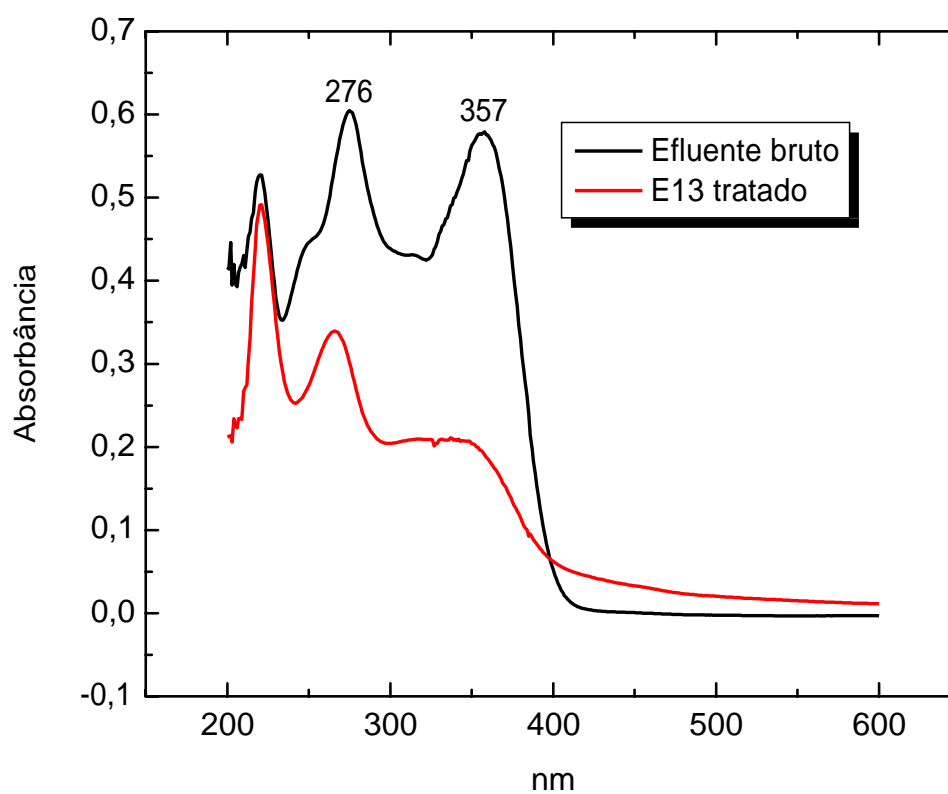


Figura 9- Espectro de absorção do efluente bruto e efluente tratado em pH 4.

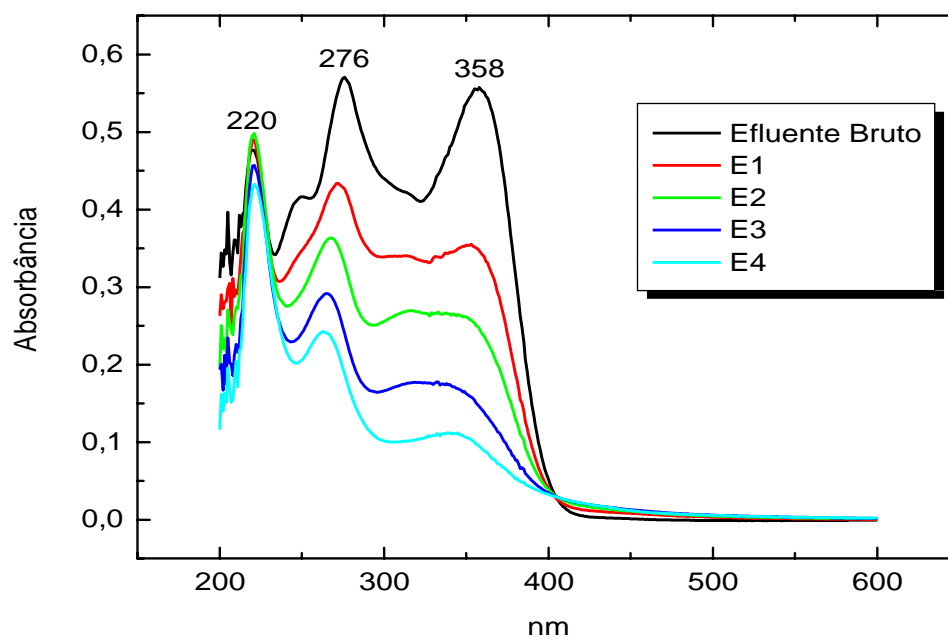


Figura 10- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 5.

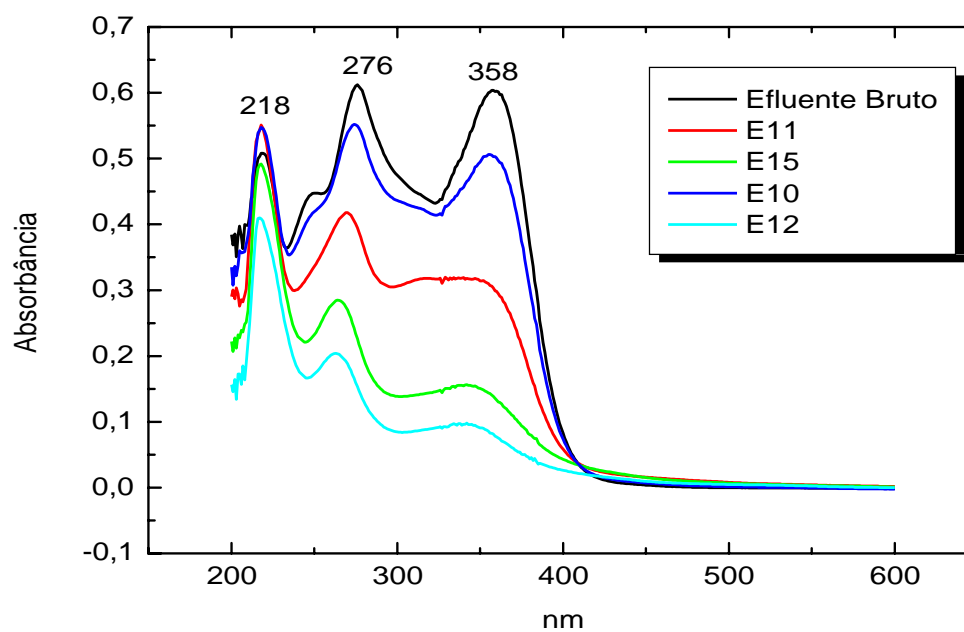


Figura 11- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 6,5.

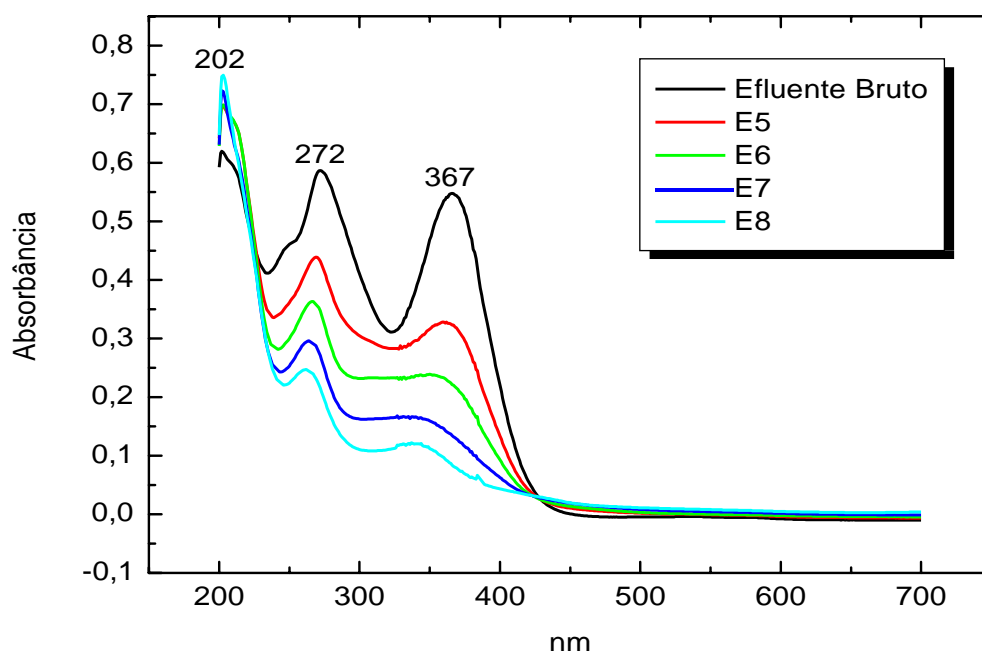


Figura 12- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 8.

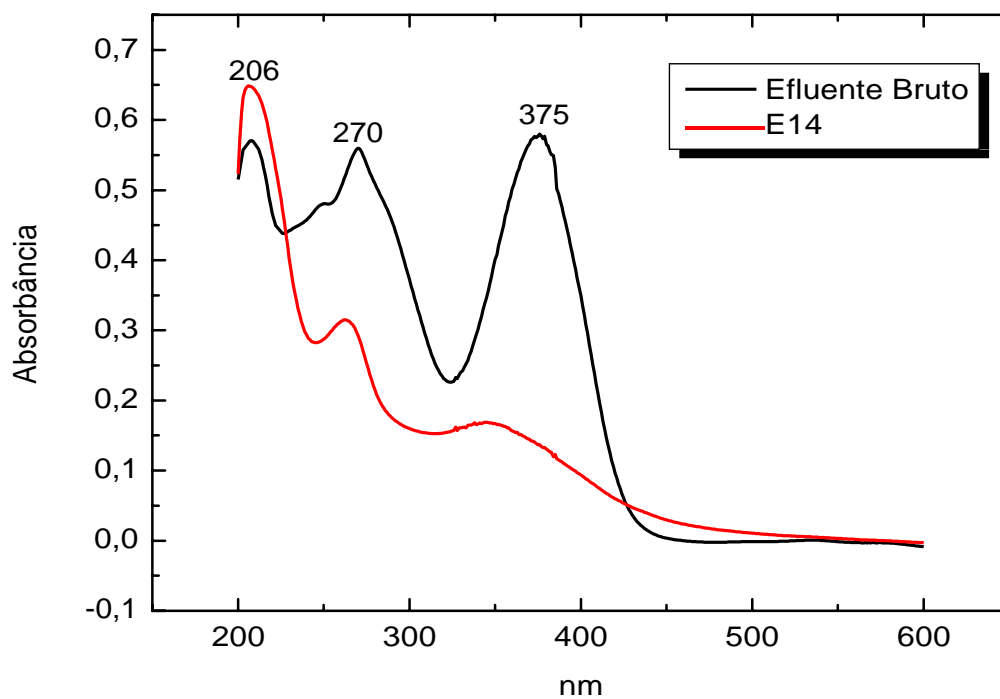


Figura 13- Espectro de absorção do efluente bruto e efluentes tratados em pH 9.

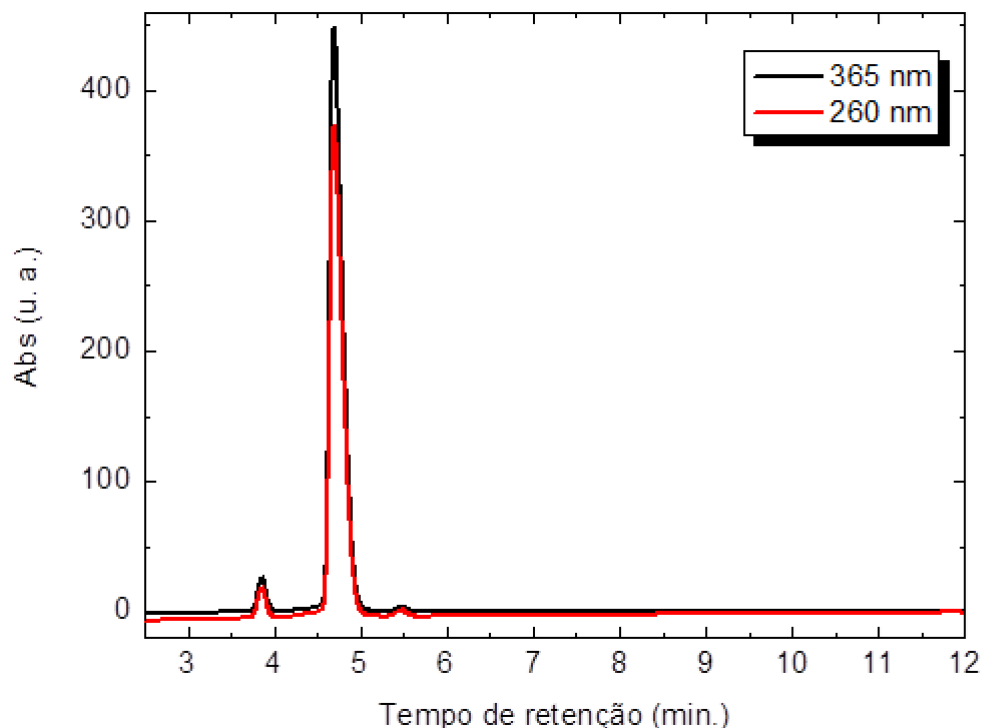
Como observado nas figuras 9 a 13, todos os efluentes tratados obtiveram decaimento das bandas de máxima absorção, caracterizando uma remoção do antibiótico; em alguns efluentes como E<sub>4</sub>, E<sub>8</sub> e E<sub>12</sub> essa remoção foi relativamente mais intensa, indicando que as condições experimentais utilizadas nesses tratamentos foram mais efetivos para a degradação da TC. Observa-se também que o pH do efluente não impediu o processo de degradação eletroquímica. A banda próxima a 350 a 380 nm é a que demonstra maior remoção, em trabalho semelhante Buth (2009) encontrou picos de máxima absorção em 257 e 358 nm para a tetraciclina e para quantificação do fármaco usou o segundo pico, pois de acordo com Wang et al. (2011), nas tetraciclinas a banda de 358 nm está associada à estrutura fenólica, enquanto que a banda de 257 nm está relacionada com a estrutura composta pelos outros 3 anéis.

Outra consideração importante a ser feita na análise por espectrofotometria no UV/VIS foi a intensificação de bandas na região do ultravioleta (UV), próximo a 200 nm (vide figuras 9 a 13). Isto se deve a possíveis fragmentos formados na degradação que possuem o processo de absorbância acentuado em comprimentos de ondas menores. Porém, essas observações serão melhor averiguadas nas análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

#### 5.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Após a confirmação por espectrofotometria de que os tratamentos apresentaram eficiência na degradação do antibiótico cloridrato de tetraciclina foram realizadas análises em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para quantificar a eficiência de remoção e verificar a formação de novos compostos secundários.

O efluente bruto foi analisado no cromatógrafo para identificar características como: tempo de retenção do fármaco, concentração de tetraciclina no efluente e presença de impurezas. A figura 14 apresenta o cromatograma do efluente sem tratamento em dois comprimentos de onde de detecção, 365 e 260 nm, respectivamente.



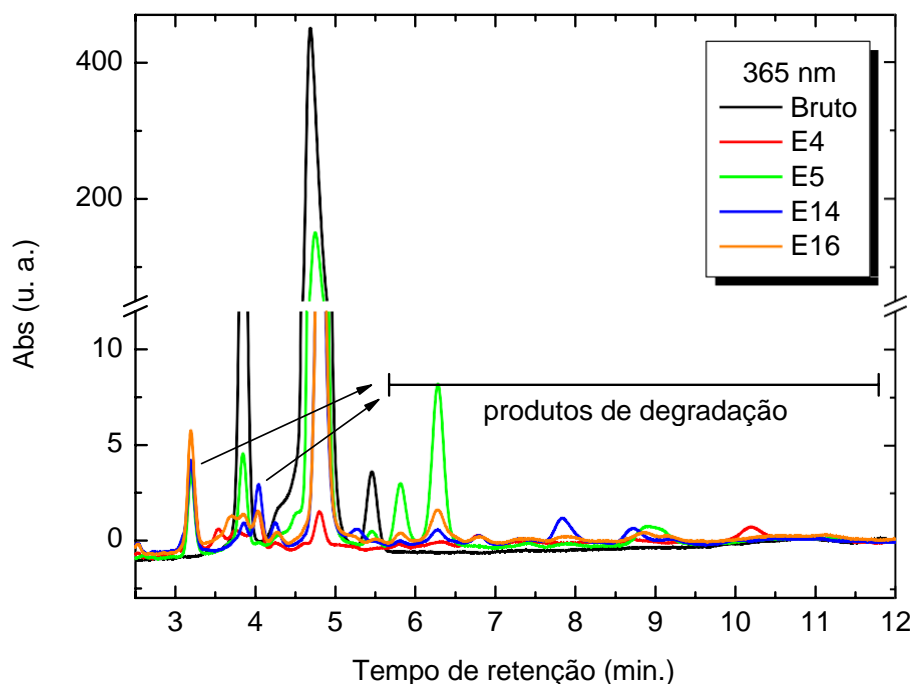
**Figura 14- Cromatograma do efluente bruto**

A tetraciclina apresentou pico de retenção em 4,7 minutos, detectados em comprimentos de onda de 365 e 260 nm. Estes comprimentos de onda foram selecionados a partir da máxima absorção na espectrofotometria UV/VIS.

Dois pequenos picos foram detectados, um em 3,84 min e outro em 5,48 min, podendo ocorrer devido a impurezas do padrão utilizado.

A partir da identificação do tempo de retenção do fármaco de estudo, os efluentes tratados foram injetados no cromatógrafo para avaliar a eficiência de remoção e a formação de novos picos de retenção característicos da formação de produtos de degradação.

A figura 15 apresenta o cromatograma do efluente bruto e dos efluentes tratados E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>, E<sub>14</sub> e E<sub>16</sub>, com comprimentos de onda de detecção de 365 nm. Estes efluentes foram selecionados por apresentarem maior formação de fragmentos na degradação.



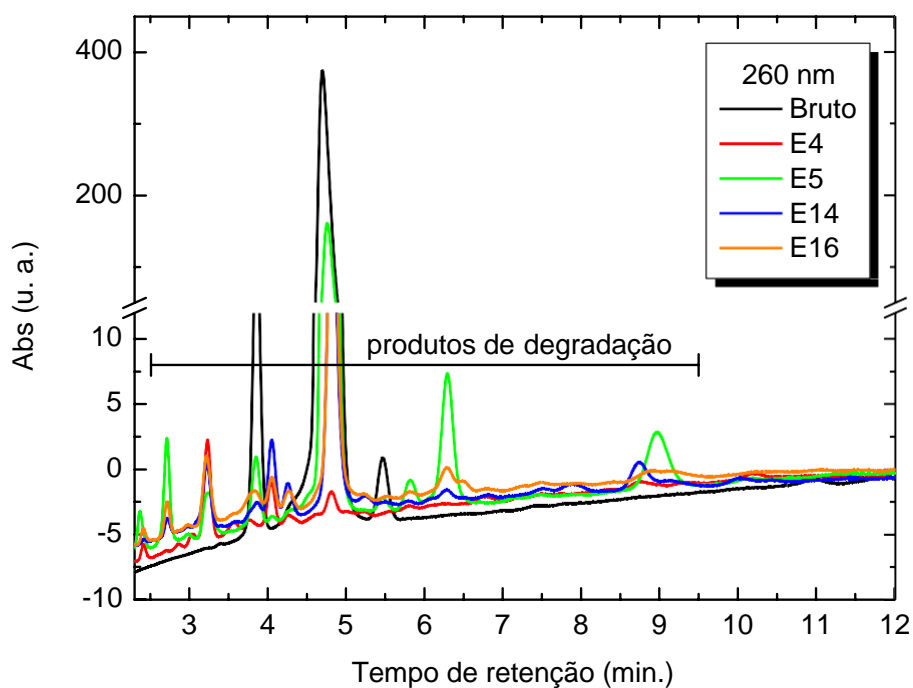
**Figura 15- Cromatograma de efluente bruto e tratados, com detecção a 365 nm**

Na figura 15, observa-se um decréscimo na intensidade do pico relativo ao antibiótico tratado (tempo de retenção a 4,7 min.), mais perceptível para o efluente E4, onde houve maior eficiência de remoção em relação aos tratamentos observados.

A partir da análise das variáveis de eletrooxidação de cada efluente tratado, pode-se observar que o aumento da corrente e do tempo de eletrooxidação contribuem para uma maior degradação do fármaco, pois o efluente E4 possui o maior tempo de eletrooxidação (8.731 seg.) e maior corrente aplicada (1,3 A) quando comparado aos tratamentos E5, E14 e E16.

Após o tratamento ocorre a formação de novos picos no cromatograma que antes não eram observáveis. Estes picos caracterizam a formação de novos produtos detectados em comprimento de onda de 365 nm.

Na análise de UV/VIS foi observado que a tetraciclina também absorve a um comprimento de onda de 260 nm. Desta forma, um cromatograma com detecção em 260 nm foi analisado para avaliar a formação de fragmentos detectáveis e não visualizados em 365 nm (vide figura 16).



**Figura 16- Cromatograma de efluente bruto e tratados, com detecção a 260 nm**

Na figura 16 podem ser observados alguns fragmentos não detectados em 365 nm devido à formação de compostos que absorvem apenas em baixos comprimentos de onda.

### 5.5 DEGRADAÇÃO DA TETRACICLINA

A concentração de tetraciclina antes e após o tratamento no efluente sintético foi caracterizada para verificar o teor de degradação do fármaco em cada ensaio do tratamento. Essa quantificação foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

**Tabela 6. Características da eletrooxidação, concentração de TC após tratamento e porcentagem de remoção do fármaco.**

Ensaio	Variáveis Experimentais			Resultados obtidos		
	Efluente	Corrente (A)	Tempo (s)	pH	Concentração TC (mgL <sup>-1</sup> )	% Remoção TC
E <sub>Bruto</sub>	--	--	--	--	87,20	--
E <sub>1</sub>	0,7	2.669	5,00	5,00	31,01	64,44
E <sub>2</sub>	1,3	2.669	5,00	5,00	16,00	81,65
E <sub>3</sub>	0,7	8.731	5,00	5,00	4,45	94,90
E <sub>4</sub>	1,3	8.731	5,00	5,00	0,064	99,93
E <sub>5</sub>	0,7	2.669	8,00	8,00	24,20	72,25
E <sub>6</sub>	1,3	2.669	8,00	8,00	14,67	83,18
E <sub>7</sub>	0,7	8.731	8,00	8,00	4,96	94,31
E <sub>8</sub>	1,3	8.731	8,00	8,00	ALD	~100
E <sub>9</sub>	0,5	5.700	6,50	6,50	20,85	76,09
E <sub>10</sub>	1,5	5.700	6,50	6,50	3,49	96,00
E <sub>11</sub>	1,0	600	6,50	6,50	47,24	45,82
E <sub>12</sub>	1,0	10.800	6,50	6,50	0,026	99,97
E <sub>13</sub>	1,0	5.700	4,00	4,00	5,91	93,22
E <sub>14</sub>	1,0	5.700	9,00	9,00	3,73	95,73
E <sub>15</sub>	1,0	5.700	6,50	6,50	4,00	95,41
E <sub>16</sub>	1,0	5.700	6,50	6,50	4,13	95,27
E <sub>17</sub>	1,0	5.700	6,50	6,50	4,40	94,96
E <sub>18</sub>	1,0	5.700	6,50	6,50	4,36	95,00

\*ALD - abaixo do limite de detecção

No planejamento experimental os pontos onde se obtiveram associados maiores tempo de eletrooxidação e maiores correntes aplicadas, foram E<sub>4</sub>, E<sub>8</sub> e E<sub>12</sub>, todos com taxas de remoção do fármaco acima de 98%.



### 5.5.1 EFEITO DA CORRENTE SOBRE O TEOR DE REMOÇÃO DE TC

Na tabela 7 é possível avaliar o efeito da corrente para o tempo de 5.700 s com pH de 6,5 sobre a porcentagem de remoção do fármaco, as maiores remoções ocorreram nas condições de alta corrente.

**Tabela 7. Efeito da corrente sobre a porcentagem de remoção de TC**

Ensaio	Variáveis Experimentais			Resultados obtidos		
	Efluente	Corrente (A)	Tempo (s)	pH	Concentração TC (mgL <sup>-1</sup> )	% Remoção TC
E <sub>9</sub>		0,5	5.700	6,50	20,85	76,09
E <sub>17</sub>		1,0	5.700	6,50	4,40	94,96
E <sub>10</sub>		1,5	5.700	6,50	3,49	96,00

Assim, para valores constantes de pH e tempo de eletrooxidação, pode-se observar um aumento da degradação da TC com o aumento da corrente aplicada.

### 5.5.2 EFEITO DO TEMPO DE ELETROOXIDAÇÃO SOBRE A TEOR DE REMOÇÃO DE TC

O tempo de eletrooxidação aplicado aos efluentes é outro parâmetro importante na remoção da tetraciclina, na tabela 8 pode-se averiguar esse efeito para o pH de 6,5 e corrente elétrica de 1,0 A.

**Tabela 8. Efeito do tempo de eletrooxidação sobre a porcentagem de remoção de TC**

Ensaio	Variáveis Experimentais			Resultados obtidos		
	Efluente	Corrente (A)	Tempo (s)	pH	Concentração TC (mg L <sup>-1</sup> )	% Remoção TC
E <sub>11</sub>		1,0	600	6,50	47,24	45,82
E <sub>17</sub>		1,0	5.700	6,50	4,40	94,96
E <sub>12</sub>		1,0	10.800	6,50	0,026	99,97

Em condições de corrente elétrica e pH constante existe uma tendência de relação direta como o tempo de eletrooxidação ( $E_{11}$ ) e a porcentagem de remoção. Ou seja, quando o tempo é reduzido a remoção é relativamente pequena e quando se aplica um tempo de 10.800 segundos ( $E_{12}$ ), ensaio com maior tempo de observação, obteve-se uma remoção próxima de 100%.

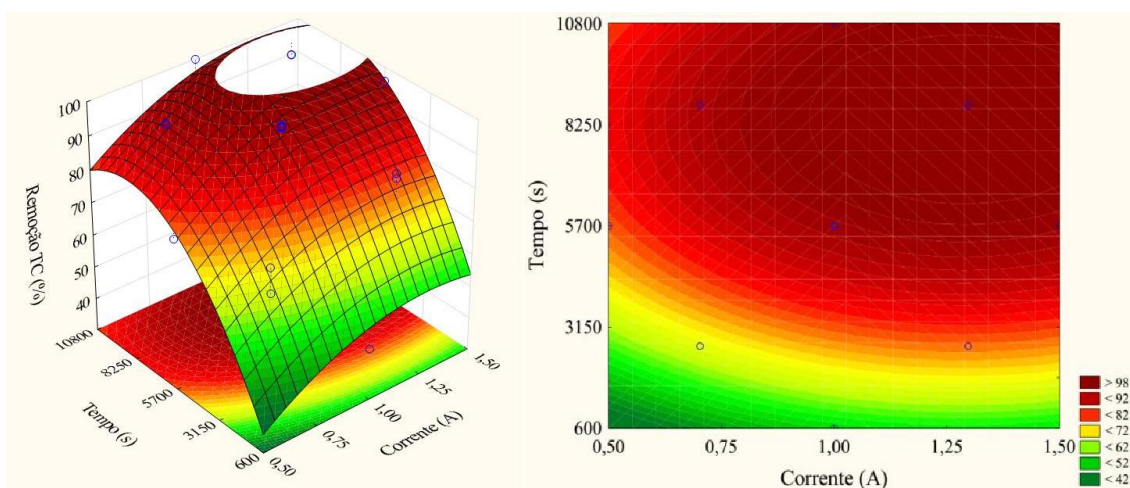
### 5.5.3 EFEITO DO pH SOBRE O TEOR DE REMOÇÃO DE TC

Ao contrário das demais variáveis, o pH não apresentou significância efetiva no processo de remoção da TC, pois a sua variação apresentou pouca alteração na porcentagem de remoção do fármaco (vide tabela 9) para a corrente elétrica de 1,0 e o tempo de 5.700 s.

**Tabela 9. Efeito do pH sobre a porcentagem de remoção de TC**

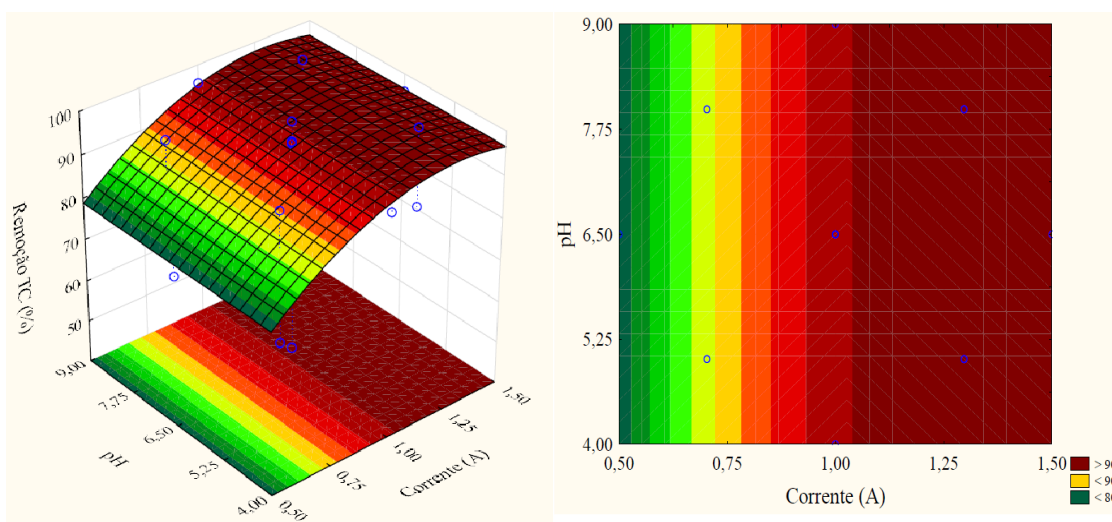
Ensaio	Variáveis Experimentais			Resultados obtidos		
	Efluente	Corrente (A)	Tempo (s)	pH	Concentração TC ( $\text{mg L}^{-1}$ )	% Remoção TC
E <sub>13</sub>		1,0	5.700	4,00	5,91	93,22
E <sub>15</sub>		1,0	5.700	6,50	4,00	95,41
E <sub>14</sub>		1,0	5.700	9,00	3,73	95,73

Essas observações iniciais podem ser averiguadas nos gráficos de curva de contorno para a variável resposta remoção de tetraciclina (Figura 17), a variável corrente elétrica e a variável tempo com significância ao nível de confiabilidade de 95%.

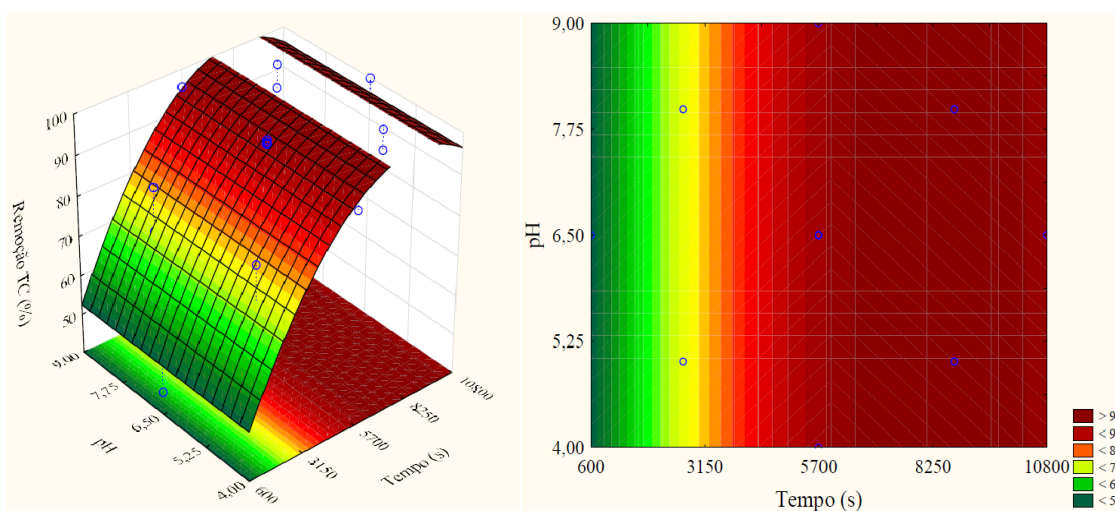


**Figura 17- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de TC (%) dos ensaios com as variáveis tempo(s) e corrente elétrica (A).**

Na figura 17, pode-se avaliar o efeito da eficiência de remoção da TC em alta corrente e tempo de eletrooxidação, observa-se também que o tempo é a variável que mais influência no processo de eletrooxidação, esta observação é melhor visualizada no gráfico de pareto (figura 22).



**Figura 18- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de TC (%) dos ensaios com as variáveis pH e corrente (A).**



**Figura 19- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de TC (%) dos ensaios com as variáveis pH e tempo (s).**

A partir dos gráficos de superfície de resposta da eficiência de remoção de tetraciclina com as variáveis corrente elétrica e tempo (figuras 18 e 19), verificou-se que o pH empregado nos processos de eletrooxidação não apresentaram nenhum efeito com relação à remoção do cloridrato de tetraciclina. A melhor faixa de eficiência na remoção do fármaco se dá em altas corrente elétrica e tempo de eletrooxidação.

## 5.6 REMOÇÃO DE DQO

A demanda química de oxigênio (DQO) é um parâmetro importante a ser avaliado na degradação de compostos orgânicos, como o cloridrato de tetraciclina, pois a partir de seus resultados pode-se estimar se o composto está sendo oxidado, ou seja, convertido a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  (mineralização) ou apenas se fragmentando em novos produtos.

A tabela 10 apresenta os ensaios e suas condições experimentais para a demanda química de oxigênio e a remoção de TC para cada tratamento.

**Tabela 10. Características da eletrooxidação, valores de DQO e sua porcentagem de remoção, após tratamento.**

Ensaio	Variáveis Experimentais			Resultados obtidos		
	Efluente	Corrente (A)	Tempo (s)	pH	DQO (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	% Remoção DQO
E <sub>Bruto</sub>	--	--	--	--	123,2	--
E1	0,7	2.669	5,00	5,00	112,09	9,01
E2	1,3	2.669	5,00	5,00	115,80	6,01
E3	0,7	8.731	5,00	5,00	110,86	10,01
E4	1,3	8.731	5,00	5,00	115,80	6,01
E5	0,7	2.669	8,00	8,00	115,80	6,01
E6	1,3	2.669	8,00	8,00	113,33	8,01
E7	0,7	8.731	8,00	8,00	119,50	3,00
E8	1,3	8.731	8,00	8,00	117,03	5,01
E9	0,5	5.700	6,50	6,50	118,26	4,01
E10	1,5	5.700	6,50	6,50	117,03	5,01
E11	1,0	600	6,50	6,50	117,03	5,01
E12	1,0	10.800	6,50	6,50	87,42	29,04
E13	1,0	5.700	4,00	4,00	117,03	5,01
E14	1,0	5.700	9,00	9,00	110,86	10,01
E15	1,0	5.700	6,50	6,50	110,86	10,01
E16	1,0	5.700	6,50	6,50	107,16	13,02
E17	1,0	5.700	6,50	6,50	110,86	10,01
E18	1,0	5.700	6,50	6,50	108,39	12,02

A partir dos dados experimentais, pode-se observar que a eficiência de remoção da DQO foi relativamente baixa, caracterizando uma baixa mineralização do efluente, ou seja, o cloridrato de tetraciclina degradado foi convertido em produtos secundários (fragmentos), mantendo sua carga orgânica.

As figuras abaixo representam as curvas de superfície resposta e curvas de contorno para o parâmetro de remoção de DQO com significância ao nível de confiabilidade de 90% nos efluentes tratados em diferentes condições experimentais.

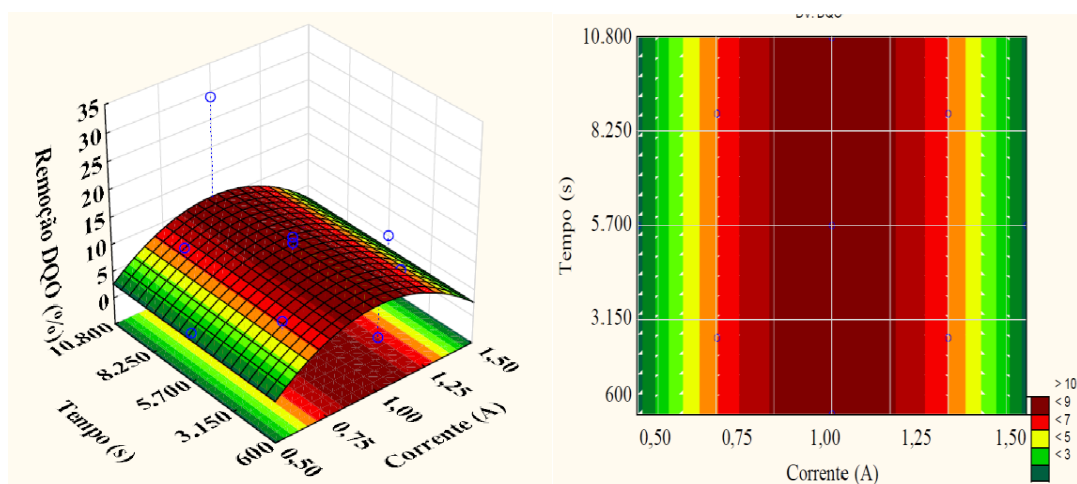


Figura 20- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de DQO (%) dos ensaios com as variáveis tempo (s) e corrente (A).

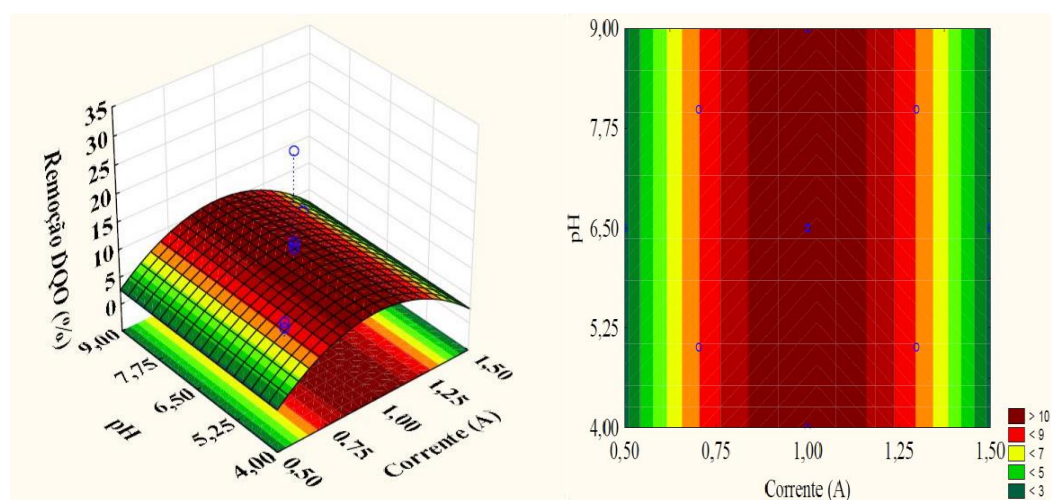


Figura 21- Superfície resposta e curvas de contorno para a Remoção de DQO (%) dos ensaios com as variáveis pH e corrente (A).

Pelos gráficos de curva de contorno e superfície resposta obtidos pelos ensaios e resultados da remoção de DQO (figuras 20 e 21), pode-se observar que a única variável que influencia na remoção de DQO é a corrente elétrica, a qual apresenta o valor de 1,0 ampere como ponto ótimo de remoção. Já as variáveis pH e tempo não influenciaram na remoção da DQO.

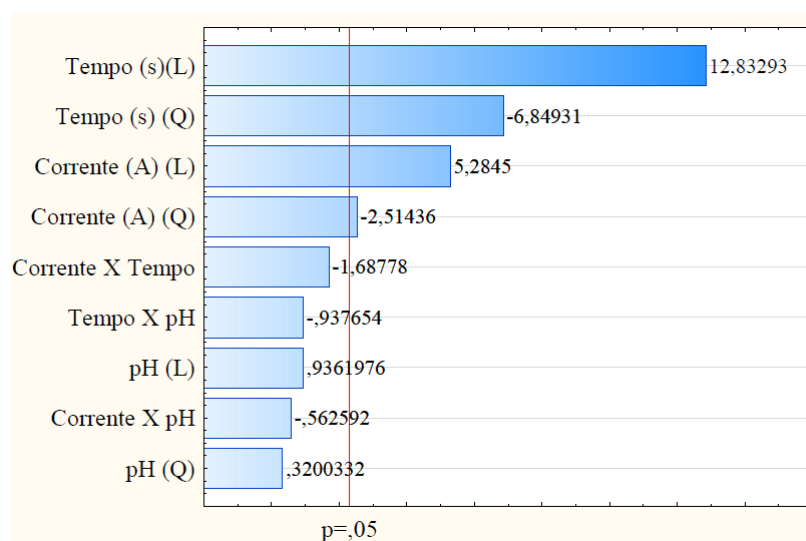
## 5.7 MODELOS MATEMÁTICOS

### 5.7.1 Validação Do Modelo Matemático Remoção de Cloridrato de Tetraciclina

O modelo matemático gerado para variável resposta remoção de cloridrato de tetraciclina está representado pela equação (6). As variáveis independentes que influenciaram significativamente na remoção deste parâmetro foram tempo linear (L) e quadrático (Q), corrente linear (L) e quadrática (Q), como verificado pelo gráfico de Pareto na Figura 22.

$$\text{Remoção de TC (\%)} = -3,564 + 78,629.x_1 - 30,480.x_1^2 + 0,0134.x_2 - 8,0529.10^{-7}.x_2^2 \quad (6)$$

Onde  $x_1$  corresponde a corrente (A) e  $x_2$  ao tempo (s).



**Figura 22.** Gráfico de Pareto para variável resposta remoção de cloridrato de tetraciclina.

A análise de variância (ANOVA) ao nível de 95% de confiança correspondente ao modelo matemático que representam a variável de remoção de cloridrato de tetraciclina indica que as variações explicadas ( $R^2 > 0,949$ ) e o F calculado são significativos ( $p < 0,00001$ ) (vide Tabela 11).

**Tabela11. Análise de variância (ANOVA) por regressão aplicada a variável resposta remoção de TC**

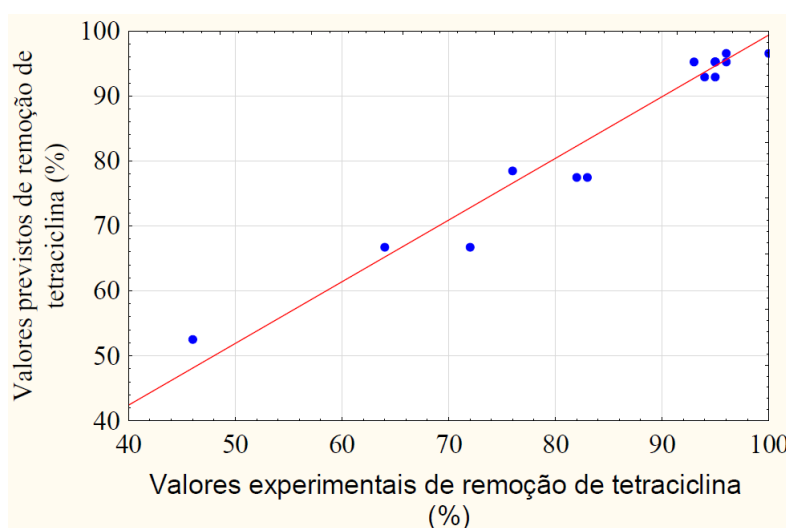
Variável resposta		<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F-valor</i>	<i>p</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>
	Regressão	4	3472,09465	868,02366	60,43920	< 0,00001	0,949
TC	Resíduo	13	186,70512	14,36193			
	Total	17	3658,79978				

**gl: Grau de liberdade**

**SQ: Soma dos quadrados**

**MQ: Média dos quadrados**

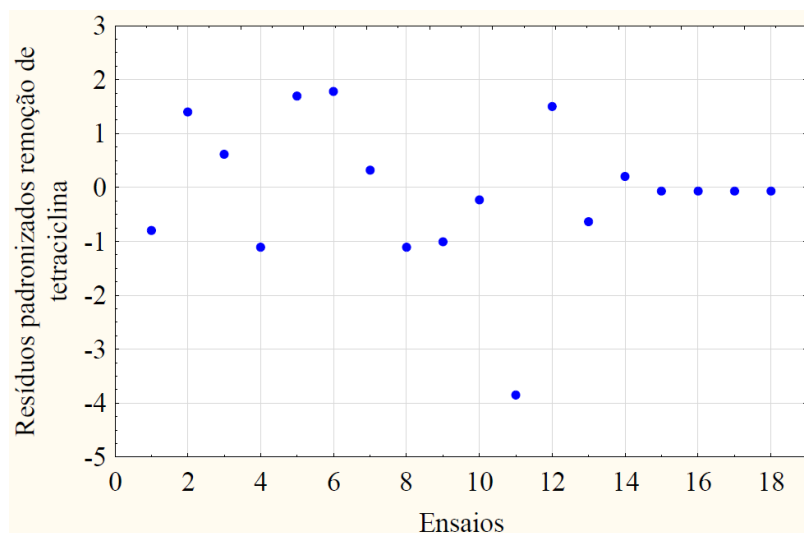
Os dados experimentais da variável resposta se ajustaram ao modelo matemático, como verificado pela Figura 23, que apresenta os resultados experimentais versus os resultados preditivos dos modelos. Os erros de ajustamento do modelo são independentes e normalmente distribuídos.



**Figura 23. Gráfico dos valores experimentais versus valores preditivos do modelo do ensaio de remoção de cloridrato de tetraciclina**

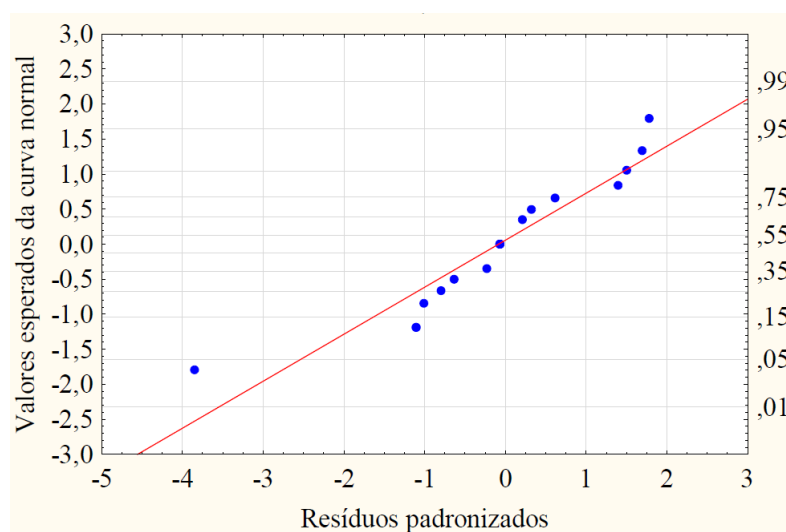
A Figura 24 mostra uma distribuição praticamente aleatória entre os resíduos dos ensaios, indicando que estes são independentes. Entretanto, verificou-se a existência de um ponto mal ajustado, o qual apresentou resíduo fora do intervalo de -2 a 2. O ponto é representado pelo ensaio E<sub>11</sub> pode ter influenciado no ajuste do modelo matemático.





**Figura 24. Gráfico dos valores dos resíduos padronizados versus os ensaios para variável remoção de cloridrato de tetraciclina**

No gráfico de normalidade (Figura 25) é possível verificar a inexistência de pontos distantes da reta, indicando a normalidade dos resíduos. Tais condições de independência e de normalidade são exigidas pelo modelo estatístico na análise de variância. Desta forma, é possível considerar que as pressuposições dos modelos matemáticos estão satisfeitas nas condições de remoção de cloridrato de tetraciclina aplicados aos ensaios deste estudo.



**Figura 25. Gráfico de distribuição dos valores dos resíduos padronizados em torno da reta que indica a normalidade para os ensaios de remoção de cloridrato de tetraciclina**

### 5.7.2 Validação Do Modelo Matemático Remoção de DQO

A variável resposta remoção de DQO é caracterizada pelo modelo matemático representado pela Equação (7). A variável independente que influenciou significativamente na remoção de DQO foi corrente quadrática (Q), como verificado pelo gráfico de Pareto na Figura (26).

$$\text{Remoção de DQO (\%)} = -21,7253 + 65,2616 x_1 - 32,6308 x_1^2 \quad (7)$$

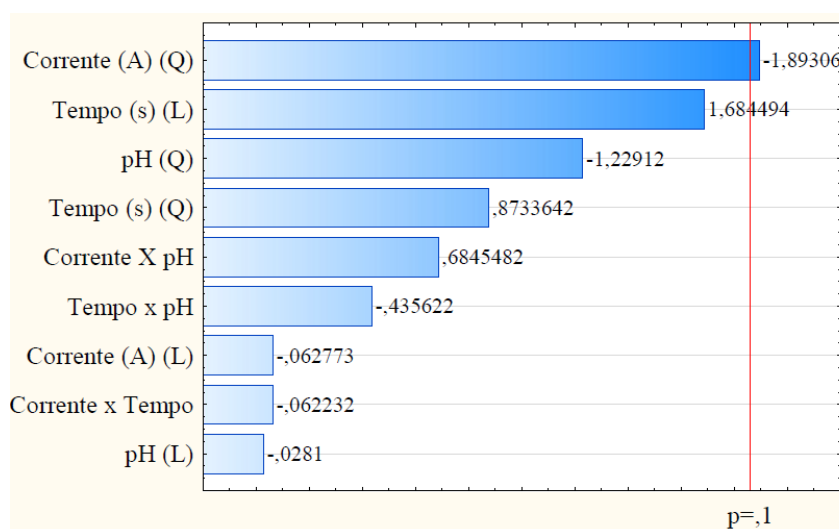


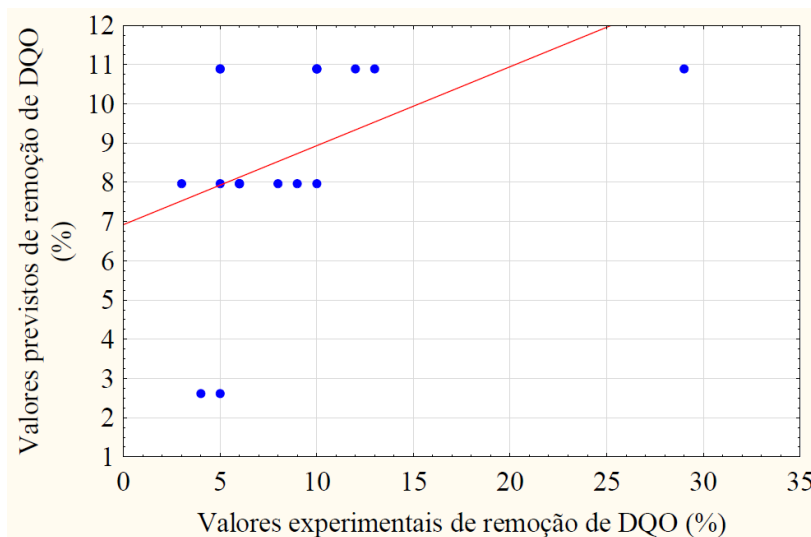
Figura 26. Gráfico de Pareto para a variável resposta remoção de DQO.

A análise de variância (ANOVA) ao nível de 90% de confiança correspondente ao modelo matemático que representam a variável de remoção de cloridrato de tetraciclina indica que as variações explicadas ( $R^2 > 0,201$ ) e o F calculado são significativos ( $p < 0,06166$ ) (vide Tabela 12).

Tabela12. Análise de variância (ANOVA) por regressão aplicada a variável resposta remoção de DQO

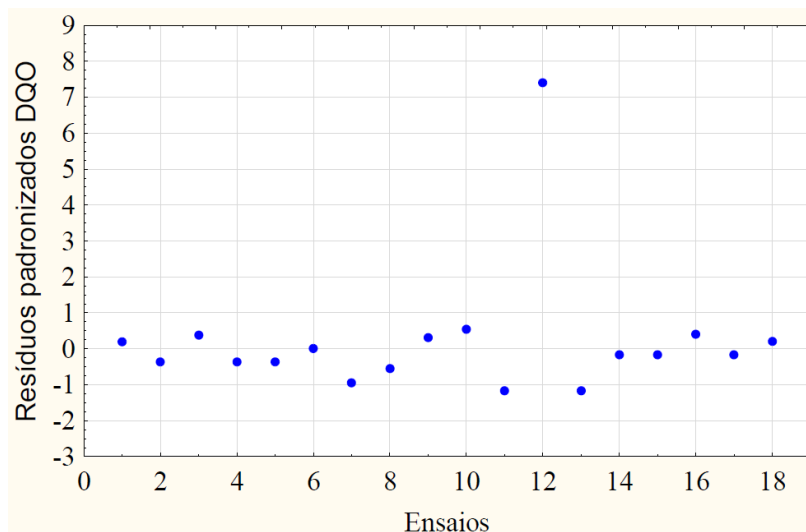
Variável resposta		<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F-valor</i>	<i>p</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
DQO	Regressão	1	117,2194	117,21943	4,03820	0,06166	0,201
	Resíduo	16	464,4422	29,02764			
	Total	17	581,6616				

Os dados experimentais da variável resposta não apresentaram ajustamento adequado ao modelo matemático, como verificado pela Figura 27, que apresenta os resultados experimentais versus os resultados preditivos dos modelos.



**Figura 27. Gráfico dos valores experimentais versus valores preditivos do modelo do ensaio de remoção de DQO**

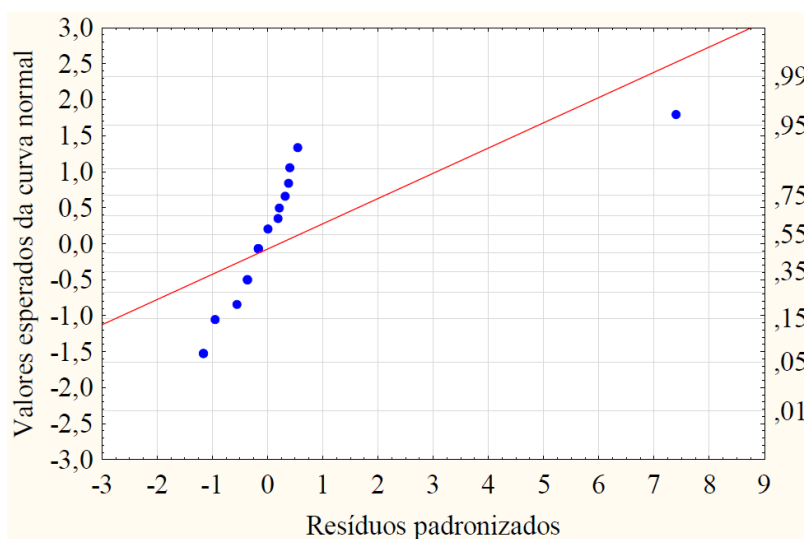
A Figura 28 mostra uma distribuição praticamente aleatória entre os resíduos dos ensaios, indicando que estes são independentes. Entretanto, o ponto representado pelo ensaio E<sub>12</sub> se mostrou atípico.



**Figura 28. Gráfico dos valores dos resíduos padronizados versus os ensaios para a variável remoção de DQO**

No gráfico de normalidade da Figura 29 é possível verificar a inexistência de pontos distantes da reta, indicando a normalidade dos resíduos. Tais condições de

independência e de normalidade são exigidas pelo modelo estatístico na análise de variância. Desta forma, é possível considerar que as pressuposições dos modelos matemáticos estão satisfeitas nas condições de remoção de cloridrato de tetraciclina aplicados aos ensaios deste estudo.

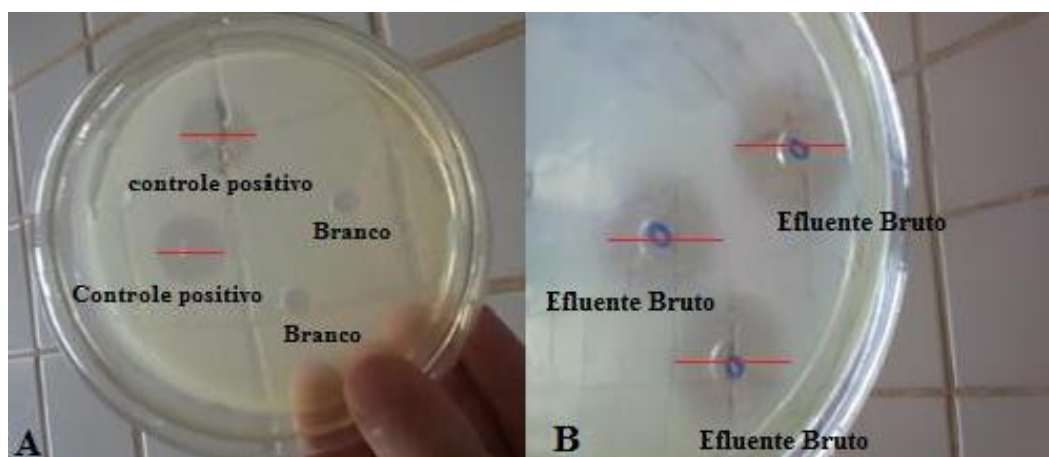


**Figura 29. Gráfico de distribuição dos valores dos resíduos padronizados em torno da reta que indica a normalidade para os ensaios de remoção de DQO**

## 5.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EFLUENTES TRATADOS

Com a finalidade de avaliar a remoção do cloridrato de tetraciclina no efluente e a capacidade dos metabólitos de inibir o crescimento das bactérias, foi realizado o teste antibacteriano usando a metodologia de disco difusão.

A figura (30-A) apresenta a placa com os halos formados por um controle positivo, onde foi utilizado uma solução de cloridrato de tetraciclina na concentração de  $50\mu\text{g mL}^{-1}$ , seguido de um teste branco, sem a presença de antibiótico.



**Figura 30. Placa de teste disco difusão com a bactéria *Escherichiacoli*. A) Controle positivo e branco e B) Efluente bruto**

Como exposto pela figura 30-(A), houve a formação de halo de inibição médio de 20 mm, para o controle positivo, caracterizando a atividade antibiótica do cloridrato de tetraciclina para a bactéria *Escherichia coli*, já no orifício adicionado efluente sem cloridrato de tetraciclina (branco), a bactéria conseguiu se desenvolver sem a formação de halo de inibição.

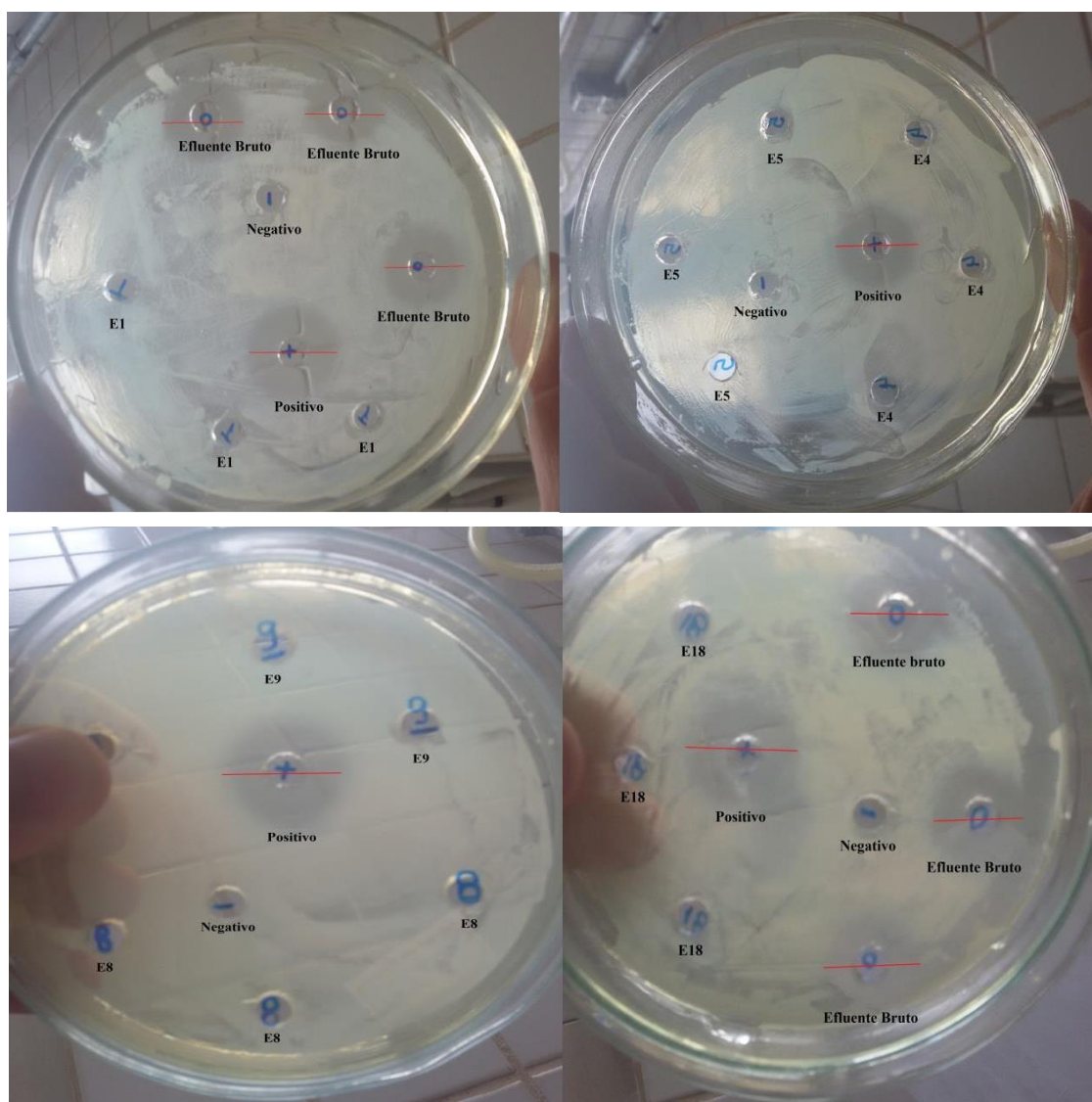
A figura 30-(B), apresenta o efluente bruto com TC (efluente sem tratamento), aplicado na mesma concentração do controle positivo ( $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Neste caso, houve a formação de halo de inibição de igual diâmetro do controle positivo, caracterizando a atividade antibiótica do efluente sem tratamento para a bactéria *Escherichia coli*.

Guerra de Oliveira et al. (2006), em seu trabalho para avaliar a interferência da atividade antimicrobiana de óleos essenciais em alguns antibióticos, utilizou a tetraciclina como controle positivo para a bactéria *Escherichia coli*, na concentração de  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ , observando a formação do halo de inibição de 24 mm, valor condizente ao encontrado neste estudo.

Além disso, foram realizados os ensaios para todos os efluentes tratados, e mesmo os efluentes que não apresentaram total remoção do fármaco, não formaram halos de inibição para as bactérias testadas *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

O decréscimo da atividade bacteriana do efluente e foi observado pela ausência do halo de inibição, após o tratamento (Figura 31).

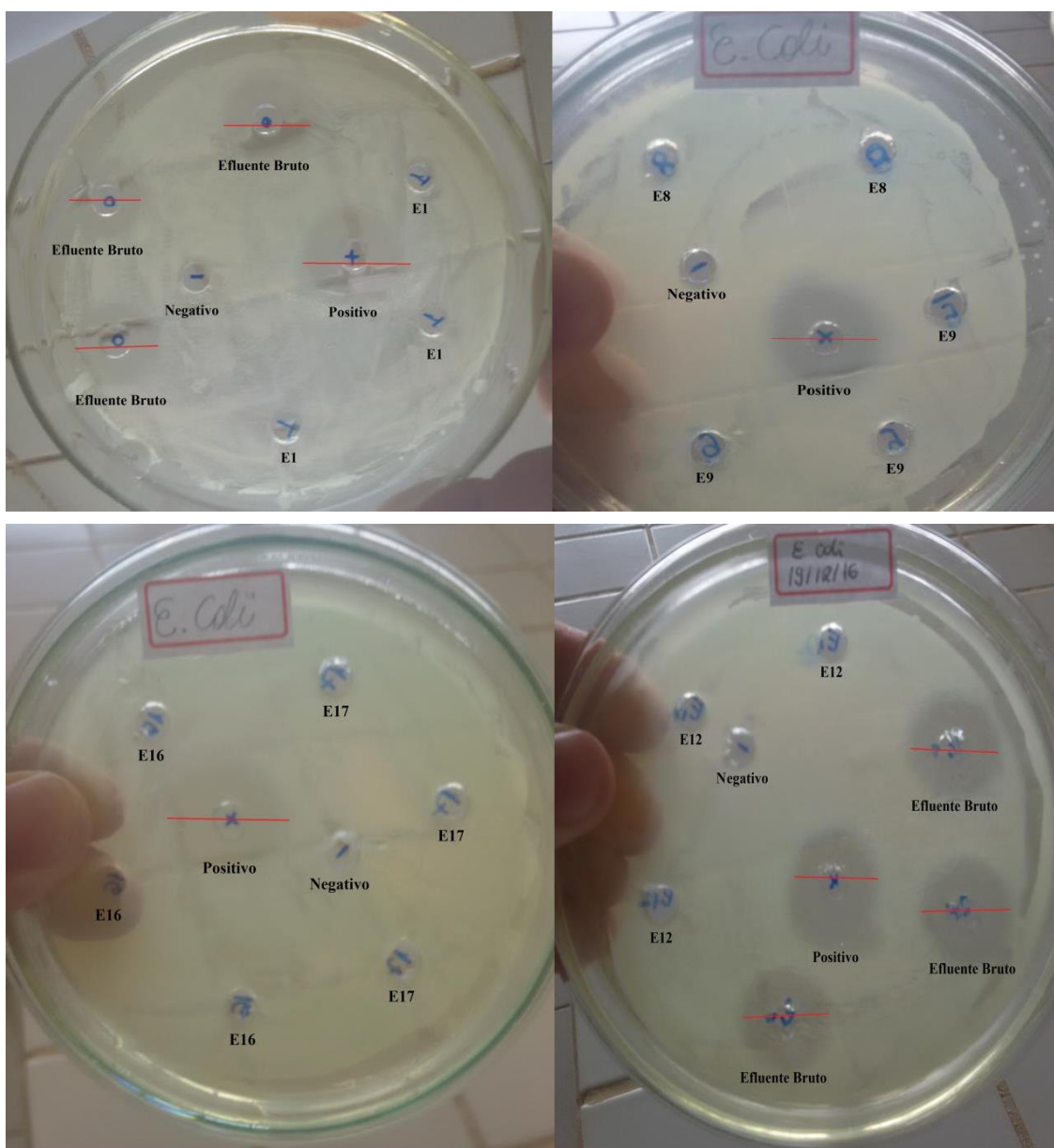
As figuras 31 e 32 mostram os efeitos dos efluentes nas placas para as duas bactérias selecionadas no estudo.



**Figura 31-** Placas de teste disco difusão realizado com a bactéria *Staphylococcus aureus*, para efluente bruto, com presença de controle negativo e controle positivo.

Na figura 31, pode-se observar que para os efluentes tratados não houve a formação de halos inibitórios, afirmando que perderam seu poder antibacteriano para a *Staphylococcus aureus*, enquanto que para o controle positivo (Penicilina  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e o efluente bruto apresentaram atividade antibiótica, com a formação de halo de inibição de 21 mm para o controle positivo e de 19 mm para o efluente bruto, caracterizando a sensibilidade do micro-organismo quando exposto ao efluente bruto e a Penicilina.

Em trabalho semelhante, o antibiótico Ampicilina foi utilizado como controle positivo na mesma concentração e verificou a formação de halo de inibição de 18 mm (GERRA DE OLIVEIRA et al., 2006).



**Figura 32-** Placas de teste disco difusão realizado com a bactéria *Escherichia coli*, para efluente bruto, tratados, controle negativo e controle positivo.

A figura 32 apresenta os efluentes tratados para a *Escherichia coli*. Também, não houve a formação de discos de inibição, já o controle positivo (Tetraciclina  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e o efluente bruto apresentaram atividade antibiótica, observada pela formação de halo de inibição de 20 mm para ambos.

Este teste é de suma importância para o trabalho proposto, pois além de observar a ausência da atividade antibiótica dos efluentes tratados, pode-se constatar que as substâncias geradas após o tratamento não apresentaram capacidade bacteriana.

## 5.9 TOXICIDADE DO EFLUENTE FRENTE AO MICROCRUSTÁCEO *ARTEMIA SALINA*

Os testes de toxicidade com *Artemia salina* foram realizados visando a avaliação dos efeitos tóxicos em sistemas biológicos aquáticos causados por efluentes sanitários com tetraciclina sem tratamento e após o tratamento eletroquímico. Assim, foram realizadas várias diluições (2, 6, 12, 18 e 24%) do efluente bruto e tratado para determinar a CL<sub>50</sub> (concentração letal para matar 50% da população do microcrustáceo) a fim de determinar a influência da remoção do antibiótico cloridrato de tetraciclina sobre a toxicidade do efluente e seus produtos de degradação.

**Tabela 13. Características da eletrooxidação, DL<sub>50</sub> e porcentagem de remoção da TC**

Ensaio	Variáveis Experimentais			Resultados obtidos	
	Efluente	Corrente (A)	Tempo (s)	pH	DL <sub>50</sub> (%)
E <sub>Bruto + TC</sub>	--	--	--	5,18	--
E <sub>1</sub>	0,7	2.669	5,00	5,44	64,44
E <sub>2</sub>	1,3	2.669	5,00	5,55	81,65
E <sub>3</sub>	0,7	8.731	5,00	5,88	94,90
E <sub>4</sub>	1,3	8.731	5,00	6,21	99,93
E <sub>5</sub>	0,7	2.669	8,00	5,42	72,25
E <sub>6</sub>	1,3	2.669	8,00	5,48	83,18
E <sub>7</sub>	0,7	8.731	8,00	5,87	94,31
E <sub>8</sub>	1,3	8.731	8,00	6,82	~100
E <sub>9</sub>	0,5	5.700	6,50	5,64	76,09
E <sub>10</sub>	1,5	5.700	6,50	5,79	96,00
E <sub>11</sub>	1,0	600	6,50	5,22	45,82
E <sub>12</sub>	1,0	10.800	6,50	6,01	99,97
E <sub>13</sub>	1,0	5.700	4,00	5,75	93,22
E <sub>14</sub>	1,0	5.700	9,00	5,74	95,73
E <sub>15</sub>	1,0	5.700	6,50	5,75	95,41
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	--	--	--	15,38 *	--

\* mg L<sup>-1</sup>



No caso do ensaio realizado apenas com a diluição do efluente bruto (sem tratamento), a  $CL_{50}$  determinada foi de 5,18%, (vide tabela 13), caracterizando um efluente não tóxico para a *Artemia salina*, assim como todos os efluentes após o tratamento. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estabeleceu-se uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média,  $CL_{50}$ , apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *Artemia salina*. Então, considera-se atóxicos valores acima de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , ou seja 0,1% (MEYER et al., 1982).

Como observado na tabela 12, todos os efluentes tratados reduziram sua toxicidade para a *Artemia salina*, porém, para os efluentes E<sub>4</sub>, E<sub>8</sub> e E<sub>12</sub> que apresentaram uma remoção expressiva do cloridrato de tetraciclina, a índices próximos de 100% de remoção, suas toxicidades foram pouco reduzidas com valores de  $DL_{50}$  de 6,21; 6,82 e 6,01, respectivamente. Isto pode estar associado aos subprodutos gerados na eletrooxidação do efluente. Estes subprodutos de degradação podem ser tão tóxicos quanto o fármaco de origem, pois existem várias interações com os ecossistemas a partir das atividades metabólicas desses produtos.

Foram realizadas análises do efluente sintético sem a adição do antibiótico cloridrato de tetraciclina e não foram evidenciados mortalidade do microcrustáceo *Artemia salina*, caracterizando dessa forma que a toxicidade do efluente está relacionada ao antibiótico e seus produtos de degradação.

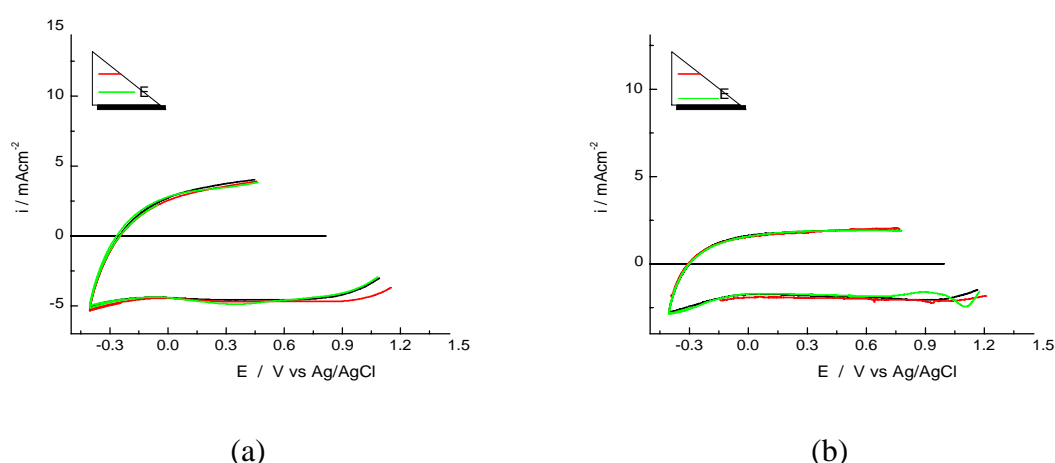
Para todos os efluentes testados, um controle positivo contendo apenas dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) em água pura foi realizado, obtendo-se um  $DL_{50}$  de  $15,38 \text{ mg L}^{-1}$ , sendo este tóxico a *Artemia Salina*, em testes realizados valores similares foram determinados com  $DL_{50}$  variável de 20 a  $40 \text{ mg L}^{-1}$  (SAM, 1993).

## 5.10 CARACTERIZAÇÕES ELETROQUÍMICAS

O comportamento dos eletrodos utilizados na eletrooxidação da tetraciclina foi estudado utilizando-se técnicas eletroquímicas clássicas como voltametria cíclica e levantamento das curvas de polarização, durante o qual as curvas de corrente em função do tempo – cronoamperometria – também foram registradas. Os experimentos eletroquímicos forma realizados com as soluções de trabalho de efluente sintético + TC 90 mg/L nos pHs 4,00; 6,50 e 9,00 exatamente como nos experimentos de eletrólise. Os resultados obtidos foram analisados comparativamente àqueles obtidos com soluções de

efluente sintético sem a TC, para fins de se identificar possíveis processos eletroquímicos envolvendo a participação direta da TC. Para análise de possíveis efeitos oriundos da presença de íons cloreto no efluente sintético (aproximadamente  $0.005 \text{ mol L}^{-1}$ ), também foram realizados experimentos utilizando-se soluções de sulfato de potássio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (correspondente à mesma força iônica do efluente sintético) nos 3 diferentes pHs. Foi utilizado o eletrodo de  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{(\text{sat})}$  como eletrodo de referência para realização dos experimentos eletroquímicos, ao qual todos os potenciais são referidos quando não expressamente indicada outra escala. Nos experimentos com o eletrodo DSA, as densidades de corrente foram calculadas pela área geométrica do eletrodo ( $70 \text{ cm}^2$ ).

A figura 33a e 33b apresenta os voltamogramas dos eletrodos de DSA para soluções de sulfato, efluente sintético e efluente sintético + TC  $90 \text{ mg L}^{-1}$ , todos em pH 4,00 com velocidades de varredura de  $50 \text{ mVs}^{-1}$  e  $20 \text{ mVs}^{-1}$ , respectivamente.

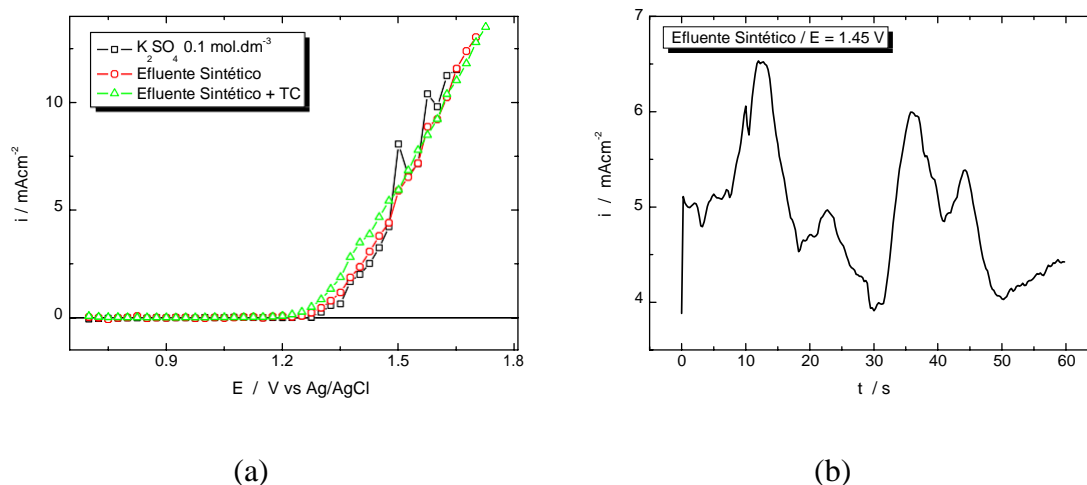


**Figura 33- Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $\text{K}_2\text{SO}_4 0.1 \text{ mol.dm}^{-3}$ ) em pH 4,00 com velocidades de varredura de (a)  $50 \text{ mVs}^{-1}$  e (b)  $20 \text{ mVs}^{-1}$ .**

Os voltamogramas da figura 33 mostram que o eletrodo de trabalho apresenta uma janela de potencial de  $-0.3$  a  $1.3 \text{ V}$  entre os processos faradáicos associados à reação de desprendimento de hidrogênio (RDH) no lado catódico e reação de desprendimento de oxigênio (RDO) no lado anódico (KOKOULINA e BUNAKOVA, 1984). Nos eletrodos DSA, os processos pseudo-capacitivos associados à redução e oxidação dos óxidos superficiais estão presentes em toda faixa de potencial, superpostos aos processos capacitivos e nas regiões dos processos faradáicos. A presença de íons cloreto e/ou TC não resulta em nenhuma alteração perceptível nos perfis voltamétricos relativamente ao eletrólito base (sulfato), indicando que os processos de adsorção/desorção de cloreto e TC não ocorrem, ou ocorrem com extensão desprezível

na região capacitiva para as concentrações utilizadas, o que já era esperado para superfícies de óxidos. Nos 3 meios distintos, a RDO começa a ser observada para potenciais acima de 1.3 V, não havendo nenhuma evidência da participação apreciável dos íons cloreto ou da TC em processos faradáicos de eletrooxidação direta nem da TC nem de íons cloreto (evolução de cloro) nas concentrações utilizadas. Entretanto, a ocorrência destes processos de eletrooxidação direta não pode ser descartada de forma definitiva. De fato, devem estar acontecendo de forma imperceptível nesses experimentos e um de seus efeitos indiretos pode estar relacionado com as instabilidades (oscilações) de corrente observadas nos voltamogramas em meio efluente sintético com e sem TC nas regiões de altas correntes anódicas. As instabilidades persistem ainda no início das varreduras catódicas por algum tempo conforme mostra a Figura 33a. O fato da região acima de 1.3 V corresponder aos processos faradáicos da RDO é ainda confirmado pela observação de que a corrente nessa região não depende da velocidade de varredura, indicando um processo faradáico não sujeito a limitações por difusão, como esperado para a RDO.

As curvas de polarização para o eletrodo DSA nos 3 diferentes meios em pH 4 são mostradas na Figura 34a. As curvas de polarização praticamente se superpõem aos voltamogramas da Figura 33 na região anódica, tanto em valores de potencial como de corrente. As curvas de polarização são bastante coincidentes, reforçando a pouca importância relativa de processos faradáicos envolvendo diretamente a TC ou íons cloreto nessa faixa de concentração. Em geral, as curvas apresentam uma característica linear no comportamento  $i \times E$ , indicativo de que o processo de transferência de carga é controlado por queda ôhmica no interior do filme de  $\text{RuO}_2\text{-TiO}_2$  (TRASATTI, 1987) na faixa de corrente  $1 - 10 \text{ mA cm}^{-2}$ . A influência indireta da presença de cloreto no meio na estabilidade da corrente de oxidação pode ser observada na cronoamperometria à 1,45 V para a solução de efluente sintético mostrada na figura 34b.



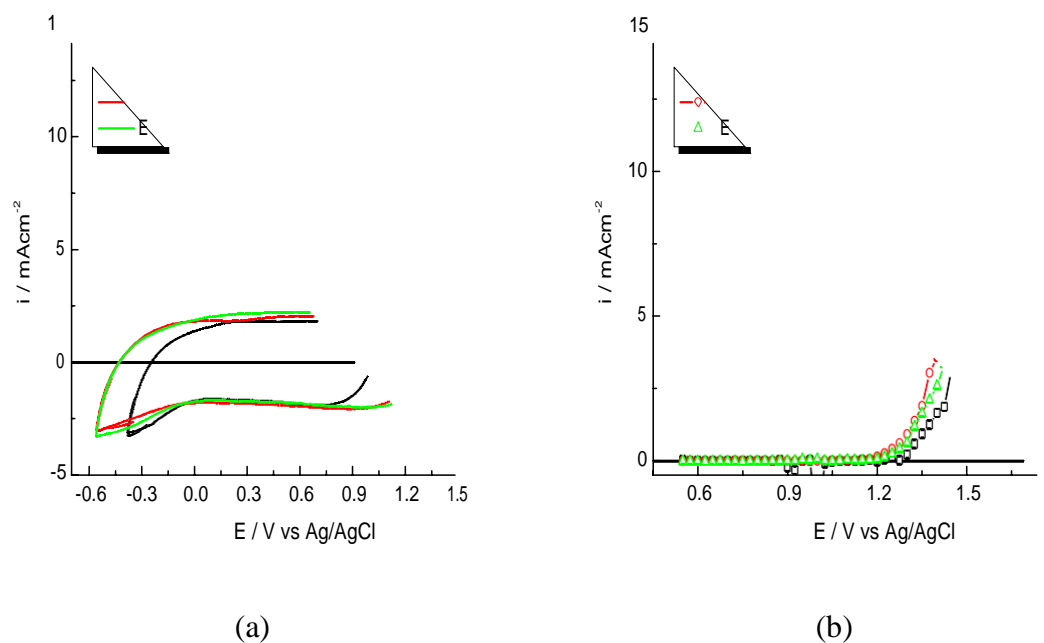
**Figura 34- Curva de polarização para o eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $K_2SO_4 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ ) em pH 4,00 (a). Variação da corrente ao longo do tempo para na presença de íons cloreto (efluente sintético) para o potencial de 1,45 V.**

Os comportamentos voltamétrico e de polarização do eletrodo DSA nas soluções com pH 6,50 (Figura 35) mostraram se muito semelhantes àqueles observados para pH 4,00, tanto nos valores de potencial como de corrente. Na Figura 35a, o voltamograma em meio sulfato mostrou perfil diferente quanto à janela de potencial, mas isso pode ser atribuído à problemas experimentais associados ao condicionamento prévio do eletrodo que ficou por longo tempo exposto à solução contendo cloreto e TC durante vários dias entre a realização de experimentos sucessivos. Provavelmente nesse caso, a estrutura porosa do DSA absorveu grandes quantidades de íons cloreto que não puderam ser removidos durante a varredura cíclica de potencial. De fato, a presença de contaminação por cloreto nesse voltamograma pode ser deduzida pela instabilidade observada no início da varredura catódica em altos potenciais, comportamento típico na presença de cloreto conforme discutido anteriormente.

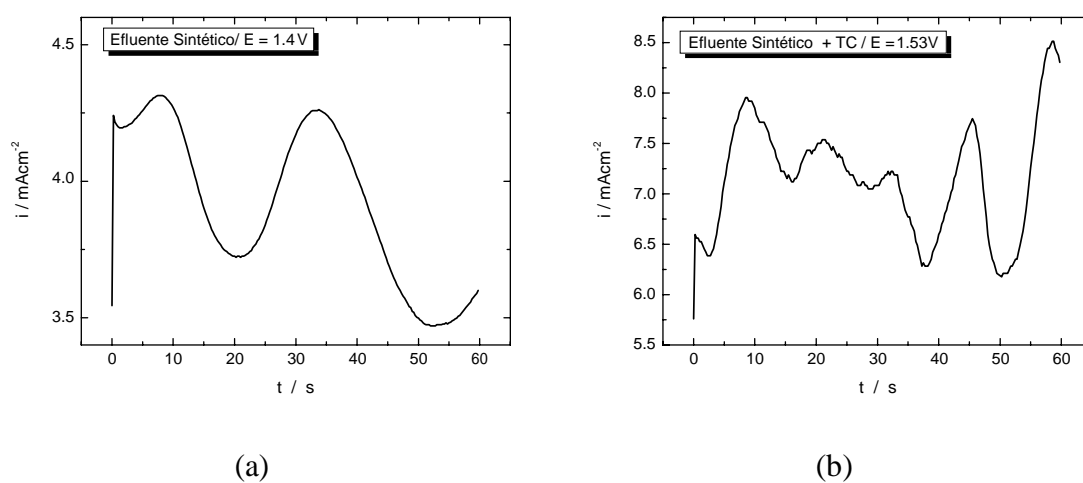
Esse problema só foi detectado após a realização do experimento. Dessa forma, o voltamograma em meio sulfato pH 6,50 da Figura 35a não é representativo desse meio, tendo sido apresentado aqui apenas por questão de completude dos dados experimentais.

Esse problema não resultou em distorções nos experimentos de polarização estacionária (Figura 35b), e a curva para a solução de sulfato mostra o início dos processos relacionados à RDO ocorrendo no mesmo potencial que para as demais soluções de pH 6,50. A polarização em potenciais bastante positivos por longo tempo deve ter consumido o excesso de íons cloreto, restaurando as características normais da

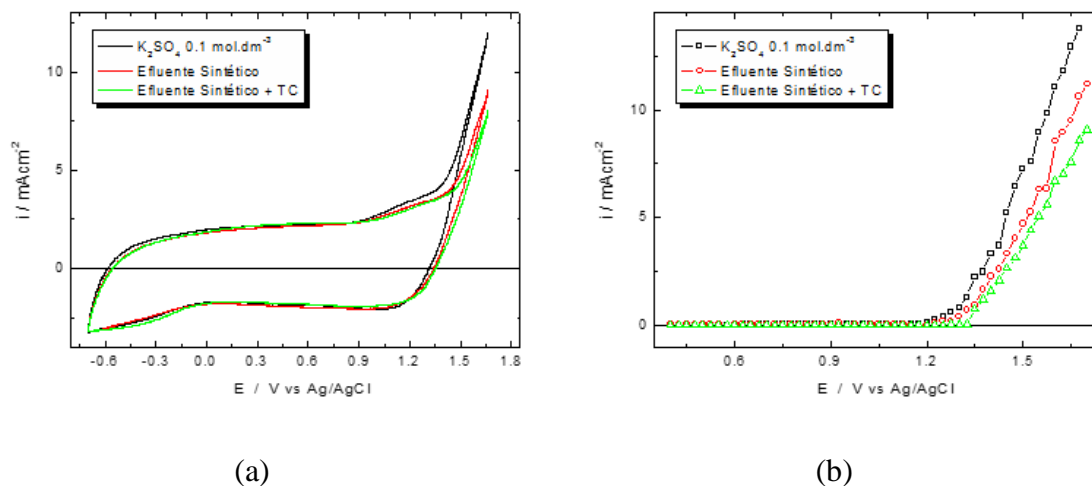
superfície no meio sem cloreto ou tetraciclina. A eliminação da contaminação por íons cloreto é evidenciada também pelo fato da curva de polarização em meio sulfato não apresentar ruídos devido a instabilidades de corrente, enquanto as curvas de polarização nos meios contendo cloreto da Figura 35b apresentam ruídos devido às instabilidades registradas nas curvas de corrente em função do tempo (mostradas na Figura 36).



**Figura. 35-** (a) Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $\text{K}_2\text{SO}_4 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ ) em pH 6,50 com velocidades de varredura de  $20 \text{ mVs}^{-1}$ . (b) Curva de polarização do eletrodo DSA nas mesmas soluções.

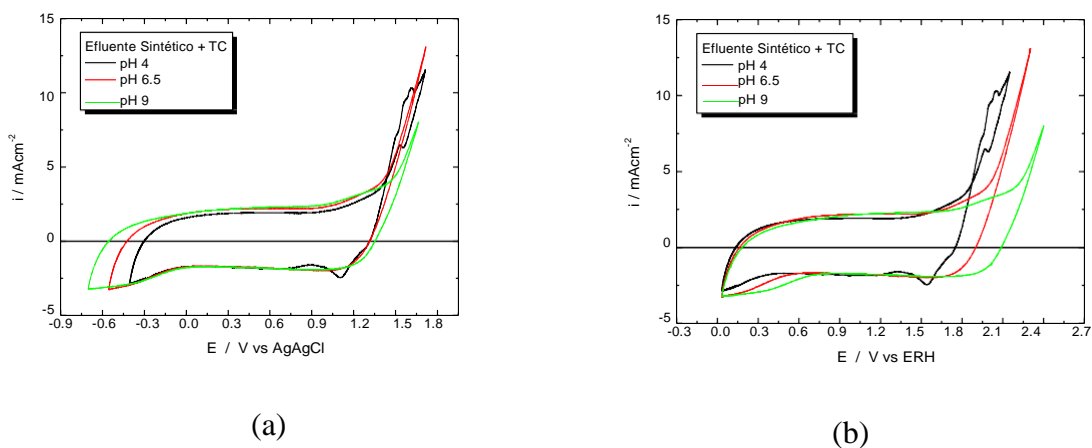


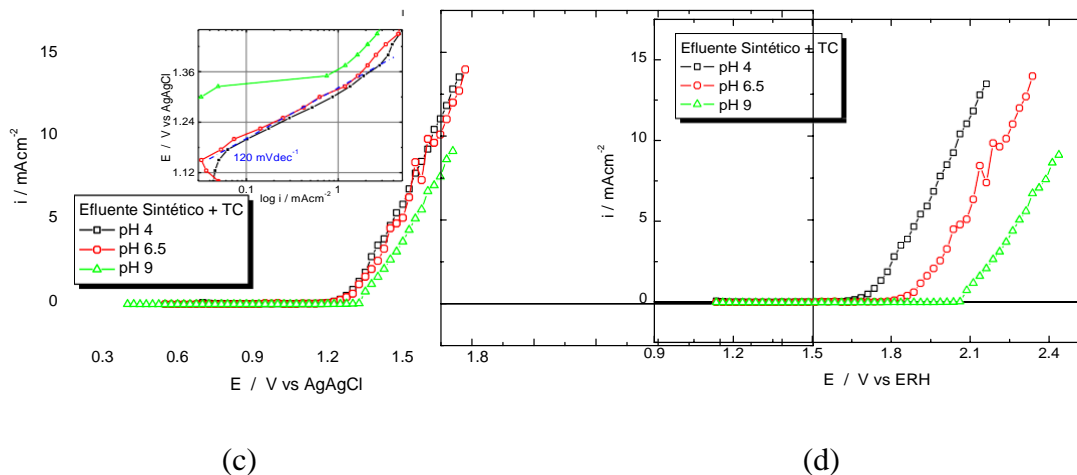
**Figura 36-** (a) Variação da corrente ao longo do tempo para na presença de íons cloreto (efluente sintético, 1,4 V) e (b) na presença de cloreto e TC (efluente sintético + TC, 1,53 V).



**Figura 37-** (a) Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) e nas ausências de TC (efluente sintético) e de íons cloreto ( $\text{K}_2\text{SO}_4$  0.1 mol dm<sup>-3</sup>) em pH 9,00 com velocidades de varredura de 20 mVs<sup>-1</sup>. (b) Curva de polarização do eletrodo DSA nas mesmas soluções.

Os comportamentos voltamétrico e de polarização do eletrodo DSA nas soluções com pH 9,00 (Figura 37) também mostraram se muito semelhantes àqueles observados para pH 4,00 e 6,50 nos valores de potencial como de corrente. Isso indica que os processos eletródicos no eletrodo DSA não são dependentes do pH. A pouca dependência do comportamento desse sistema com o pH já havia sido observada nos ensaios de eletrooxidação de TC. Isso fica bastante evidente pela comparação dos voltamogramas e curvas de polarização do eletrodo DSA em meio efluente sintético + TC nos diferentes pHs conforme mostrados na Figuras 38a e c, respectivamente. Os voltamogramas e as curvas de polarização em diferentes pHs praticamente coincidem na escala de Ag/AgCl.





**Figura 38- Voltamogramas cíclicos do eletrodo DSA na solução de trabalho (efluente sintético + TC) em diferentes pHs (a) e com potencial corrigido para escala ERH (b). Em (c) e (d) são mostradas as respectivas curvas de polarização nas duas escalas de potencial.**

A correção da escala para a escala reversível de hidrogênio (ERH) pela fórmula de Nernst (Bard, 2001)

$$E_{ERH} = E_{Ag/AgCl} + 0.197 + 0.059 \times p$$

onde 0,197 V é o potencial padrão (escala padrão de hidrogênio - EPH) do eletrodo de Ag/AgCl/KCl<sub>sat</sub>, deveria levar à coincidência das curvas para os processos que apresentam dependência com o pH, ou seja, aqueles que envolvem a participação de espécies H<sup>+</sup> ou OH<sup>-</sup> e assim as atividades destas espécies aparecem explicitamente na expressão de potenciais de equilíbrio. Os voltamogramas cíclicos e curvas de polarização das Figuras 38a e c são mostrados na escala ERH e nas Figuras 38b e d, respectivamente. Obviamente não há coincidência de nenhum processo na escala ERH uma vez as curvas coincidiam perfeitamente na escala de Ag/AgCl. O mecanismo da RDO comumente aceito sobre RuO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub> DSA envolve os processos (KINOSHITA, 1992):

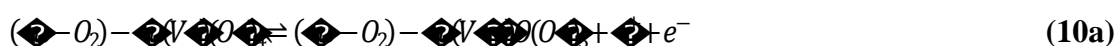


Em meio básico, o mecanismo (8a) pode ser reescrito:



Onde S é um sítio ativo na superfície do eletrodo.

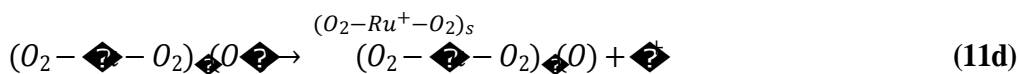
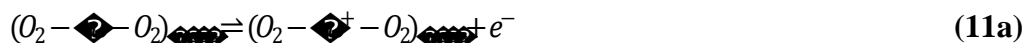
Os mecanismos acima assumem que o filme é bom condutor eletrônico de forma que o processo ocorre na superfície do filme. Dependendo da etapa considerada determinante dos processos, valores relatados de inclinação de Tafel são de 60 mV dec<sup>-1</sup> (RuO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub>) ou de 30 - 40 mV.dec<sup>-1</sup> (RuO<sub>2</sub>). As etapas de transferência de carga envolvem sempre espécies H<sup>+</sup> ou OH<sup>-</sup>, dependendo do meio, levando a uma forte dependência do pH. LYONS e FLOQUET (2011) propõem uma elaboração para os mecanismos das Eq. (8) e (9) envolvendo a mediação do processo de transferência de carga pelos diversos estados de oxidação do Ru superficial do filme de RuO<sub>2</sub> com distintas estequiometrias de sua estrutura de hidratação através de balanço de transferência de carga e de H<sup>+</sup> ou OH<sup>-</sup>, dependendo do pH do meio. Os processos de transferência de carga e íons envolveriam inicialmente a oxidação espécies superficiais Ru(VI) a Ru(VII) seguida de uma etapa lenta levando a Ru(VIII) instável que rapidamente perderia O<sub>2</sub> de sua estrutura e retornando a Ru(VI). Em meio ácido essas etapas seriam:



Considerando a etapa da Eq. 10b como determinante, a inclinação de Tafel de 40 mV dec<sup>-1</sup> e dependência com o pH próxima de -60 mV/pH observados por estes autores são obtidas. O eletrodo DSA utilizado nesse trabalho não exibiu dependência com o pH para a RDO e na região de baixa densidade de corrente, uma inclinação de Tafel de 120 mV dec<sup>-1</sup> pôde ser identificada como mostra a Figura 38c - "inset". A independência do pH, ordem zero relativa a atividade de H<sup>+</sup> ou OH<sup>-</sup>, indica que a etapa determinante do processo e as etapas antecedentes a ela não dependem dessas espécies. Pode-se especular uma possibilidade para explicar as observações deste estudo da seguinte



forma: as características estruturais do filme de RuO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub> utilizado apresentam em uma elevada resistência elétrica (próximo de 32 Ω.cm<sup>2</sup>, estimado da inclinação das curvas de polarização). Nessa situação, o processo de transferência de carga envolvendo estados superiores de oxidação de Ru poderia ocorrer no interior do filme sem envolver transferência simultânea de H<sup>+</sup>. Esse Ru oxidado poderia ser transportado do interior do filme para a superfície pelo maior campo elétrico no interior de filme resistivo. Na superfície as etapas subsequentes podem ocorrer rapidamente com o balanço de carga restabelecido pela formação de H<sup>+</sup> (meio ácido). Se a etapa de transferência de carga no interior do filme for determinante e envolver apenas a transferência de 1 elétron, não haveria dependência com o potencial e a inclinação de Tafel de 120 mV.dec<sup>-1</sup> seria obtida. De modo bem simplificado, sem se preocupar com detalhes da estrutura de hidratação do filme de RuO<sub>2</sub>, o mecanismo poderia ser descrito em meio ácido como:



Como conclusão da discussão acima, independente de especulações do mecanismo de RDO no eletrodo estudado, os resultados experimentais sugerem fortemente a pequena (ou ausente) contribuição de eletrooxidação direta de TC ou de eletrooxidação indireta mediada por cloro ou hipoclorito (meio básico). Os resultados suportam que a principal rota de eletrooxidação da TC é a via de eletrooxidação indireta por ação de espécies oxigenadas radicais ( $\cdot\text{OH}$ ) formadas na superfície do eletrodo durante os processos que compõem a RDO. A consequência disso é que o mecanismo de degradação eletroquímica da TC com o eletrodo DSA utilizado deve seguir rotas semelhantes às propostas por processos oxidativos avançados envolvendo eletrorregeneração (OTURAN et. al, 2013), ozonização (KHAN et al, 2010), processos oxidativos avançados por elétron hidratado e radical hidroxila gerados por radiólise (JEONG et al, 2010), além de processos de eletrooxidação sobre eletrodos DSA de RuO<sub>2</sub> -IrO<sub>2</sub>/Ti (WU et al, 2012). Nesses artigos, os autores propõem diversas rotas distintas conforme os produtos identificados por técnica de LC-MS.

Em particular, no caso do processo de eletrooxidação sobre DSA, os autores sugerem um papel importante ao material do cátodo (feltro de carbono) pela produção de radical peróxido no processo de redução do  $O_2$  oriundo do ânodo (e/ou introduzido no meio por borbulhamento) via rota de 2 elétrons. O radical peróxido pode atuar como agente de degradação oxidativa da TC. Processo semelhante é possível de ocorrer no sistema estudado no presente trabalho, uma vez que a redução de oxigênio foi observada sobre eletrodos de Ti/TiO<sub>2</sub> em ampla faixa de pH (BAEZ et al, 1992; MENTUS, 2004).

Embora não tenham sido realizados experimentos de LC-MS nesse trabalho, os dados de diminuição do sinal de UV-VIS, toxicidade e DQO podem servir de diretrizes para discriminar entre as rotas propostas nos artigos citados acima, aquela que mais se adequaria aos resultados deste estudo. Os dados de UV-VIS de acompanhamento da degradação da TC mostram que a banda em 358 nm mostra uma supressão muito rápida com o processo de eletrooxidação: com corrente de 1,0 A, a banda diminuiu perto de 45% já nos primeiros 10 minutos de eletrólise, chegando à supressão total após 3 horas. Ao mesmo tempo, a banda em 265 nm mostra maior resistência ao processo de eletrooxidação.

Isso indica que os processos de eletrooxidação degradam primariamente as estruturas da TC responsáveis pelas transições associadas à banda de maior comprimento de onda, enquanto as estruturas responsáveis pelas transições associadas à banda de menor comprimento de onda, devem permanecer nos intermediários e produtos de eletrooxidação. AMAT et. al. (2012) fizeram cálculos quânticos, utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT) para calcular os valores de pKa e interpretar os espectros de UV-VIS da molécula de TC. Esses autores identificaram a banda na região de 358 nm com transições envolvendo o HOMO (orbital molecular ocupado de mais alta energia) e HOMO - 1 para o LUMO (orbital molecular vazio de menor energia) e LUMO +1; e a banda na região de 265 nm a transições envolvendo o HOMO - 4 (principalmente) e HOMO - 7 para o LUMO e LUMO + 1 também. Utilizando a nomenclatura conforme a Figura 39 abaixo:

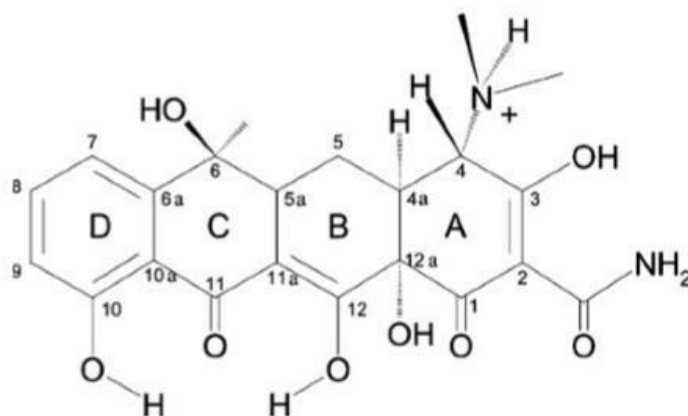
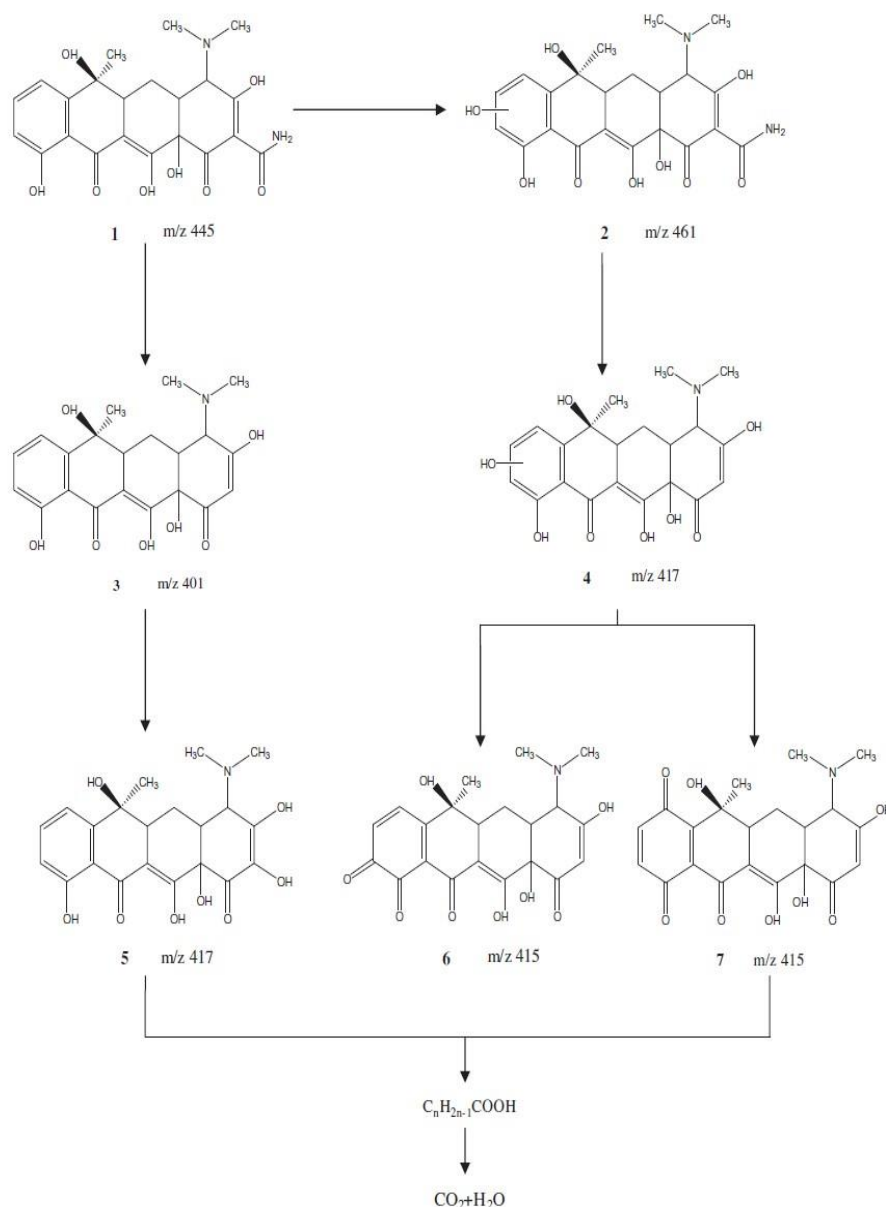


Figura 39- Estrutura da Tetraciclina indexada para referência à estruturas e grupos funcionais

O HOMO da TC localizado principalmente pelo sistema  $\pi$  no anel aromático D e nas posições 11a e 12. O LUMO se localiza no anel A principalmente entre as posições 1, 2 e 3, se estendendo também sobre as posições 11 e 12. O HOMO - 4 é localizado principalmente no anel A e no grupo amida ligado a ele. Dessa forma, esperasse que as rotas de oxidação de TC observadas nesses ensaios envolvam a quebra do anel fenólico D nos estágios iniciais, preservando nos intermediários o grupamento amida.

Essa observação está em desacordo com o mecanismo proposto por WU et. al. (2012), que deveria em princípio ser o mais similar em virtude de se tratar também de eletrooxidação com eletrodo DSA. Neste mecanismo, as etapas iniciais envolvem apenas a hidroxilação do anel fenólico D, sem destruí-lo, seguido exatamente do ataque e remoção do grupamento amida (vide figura 40). O mecanismo de WU et al. (2012) preserva o anel fenólico que, após ser hidroxilado, sofre oxidação para formação de quinona, que segundo os autores, é responsável pela elevada toxicidade dos produtos de oxidação, já que eles observaram um grande aumento da toxicidade aguda da solução após o tratamento. Essa observação é também contrária ao resultado do nosso estudo, já que observamos uma diminuição da toxicidade conforme a Tabela 12, indicando que os produtos de eletrooxidação não possuem a estrutura quinona no anel D, que deve ter sido destruído.



**Figura 40-** Mecanismo de degradação da TC proposto por WU et al. (2012)

O mecanismo proposto por JEONG et al. (2010) utilizando radiólise é muito semelhante ao proposto por Wu et al. (2012) envolvendo a hidroxilação do anel fenólico e formação de quinona em etapas subsequentes e também a remoção inicial do grupo amida e também não seria apropriado para explicar os dados obtidos nesse trabalho.

O mecanismo que mais se adequaria aos resultados desse estudo é o proposto por KHAN et al. (2010). De acordo com estes autores, os primeiros locais a serem atacados são as duplas ligações 2 - 3 e 11a - 12, gerando a hidroxilação e formação de carbonilas nos grupos OH vicinais. Esses processos competem com o ataque do grupamento amino terciária, também igualmente vulnerável. No entanto, após o ataque

à dupla ligação nas posições 11a - 12, o ataque ao anel aromático nas posições 6a - 7 com a formação de uma carboxila na posição 7 e cetona na posição 6a pode ocorrer com igual probabilidade que a quebra da segunda dupla na posição 2-3. Esse mecanismo prevê a destruição do grupo fenólico em seus estágios iniciais, mantendo durante todas as etapas o grupamento amida intactos (vide figura 41). A destruição do grupamento fenólico nos estágios iniciais deve estar ocorrendo na eletrólise da TC feita nesse estudo uma vez que a supressão da banda em 358 nm ocorre muito rapidamente, ao passo que a DQO sofre redução muito pequena indicando que a degradação do anel D ocorre nos estágios iniciais, sem oxidação extensiva da TC.

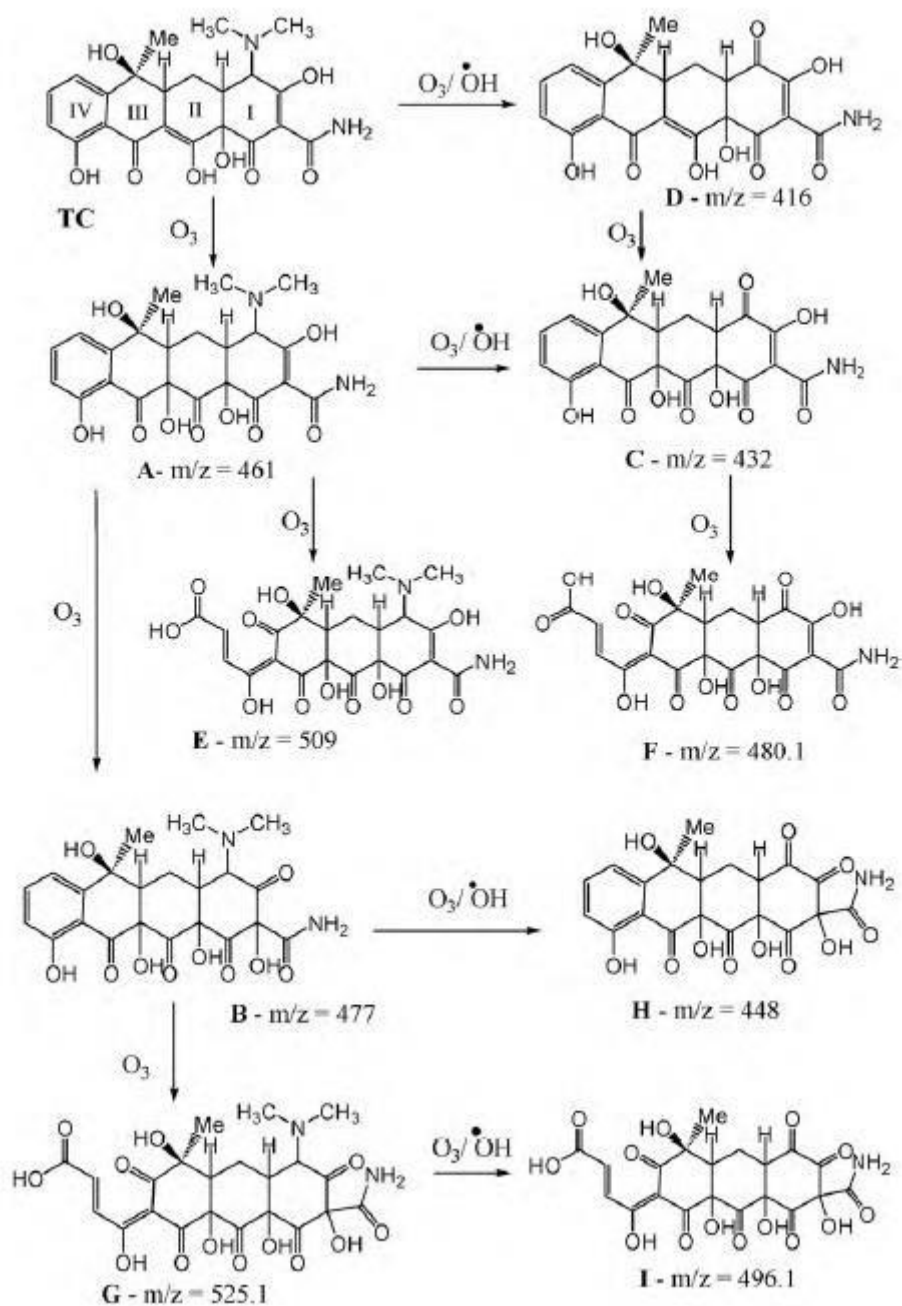


Figura 41- Mecanismo de degradação da TC proposto por KHAN et al. (2010)

## 6 CONCLUSÃO

No desenvolvimento deste trabalho, verificou-se que o tratamento eletroquímico utilizando o eletrodo de  $\text{Ti/Ru}_{0,3}\text{Ti}_{0,7}\text{O}_2$  como ânodo e placa porosa de titânio como cátodo, se mostrou eficiente na remoção do fármaco cloridrato de tetraciclina.

Pelo método DCCR aplicado aos ensaios na remoção do cloridrato de tetraciclina determinou-se as melhores condições experimentais com a verificação que a eficiência de remoção depende da corrente aplicada e do tempo de aplicação da eletrooxidação, sendo que em condições de maior corrente elétrica e tempo de eletrooxidação ocorreram maiores remoções da tetraciclina.

Em alguns ensaios, a porcentagem de remoção de tetraciclina ficou próxima de 100%. Outra observação relevante na remoção do cloridrato de tetraciclina é que para os ensaios realizados, ela independe dos valores de pH.

Para o ensaio de remoção da DQO, verificou-se que a remoção depende exclusivamente da corrente elétrica, não sendo influenciada pela variação de pH e tempo de eletrooxidação. Isto pode estar associado a energia de ativação para oxidação do fármaco e de seus subprodutos. A remoção de DQO foi relativamente baixa, caracterizando que o tratamento apresenta baixa remoção da carga orgânica do efluente sintético, o que pode ser explicado pela fragmentação da tetraciclina em subprodutos.

Para todas as condições de eletrooxidação foi observada a perda de sua atividade antibiótica, porém a diminuição de sua toxicidade foi pouco afetada pelo tratamento, sugerindo que o tratamento deve ser associado a outras técnicas para melhor remoção de sua carga orgânica e diminuição de sua toxicidade.

A perda da atividade antibacteriana dos efluentes tratados e a diminuição de sua toxicidade são pontos positivos do tratamento, já que esses fatores contribuem para melhorar a qualidade do efluente tratado.

## SUGESTÕES

As principais sugestões desse trabalho para futuras pesquisas são:

- Avaliar o tratamento eletroquímico do antibiótico cloridrato de tetraciclina em efluente real.
- Identificação dos fragmentos formados na degradação por espectrometria de massa, LC-MS.



**REFERÊNCIAS**

ALONSO-SALLES, N.A.; FOURCADE, F.; GENESTE, F.; FLONER, D.; AMRENE, A. Relevance of an electrochemical process prior to a biological treatment for the removal of an organophosphorous pesticide, phosmet. **Journal of Hazardous Materials**.v. 181,p. 617-623, 2010.

AMAT, A.; FANTACCI, S.; DE ANGELIS, F.; CARLOTTI, B.; ELISEI, F. DFT/TDDFT investigation of the stepwise deprotonation in tetracycline: PK a assignment and UV-vis spectroscopy. **Theoretical Chemistry Accounts**. v. 131, p.1218, 2012.

ANDERSON, C.R.; RUPP, H.S.; WU, W.H. Complexities in tetracycline analysis – chemistry, matrix extraction, cleanup, and liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**.v. 1075, p. 23-32, 2005.

ANGLADA, A.; URTIAGA, A.; ORTIZ, I.; Contributions of electrochemical oxidation to waste-water treatment: fundamentals and review of applications. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**.v.84, P.1747-1755, 2009

ANVISA, **Farmacopeia Brasileira**, Agência Brasileira de Vigilância Sanitária, 5º Ed., p. 546, v. 1, Brasília-DF, Brasil, 2010.

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for examination of water and wastewater**. 22nd Ed. Washington: American Public Health Association. 1360p. 2012.

BAEZ, V. B.; GRAVES, J. E.; PLETCHER, D. The Reduction of Oxygen on Titanium Oxide Electrodes. **J. Electroanal. Chem.** v. 340, p. 273-286, 1992

BAILÓN-PÉREZ, M.I.; GARCIA-CAMPAÑA, A.M.; CRUCES-BLANCO, C.; IRUELA, M.O. Trace determination of b-lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line preconcentration in capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography**. v. 1185, p. 273-280, 2008.

BARCELÓ, D.; Emerging pollutants in water analysis. **Trends in Analytical Chemistry**.v. 22, p. 14-16, 2003.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: Fundamentals and applications**. 2nd ed. New York, NY: Willey. 2001.

BARROS, E.; MACHADO, A.; BITTENCOURT, H.; CARAMORI, M.; SPRINZ, E. **Antimicrobianos: consulta rápida**. 4ª Editora. Porto Alegre, Artmed. 2008.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, V.26, n.4, p 523-530, 2003.

BROWN, K.D.; KULIS, J.; THOMSON, B.; CHAPMAN, T.H.; MAWHINNEY, D.B. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. **Science of The Total Environmental**. v. 366, p. 772-783, 2006.

BUTH, D. F. (2009). **Degradação fotoeletrolítica da tetraciclina em solução aquosa empregando TiO<sub>2</sub> suportado**. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Dissertação (Mestrado).

CHAPMAN, P. M. Emergin substances: emerging problems? **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 25, n. 6, p. 1445-1447, 2006.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**, Fifteenth Informational Supplement. M100 – S15. Vol. 25. N°1, 2013.

CONAMA, “Resolução no 357/2005”. **Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 06 de maio de 2016.

DAGHRIRA, R.; DROGUA, P.; KAB, I.; EL KHAKANIB, M.A. Photoelectrocatalytic degradation of chlortetracycline using Ti/TiO<sub>2</sub> nanostructured electrodes deposited by means of a pulsed laser deposition process. **Journal of Hazardous Materials**. v. 199, p. 15–24, 2012.

DALMÁZIO, I.; ALMEIDA, M. O.; AUGUSTI, R.; ALVES, T. M. A. Monitoring the Degradation of Tetracycline by Ozone in Aqueous Medium Via Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. **J Am Soc Mass Spectrom**. v. 18, p. 679–687, 2007.

DANTAS, R.F.; CONTRERAS, S.; SANS, C.; ESPLUNGAS, S. Sulfamethoxazole abatement by means of ozonation. **Journal of Hazardous Materials**.v.150, p. 790-794, 2008.

DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLEB, C.; HARTEMANNA, P. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**.v. 214, p. 442 - 448, 2011.

DROGUI, P.; BLAIS, J.F.; MERCIER, G. Review of electrochemical technologies for environmental applications.**Recent Patents on Engineering**.v.1, p. 257-272, 2007.

ELMOLLA, E.S.; CHAUDHURI, M. Photocatalytic degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution using UV/TiO<sub>2</sub> and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> photocatalysis.**Desalination**.v. 252, p.46-52, 2010.

FÓTI, G., GANDINI, D., COMNINELLIS, C. Anodic oxidation of organics on thermally prepared oxide electrodes. **Current Topics in Electrochemistry**.v. 5, p. 71-91, 1997.

GOLET, E. M.; ALDER, A. C.; HARTMANN, A.; TERNES, T. A.; GIGER, W. Trace determination of fluoroquinolone antibacterial agents in urban wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. **Analytical Chemistry**.v.73, p. 3632-3638, 2001.

GUERRA DE OLIVEIRA, R. A.; LIMA, E. O.; VIERIRA W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, p. 77-82, 2006.

HALLING-SORENSEN, B.; NIELSEN, S.N.; LANZKY, P.F.; INGERSLEV, F.; LUTZHOFT, H.C.H.; JORGENSEN, S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review; **Chemosphere**.v.36, p.357–394, 1998.

HASEGAWA, M. C., TAKASHIMA, K., DANIEL, J. F. S., BATISTA, G. A., DA SILVA, S.M.C.P. COD removal and toxicity decrease from tannery wastewater by zine oxide-assisted photocatalysis: a case study. **Environmental technology**. v. 35, p. 1589-1595, 2014.

HAUSER, A. R. Antibióticos na prática clínica: fundamentos para escolha do agente antibacteriano correto. **Porto Alegre: Artmed**. 2009.

HOU, L.; ZHANG, H.; XUE, X. Ultrasound enhanced heterogeneous activation of peroxydisulfate by magnetite catalyst for the degradation of tetracycline in water. **Separation and Purification Technology**. v. 84, p.147-152, 2012.

JIA, A.; XIAO, Y.; HU J.; ASAMI M.; KUNIKANE S. Simultaneous determination of tetracyclines and their degradation products in environmental waters by liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 4655-4662, 2009.

JEONG, J.; SONG, W.; COOPER W. J.; JUNG, J.; GREAVES, J. Degradation of tetracycline antibiotics: Mechanisms and kinetic studies for advanced oxidation/reduction processes. **Chemosphere**. v. 78, p.533–540, 2010.

JONES, O.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. Potential Ecological and Human Health Risks Associated with the Presence of Pharmaceutically Active Compounds in the Aquatic Environment. **Critical Reviews in Toxicology**. V. 34, p.335-350, 2004.

JONES-LEPP, T.; STEVENS, R. Pharmaceuticals and personal care products in biosolids/sewage sludge e the interface between analytical chemistry and regulation. **Analytical and Bio analytical Chemistry**. V. 387, p. 1173-1183, 2007.

JORGENSEN, S. E.; LUTZHOFT, H. C.; HALLING-SORENSEN, B. Development of a model for environmental risk assessment of growth promoters. **Ecological Modelling**. v. 107, p. 63, 1998.

HEBERER, T.; Occurrence, fate and removal of pharmaceuticals residues in the aquatic environment: a review of recent data. **Toxicology Letters**.v.131, p. 5-17, 2002.

HERNANDEZ, R.; ZAPPI M.; COLUCCI, J.; JONES, R. Comparing the performance of various advanced oxidation processes for treatment of acetone contaminated water. **Journal of Hazardous Materials**. v. 92, p. 33-50, 2002.

HERNANDO, M.D.; MEZCUA, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.; BARCELÓ, D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. **Talanta**.v.69, p. 334-342, 2006.

KANIOU, S.; PITARAKIS, K.; BARLAGIANI, I.; POULIOS, I. Photocatalytic oxidation of sulfamethazine. **Chemosphere**, v. 60, p. 372-380, 2005.

KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological indicators**. V. 8, p.1-13, 2008.

KHAN, M. H.; HYOKWAN BAE, H.; JUNG, J. Y. Tetracycline degradation by ozonation in the aqueous phase: Proposed degradation intermediates and pathway. **Journal of Hazardous Materials**. v. 181, p. 659-665, 2010

KINNEY, C.; FURLONG, E.; ZAUGG, S.; BURKHARDT, M.; WERNER, S.; CAHILL, J.; JORGENSEN, G. Survey of organic wastewater contaminants in biosolids destined for land application. **Environmental Science & Technology**. v.40, p. 7207-7215, 2006.

KINOSHITA, K. **Electrochemical Oxygen Technology**, 1<sup>st</sup> ed. New York, NY: Wiley. 1992.

KOKOULINA, D. V. and BUNAKOVA, L. V. Oxygen Evolution at the Oxide Electrodes RuO<sub>2</sub> and RuO<sub>2</sub> + TiO<sub>2</sub> in Chloride Solutions. **J. Electroanal. Chem.** v. 164, p. 377-383, 1984.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBAR, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U. S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, v. 36, p.1202-1211, 2002.

KUMMERER, K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. **Chemosphere**. v. 45, p. 957-969, 2001.

KUMMERER, K. Pharmaceuticals in the Environment. **Springer**. Freiburg, Alemanha, 2008.

KUMMERER, K.; The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. **Journal of Environmental Management**. v. 90, p.2354-2366, 2009.

KUMAR, K.; GUPTA, S.C.; BAIDOO, S.K.; CHANDER, Y.; ROSEN, C.J. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. **Journal of Environmental Quality**. v.34, p. 2082-2085, 2005.

LEE, H.; LEE, E.; LEE, C.H.; LEE, K. Degradation of chlortetracycline and bacterial disinfection in livestock wastewater by ozonebased advanced oxidation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**. v. 17, p.468-473, 2011.

LYONS, M. E. G.; FLOQUET, S. Mechanism of Oxygen Reactions at Porous Oxide Electrodes. Part 2—Oxygen Evolution at RuO<sub>2</sub>, IrO<sub>2</sub> And Ir<sub>x</sub>Ru<sub>1-x</sub>O<sub>2</sub> Electrodes In Aqueous Acid and Alkaline Solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.* v.13, p.5314–5335, 2011.

MENTUS, S. Oxygen Reduction on Anodically Formed Titanium Dioxide, *Electrochim. Acta.* v. 50, p. 27-32, 2004.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., Mcl. AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plant Research*, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

MILLS, A.; DAVIES, R. H.; WORSLEY, D. Water purification by semiconductor photocatalysis. *Chemicals Society Reviews*, v. 23, p. 417-425, 1993.

MIRANDA, C. D.; CASTILHO, G. Resistance to antibiotic and heavy metals of motile aeromonads from Chilean freshwater. *Science of the Total Environment.* v. 224, p. 167, 1998.

MOHAN, N.; BALASUBRAMANIAN, N.; BASHA, C. A. Electrochemical oxidation of textile wastewater and its reuse. *Journal of Hazardous Materials.* v.147, p. 644-651, 2007.

MORIN, M, C.; LAMY, C.; LEGER, J.M.; VASQUEZ, J.L.; ALDAZ, A. Structural effects in electrocatalysis-oxidation of ethanol on platinum single Crystal electrodes-effect of pH. *Jornal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, v.283, p. 287-302, 1990.

MULROY A. Monitoring and analysis of water and wastes. *Water Environment Technology, Alexandria*, v. 13, n. 2 p. 32-36, 2001.

OLLER, I.; MALATO, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J.A. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination-A review. *Science of the Total Environment.* v. 409, p. 4141-4166, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO). **ANTIMICROBIAL RESISTANCE: Global Report on Surveillance.** WHO Library Cataloguing-in-Publication Data: Geneva, Switzerland. 2014.

OTURAN, N.; WU, J.; ZHANG, H.; VIRENDER K. SHARMA, V. K.; OTURAN, M. A. Electrocatalytic destruction of the antibiotic tetracycline in aqueous medium by electrochemical advanced oxidation processes: Effect of electrode materials. **Applied Catalysis B: Environmental**. v.140, p. 92– 97, 2013.

PANIZZA, M.; CERISOLA, G. Direct and mediated anodic oxidation of organic pollutants. **Chemical Reviews**. v. 109, p. 6541-6569, 2009.

PENA, A., PAULO, M.; SILVA, L.J.G.; SEIFRTOVÁ, M.; LINO, C.M.; SOLIC, P. Tetracycline antibiotics in hospital and municipal wastewaters: a pilot study in Portugal. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**.v. 396, p. 2929-2936, 2010.

PETROVIC, M.; De ALDA, M.J.L.; DIAZ-CRUZ, S.; POSTIGO, C.; RADJENOVIC, J.; GROS, M.; BARCELÓ, D. Fate and removal of pharmaceuticals and illicit drugs in conventional and membranebioreactor wastewater treatment plants and by riverbank filtration. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Physical, Mathematical and Engineering Sciences**. v. 367, p. 3979-4003, 2009.

PIDOU, M; MEMON, F.A; STEPHENSON, T; JEFFERSON, B; JEFFREY, P. Greywater recycling: treatment options and applications. **Engineeringsustainability**.v. 160, n. 13, p. 119-131, jul. 2007.

PIEROŻYŃSKI, B.; PIOTROWSKA, G.; MIKOŁAJCZYK, T. Kinetics of electrooxidation of phenol on polycrystalline platinum. **Polish Journal of Chemical technology**. v. 17, p. 126-130, 2015

PIVELI, R. P., KATO, M. T. **Qualidade das águas e poluição**. 1. ed. São Paulo: Abes, 2006. Disponível  
<[http://www.leb.esalq.usp.br/disciplinas/Fernando/leb360/Fasciculo%2010%20-%20Oxigenio%20Dissolvido%20e%20Materia Organica.pdf](http://www.leb.esalq.usp.br/disciplinas/Fernando/leb360/Fasciculo%2010%20-%20Oxigenio%20Dissolvido%20e%20Materia%20Organica.pdf)> acesso em: 24 junho de 2016.

RAJESHWAR, K.; IBANEZ J. G. Environmental electrochemistry: Fundamentals and application in pollution abatement. 3 ed. New York: **Academic press**, 1997.

REHMAN, M. S. U.; RASHID, N.; MUHAMMAD, A.; SAIF, A.; AHMAD, N. Global risk of pharmaceutical contamination from highly populated developing countries. **Chemosphere**. V. 12, p. 36, 2013.

RODRIGUEZ, M.A.; GONZÁLEZ-PIÑERA, J.G.; PENIÉ, J.B.; ALONSO, N.L.; AREU, A., NUÑEZ, A.P; Tetraciclinas; **Acta Medica**.v.8, p. 75-90, 1998.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. 2ª Ed. Campinas, SP: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé a Amor, 2009.

SANLI, S.; SANLI, N.; ALSANCAK, G. Determination of protonation constants of some tetracycline antibiotics by potentiometry and LC methods in water and acetonitrile-water binary mixtures. **J.Braz. Chem. Soc.** v. 20, p. 939-946, 2009.

SAM, T. W. **Bioactive natural products**. Colegata, S. M. Molyneuse, R. J., eds.; CRC Press, Inc.; USA, 1993, cap. 18, p. 450.

SHENKER, M.; HARUSH, D.; BEN-ARI, J.; CHEFETZ, B. Uptake of carbamazepine by cucumber plants e a case study related to irrigation with reclaimed wastewater. **Chemosphere**. v. 82, p. 905-910, 2011.

SIRES, I.; BRILLAS, E.; Remediation of water pollution caused by pharmaceutical residues based on electrochemical separation and degradation technologies: a review. **Environment International**. v. 40 p. 212-229, 2012.

STACKELBERG, P. E.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; HENDERSON, A. K.; REISSMAN, D. B. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-watertreatment plant Science Total. **Environmental**, v. 329, p.99-113, 2004.

TAUXE-WUERSCH, A.; DE ALENCASTRO, L. F.; GRANDJEAN, D.; TARRADELLAS, J. **Water Res**, v.39, p.1761, 2005

TRASATTI, S. **Progress in the Understanding of the Mechanism of Chlorine Evolution at Oxide Electrodes**, *Electrochim. Acta*, **32** (3), 369-382 (1987)

VIELSTICH, W.; LAMM, A.; GASTEIGER, H. (Eds.), Handbook of Fuel Cells: Fundamentals, Technology and Applications, **Chichester: John Wiley & Sons**, 2003.

XU, W.H.; ZHANG, G.; ZOU, S.C.; LI, X.D.; LIU, Y.C. Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using highperformance liquid chromatographyelectrospray ionization tandem mass spectrometry. **Environmental Pollution**. v. 145, p. 672-679, 2007.



YAHIAOUI, I.; AISSANI-BENISSAD, F.; FOURCADE, F.; AMRANE, A. Removal of tetracycline hydrochloride from water based on direct anodic oxidation (Pb/PbO<sub>2</sub>) coupled to activated sludge culture. **Chemical Engineering Journal**. v. 221, p. 418–42, 2013.

WANG, Y.; ZHANG, H.; ZHANG, J.; LU, C.; HUANG, Q.; WU, J.; LIU, F. Degradation of tetracycline in aqueous media by ozonation in an internal loop-lift reactor. **Journal of Hazardous Materials**. v.192, p.35-43, 2011.

WATKINSON, A.J.; MURBY, E.J.; KOLPIN, D.W.; CONSTANZO, S.D. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water. **Science of the Total Environment**. v. 407, p. 2711-2723, 2009.

WU, R. S. S. The environmental impact of marine fish culture: Towards a sustainable futur. **Marine Pollution Bulletin**. v. 31, p. 159-166, 1995.

WU, JIE.; ZHANG, H.; OTURAN, N.; WANG, Y.; CHEN, L.; OTURAN, M.A. O. Application of response surface methodology to the removal of the antibiotic tetracycline by electrochemical process using carbon-felt cathode and DSA (Ti/RuO<sub>2</sub>-IrO<sub>2</sub>) anode. **Chemosphere**. v. 87, p. 614-620, 2012.