

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

FELIPE AUGUSTO BARBIERI

**ESTUDO DE DEGRADAÇÃO DA TETRACICLINA EM ÁGUA  
EMPREGANDO PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA

2019

FELIPE AUGUSTO BARBIERI

**ESTUDO DE DEGRADAÇÃO DA TETRACICLINA EM ÁGUA  
EMPREGANDO PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Química, do Departamento Acadêmico de Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ismael L. Costa Jr.  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marcia A. B. Agustini

MEDIANEIRA

2019

---

**TERMO DE APROVAÇÃO**  
**ESTUDO DE DEGRADAÇÃO DA TETRACICLINA EM ÁGUA EMPREGANDO**  
**PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS**

Por

**Felipe Augusto Barbieri**

Esse trabalho de conclusão de curso foi apresentado às dezessete horas do dia doze de julho de dois mil e dezenove, como requisito parcial para a obtenção do diploma de graduação do curso de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo relacionados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho \_\_\_\_\_.

---

Prof. Dr. Ismael Laurindo Costa Jr (Orientador – DAQUI – UTFPR/MD)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia A. B. Agustini (Coorientadora – DAAMB – UTFPR/MD)

---

Prof. Dr. Emerson L. Pires (Banca – DAQUI – UTFPR/MD)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Mello Giona (Banca – DAQUI – UTFPR/MD)

***\*A versão assinada original encontra-se arquivada na Coordenação do curso de Licenciatura em Química***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela saúde e por sempre me guiar nos momentos de decisão ao longo da minha trajetória e pela força concedida nos momentos difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ismael Laurindo Costa Junior e à minha coorientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Antonia Bartolomeu Agustini pela oportunidade de realizar esse trabalho, pela confiança, paciência, correções e grandes ensinamentos.

A minha família, em especial meus pais, Ricardo L. Barbieri e Beatriz A. Barbieri por todos os esforços realizados para minha formação, apoio, paciência, compreensão e incentivo.

A todos os meus amigos e colegas, pelos grandes momentos que compartilhamos, pela amizade, pela ajuda nos momentos difíceis, pela alegria, confiança e por tudo o que vivemos.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Medianeira, pela infraestrutura. Ao corpo docente de Licenciatura em Química (Departamento de química, ciências humanas, física e matemática), técnicos de laboratório e demais funcionários, por toda a ajuda, aprendizado e por terem proporcionado a minha formação acadêmica.

Por fim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e para a minha formação acadêmica.

## RESUMO

BARBIERI, Felipe Augusto. Estudo de Degradação da Tetraciclina em Água Empregando Processos Oxidativos Avançados. 2019. 79 p. Trabalho de Conclusão de Curso em Licenciatura em Química – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2019.

Em decorrência do crescimento da população mundial, o consumo de medicamentos tem aumentado de forma significativa, o que tem resultado na inserção desses poluentes no meio ambiente, sendo encontrados principalmente, nas águas. Um dos grupos de fármacos residuais que merecem atenção é o dos antibióticos devido ao seu potencial efeito na seleção de bactérias resistentes no meio ambiente. A proposição de técnicas de tratamentos voltadas a mitigação desses novos poluentes coloca-se como uma etapa fundamental para a manutenção dos recursos hídricos. Para a eliminação de micropoluentes em meio aquoso, os processos Oxidativos Avançados (POAs) têm surgido como uma tecnologia promissora em função do seu forte poder oxidante. Este trabalho teve por objetivo estudar a degradação do antibiótico tetraciclina (TC) em matriz aquosa sintética empregando os (POAs) fotocatalise homogênea (foto-Fenton) e heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ), sendo as condições otimizadas por meio de planejamento fatorial completo inicial e posterior delineamento composto central rotacional (DCCR). Os experimentos foram conduzidos em um reator em escala laboratorial, com sistema em batelada, constituído por quatro recipientes de 250 mL, equipado com quatro lâmpadas de mercúrio de 15 W, de baixa pressão com comprimento de onda de 254 nm. Por meio do teste de actinometria obteve-se que a dose para o fotoreator após 20 minutos de ensaio é igual a  $1,00 \times 10^{-4}$  Einstein  $\text{s}^{-1}$ . O DCCR para a fotocatalise homogênea fixando a  $[\text{TC}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$  obteve-se como melhores condições  $\text{pH} = 4$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg L}^{-1}$  e  $[\text{Fe}^{2+}] = 15 \text{ mg L}^{-1}$ . Para a fotocatalise heterogênea fixando a  $[\text{TC}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$ , verificou-se como melhores condições  $\text{pH} = 4$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 51 \text{ mg L}^{-1}$  e  $[\text{TiO}_2] = 0,23 \text{ g L}^{-1}$ . Os dados das cinéticas dos dois tratamentos se ajustaram de maneira mais satisfatória ao modelo de pseudo-segunda ordem com  $K_2 = 0,002 \text{ min}^{-1}$ , para fotocatalise homogênea e  $K_2 = 0,0006 \text{ min}^{-1}$  para fotocatalise heterogênea. No teste de toxicidade com *Escherichia coli* como microrganismo bioindicador observou-se menor efeito tóxico após todos os tratamentos de degradação empregados. Os tratamentos fotocatalise homogênea (foto-Fenton) e heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) são promissores no tratamento de águas e efluentes contaminados com o fármaco TC.

**Palavras-chaves:** Antibiótico. Fotocatalise homogênea. Fotocatalise heterogênea. Bioensaio. *Escherichia coli*.

## ABSTRACT

BARBIERI, Felipe Augusto. Study of Degradation of Tetracycline in Water Employing Advanced Oxidative Processes. 2019. 79 p. Trabalho de Conclusão de Curso em Licenciatura em Química – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2019.

As a result of the growth of the world population, the consumption of medicines has increased significantly, which has resulted in the insertion of these pollutants into the environment, being found mainly in the waters. One of the groups of residual drugs that deserve attention is that of antibiotics because of their potential effect on the selection of resistant bacteria in the environment. The proposal of treatment techniques aimed at mitigating these new pollutants is a fundamental step for the maintenance of water resources. For the elimination of micropollutants in aqueous medium, Advanced Oxidative processes (POAs) have emerged as a promising technology due to their strong oxidizing power. The aim of this work was to study the degradation of the tetracycline antibiotic (TC) in synthetic aqueous matrix using (POAs) of homogeneous (photo-Fenton) and heterogeneous ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) photocatalysis. The optimized conditions by means of full initial factorial design and later rotational central compound design (DCCR). The experiments were conducted in a laboratory scale reactor, with a batch system, consisting of four 250 ml containers, equipped with four 15 W low pressure mercury lamps with a wavelength of 254 nm. By means of the actinometry test it was obtained that the dose to the photoreactor after 20 minutes of assay is equal to  $1.00 \times 10^{-4}$  Einstein  $\text{s}^{-1}$ . The DCCR for homogeneous photocatalysis setting to  $[\text{TC}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$  was obtained as best conditions  $\text{pH} = 4$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg L}^{-1}$  and  $[\text{Fe}^{2+}] = 15 \text{ mg L}^{-1}$ . For heterogeneous photocatalysis by setting  $[\text{TC}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$ , the best conditions were  $\text{pH} = 4$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 51 \text{ mg L}^{-1}$  and  $[\text{TiO}_2] = 0.23 \text{ g L}^{-1}$ . The kinetics data of the two treatments adjusted more satisfactorily to the pseudo-second order model with  $K_2 = 0.002 \text{ min}^{-1}$ , for homogeneous photocatalysis and  $K_2 = 0.0006 \text{ min}^{-1}$  for heterogeneous photocatalysis. In the toxicity test with *Escherichia coli* as bioindicator microorganisms a lower toxic effect was observed after all the degradation treatments used. The homogeneous photocatalysis (photo-Fenton) and heterogeneous ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) are promising in the treatment of water and effluents contaminated with the TC drug.

**Keywords:** Antibiotic. Homogeneous photocatalysis. Heterogeneous photocatalysis. Bioassay. *Escherichia coli*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principais rotas de fármacos no meio ambiente.....	22
Figura 2 – Estrutura química da TC. ....	27
Figura 3 – Processo de fotoativação do catalisador TiO <sub>2</sub> .....	30
Figura 4 - Esquema do sistema utilizado para fotocatalise (homogênea e heterogênea) artificial. ....	37
Figura 5 – Rendimento quântico para formação de íons Fe (II) a partir de ferrioxalato. ....	38
Figura 6 – Ágar EMB contendo colônias de <i>E. coli</i> . ....	43
Figura 7 – Espectro de absorção UV-VIS em solução aquosa com concentração de 20 mg L <sup>-1</sup> de TC e pH= 4, resolução de 2nm e caminho óptico de 1 cm. ....	46
Figura 8 – Resultado do experimento actinométrico no fotoreator irradiado com 4 lâmpadas de mercúrio de 15 W.....	47
Figura 9 – Diagrama de Pareto para remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise heterogênea (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV).....	49
Figura 10 – Gráfico de contorno com o perfil de eficiência de remoção (%) de TC por fotocatalise heterogênea (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV) segundo o delineamento fatorial completo 2 <sup>3</sup> . ....	50
Figura 11 – Diagrama de Pareto para a remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise heterogênea (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV) pelo DCCR.....	52
Figura 12 – Superfícies de resposta da eficiência de remoção TC (%) por fotocatalise heterogênea (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV) segundo o DCCR.....	53
Figura 13 – Diagrama de Pareto para a remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton) no planejamento inicial. ....	55
Figura 14 – Gráfico de contorno com o perfil de eficiência de remoção (%) de TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton) segundo o delineamento fatorial completo 2 <sup>3</sup> . ....	56
Figura 15 – Diagrama de Pareto para a remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton) pelo DCCR.....	58
Figura 16 – Superfícies de resposta da eficiência de remoção TC (%) segundo o DCCR.....	60

Figura 17 – Remoção em (%) TC nos diferentes processos testados ao longo do tempo. ....	61
Figura 18 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Ordem-Zero, Primeira ordem e Segunda-ordem para fotocatálise heterogênea (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV) em pH 4, [TC] 20 mg L <sup>-1</sup> , [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = 51 mg L <sup>-1</sup> e [TiO <sub>2</sub> ] 0,23g L <sup>-1</sup> .....	63
Figura 19 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Ordem-Zero, Primeira ordem e Segunda-ordem para fotocatálise homogênea (foto-Fenton) em pH 4, [TC] = 20 mg L <sup>-1</sup> , [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = 25 mg L <sup>-1</sup> e [Fe <sup>2+</sup> ] = 15 mg L <sup>-1</sup> .....	65
Figura 20 – Placas de Petri contendo o inóculo <i>E. coli</i> + tratamento A: (a) 0 min. (b) 180 min. ....	67
Figura 21 – Placas de Petri contendo o inóculo <i>E. coli</i> + tratamento B: (a) 0 min. (b) 180 min. ....	68
Figura 22 – Placas de Petri contendo o inóculo <i>E. coli</i> + tratamento C: (a) 0 min. (b) 180 min. ....	69
Figura 23 – Placas de Petri contendo o inóculo <i>E. coli</i> + tratamento D. (a) 0 min. (b) 180 min. ....	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos principais Processos Oxidativos Avançados (POAs)..	29
Tabela 2 – Preparo de solução tampão fosfato.....	35
Tabela 3 – Planejamento fatorial inicial completo $2^3$ para o processo de fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ).....	39
Tabela 4 – DCCR $2^3$ para o processo de fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ).	40
Tabela 5 – Planejamento fatorial inicial completo $2^3$ para o processo de fotocatalise homogênea (foto-Fenton).....	41
Tabela 6 – DCCR $2^3$ para o processo de fotocatalise homogênea (foto-Fenton).....	41
Tabela 7 – Tratamentos empregados nos bioensaios.....	44
Tabela 8 – Valores utilizados para o cálculo da dose do fotoreator. ....	47
Tabela 9 – Matriz do planejamento fatorial completo $2^3$ com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ) na remoção de TC em meio aquoso. ....	48
Tabela 10 – Matriz do planejamento DCCR com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise heterogênea na remoção de TC em meio aquoso. ....	51
Tabela 11 – Modelos matemáticos e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para remoção de TC pelos processos fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ) segundo o DCCR. ....	52
Tabela 12 – ANOVA do modelo quadrático: eficiência de remoção (%) de TC por fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ).....	53
Tabela 13 – Matriz do planejamento fatorial completo $2^3$ com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise homogênea (foto-Fenton) na remoção de TC em meio aquoso. ....	55
Tabela 14 – Matriz do planejamento DCCR com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise homogênea na remoção de TC em meio aquoso. ....	57
Tabela 15 – Modelos matemáticos e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para remoção de TC pelos processos catálise homogênea (foto-Fenton) segundo o DCCR. ....	58

Tabela 16 – ANOVA do modelo quadrático: eficiência de remoção de TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton).....	59
Tabela 17 – Dados cinéticos para a fotocatalise heterogênea da solução do fármaco TC com concentração inicial de 20 mg L <sup>-1</sup> , pH 4, [TC] 20 mg L <sup>-1</sup> , [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = 51 mg L <sup>-1</sup> e [TiO <sub>2</sub> ] 0,23g L <sup>-1</sup> . .....	63
Tabela 18 – Dados cinéticos para a fotocatalise homogênea da solução do fármaco TC com concentração inicial de 20 mg L <sup>-1</sup> e pH 4.....	66
Tabela 19 – Relação do número de UFC de <i>E. coli</i> x tratamentos.....	67

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância.

ATCC – American Type Culture Collection

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional.

DoE – Delineamento Experimental.

*E. coli* – *Escherichia coli*

ETAs – Estação de tratamento de água.

ETEs – Estação de tratamento de esgoto.

OH – Radical Hidroxila.

OVAT – Uma-Variável-de-cada-vez.

pH – Potencial Hidrogênionico.

POAs – Processos Oxidativos Avançados.

POEs – Poluentes Orgânicos Emergentes.

TC – Tetraciclina.

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UV – Ultravioleta

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>20</b>
3.1 POLUENTES ORGÂNICOS EMERGENTES .....	20
3.1.1 Fármacos como poluentes orgânicos emergentes .....	20
3.1.2 Introdução de fármacos no meio ambiente.....	21
3.2 EFEITOS DOS COMPOSTOS FARMACÊUTICOS NO MEIO AMBIENTE .....	23
3.3 ANTIBIÓTICOS.....	24
3.3.1 Resistência bacteriana.....	25
3.3.2 Tetraciclina.....	26
3.4 TRATAMENTO DE EFLUENTES .....	28
3.5 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS .....	28
3.6 DELINEAMENTOS EXPERIMENTAIS .....	31
3.7 ACTINOMETRIA.....	31
3.8 BIOINDICADORES.....	32
3.8.1 Ecotoxicidade.....	33
3.8.2 <i>Escherichia coli</i> como bioindicador .....	33
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>35</b>
4.1 REAGENTES, PADRÕES E SOLUÇÕES .....	35
4.2 INSTRUMENTAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA TETRACICLINA E CALIBRAÇÃO ANALÍTICA.....	36
4.3 SISTEMA REACIONAL (REATOR) .....	36
4.3.1 Actinometria .....	37
4.4 PROCESSOS OXIDATIVOS DE DEGRADAÇÃO .....	39
4.4.1 Otimização das condições de degradação por fotocatalise heterogênea (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV).....	39
4.4.2 Otimização das condições de degradação por fotocatalise homogênea (foto- Fenton).....	40
4.4.3 Cinética de degradação e tempo de meia vida.....	41

4.5 BIOENSAIOS UTILIZANDO O MICRORGANISMO <i>Escherichia coli</i> COMO BIOINDICADOR .....	43
4.5.1 Obtenção dos inóculos .....	43
4.5.2 Tratamentos empregados nos bioensaios .....	44
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>46</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA TETRACICLINA .....	46
5.2 CARACTERIZAÇÃO ACTINOMÉTRICA DO REATOR FOTOQUÍMICO.....	46
5.3 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE DEGRADAÇÃO FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV) .....	48
5.3.1 Planejamento Inicial: Experimento composto central (2 <sup>3</sup> ) + 3 Pontos Centrais	48
5.3.2 Delineamento Composto Central Rotacional .....	51
5.4 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE DEGRADAÇÃO FOTOCATÁLISE HOMOGÊNEA.....	54
5.4.1 Planejamento Inicial: Experimento composto central (2 <sup>3</sup> ) + 3 Pontos Centrais	54
5.4.2 Delineamento Composto Central Rotacional .....	57
5.5 ESTUDO DE DEGRADAÇÃO DA TETRACICLINA.....	61
5.6 CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO EM SOLUÇÃO AQUOSA.....	63
5.6.1 Fotocatálise Heterogênea (TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV) .....	63
5.6.2 Fotocatálise Homogênea (foto-Fenton) .....	65
5.7 ANÁLISE DA ECOTOXIDADE COM <i>Escherichia coli</i> .....	66
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>72</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O monitoramento de fármacos residuais no meio ambiente é um tema de grande relevância na atualidade, pois, em decorrência do crescimento da população mundial, o consumo de medicamentos tem aumentado de forma significativa. Esses compostos são encontrados em efluente de estação de tratamento de esgoto, em águas para abastecimento da população e em diversos compartimentos ambientais.

A principal entrada desses compostos, nominados como microcontaminantes no meio ambiente decorre da sua aplicação na medicina humana e veterinária, em que apenas uma parte é metabolizada e uma parcela significativa é excretada na forma de metabólitos ou inalterada. Os fármacos são desenvolvidos para serem altamente resistentes, para alcançar o seu objetivo terapêutico, mantendo as suas propriedades químicas intactas ao serem eliminados. Assim, as partes eliminadas pelas fezes e urinas podem resistir por um longo tempo no meio ambiente pela interação com matrizes ambientais (BILA; DEZOTTI, 2003).

Um dos grupos dos fármacos residuais que merecem atenção é o dos antibióticos. Na literatura, esse grupo vem ganhando destaque pelo seu potencial efeito no desenvolvimento de bactérias resistentes no meio ambiente. Um exemplo é a tetraciclina, utilizada largamente na medicina veterinária, o que também se configura uma rota de dispersão que perpassa a cadeia produtiva do agronegócio como a suinocultura e a avicultura (BILA; DEZOTTI, 2003).

Tendo em vista a aplicação da tetraciclina e sua ocorrência em matrizes ambientais, relacionada à resistência bacteriana, são necessários estudos de monitoramento e a avaliação de sua degradabilidade frente aos processos e técnicas consolidadas de tratamento.

Considerando a inovação quanto à abordagem do tema microcontaminantes emergentes na atualidade, as diversas lacunas a serem preenchidas, bem como a crescente preocupação clínica quanto a ocorrência de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos convencionais, estudos de degradação de micropoluentes são muito importantes para a prospecção ambiental.

A eliminação dessas substâncias, mesmo após o tratamento convencional, pode favorecer a uma menor exposição desses organismos no ecossistema aquático, e com isso reduzir os índices de infecções resistentes.

A escolha da tetraciclina baseia-se na sua ampla utilização nas atividades agropecuárias e com isso maiores possibilidades de exposição à biota quando descartada junto aos dejetos e excretas animais.

As técnicas avançadas destinadas aos tratamentos específicos ou aos contaminantes persistentes apresentam alto custo de implantação e operação. A seleção da fotocatalise heterogênea e homogênea como metodologia de tratamento é baseada alta eficiência de degradação, na simplicidade do aparato necessário e na viabilidade financeira quando comparada com outros processos.

Nesse contexto, esta proposta buscou estudar a degradação da tetraciclina mediante ao emprego do processo de fotocatalise homogênea e heterogênea como tratamento complementar destinado à remoção do micropolvente em água.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a degradação do antibiótico tetraciclina em solução aquosa, por meio de processos oxidativos avançados e avaliar de forma microbiológica o efeito dessa degradação.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Otimizar as condições de degradação empregando delineamentos experimentais para a fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) e homogênea (foto-Fenton);
- b) Estudar a cinética de degradação da tetraciclina por meio de fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) e homogênea (foto-Fenton);
- c) Avaliar o efeito dos tratamentos de degradação por meio de ensaio microbiológico empregando *Escherichia coli* como organismo teste.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 POLUENTES ORGÂNICOS EMERGENTES

Os poluentes orgânicos emergentes (POEs), são compostos químicos de origem sintética ou oriundos de uma fonte natural. Eles podem ser definidos como contaminantes recém identificados ou que anteriormente não eram considerados no monitoramento ambiental.

As substâncias que fazem parte desse grupo, são os compostos perfluorados, pesticidas, fármacos, hormônios, drogas ilícitas, desreguladores endócrinos, e produtos de higiene pessoal (BERNABEU et al., 2012).

Devido à limitação de informações sobre as suas interações com o ambiente receptor e os impactos toxicológicos que podem causar, não se tem a prospecção real do risco que esses representam à saúde pública. São destacados efeitos como disfunções nos sistemas endócrino e reprodutivo de humanos e animais, abortos espontâneos, distúrbios metabólicos e incidência de neoplasias malignas, bem como a introdução de bactérias resistentes (NAIDU et al., 2016).

A principal característica deste grupo é que não necessitam persistir nos compartimentos ambientais por longos períodos para causar efeitos negativos. Em consideração as suas baixas taxas de remoção e transformação nos tratamentos são compensadas pelas suas contínuas introduções (pseudo-persistentes) nas matrizes ambientais, podendo levar a maiores exposições a longo prazo (BARCELÓ, 2003).

De acordo com Naidu et al., (2016), a falta de conhecimento e de investimento em estudos sobre o tratamento dos POEs torna difícil inclusive a criação de políticas e legislações que possam definir melhor o manejo dos mesmos no ambiente.

##### 3.1.1 Fármacos como poluentes orgânicos emergentes

Fármaco é uma denominação genérica para compostos utilizados tanto na medicina humana como veterinária. É possível encontrar uma enorme gama de compostos orgânicos persistentes nos esgotos urbanos derivados das atividades

humanas, entre os quais são encontrados os produtos farmacêuticos utilizados em grande quantidade em todo o mundo (ALMEIDA; WEBER, 2009).

As primeiras pesquisas sobre presença de fármacos no meio ambiente iniciaram-se na década de 70 nos Estados Unidos, em que foram detectados traços de algumas substâncias em efluentes de estação de tratamento de esgoto (MELO et al., 2009). A partir dessas pesquisas, diversos estudos pontuais têm sido realizados com o objetivo de se detectar e monitorar a presença de resíduos de fármacos em corpos hídricos em várias partes do mundo (BROWN et al., 2006).

Segundo Bastos, (2012) esses compostos não têm limites ambientais estabelecidos e pouco se conhece sobre sua transformação nos ambientes aquáticos naturais e os possíveis efeitos sinérgicos que podem ocorrer nos compartimentos. A ocorrência desses compostos pode apresentar efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres, os quais provavelmente dependem do comportamento farmacocinético de cada medicamento, como meia-vida, metabolismo, excreção, etc. Alguns desses efeitos podem ser observados em concentrações de  $\text{ng.L}^{-1}$  (GIL, 2007; HALLING-SØRENSEN et al., 1998).

De acordo com Almeida e Weber (2009), uma das razões para a falta de dados e de estudos mais detalhados deve-se ao fato de que a regulamentação de drogas medicamentosas geralmente é feita por agências de saúde, as quais não consideram questões ambientais, pois até recentemente, os fármacos não eram vistos com substâncias potencialmente tóxicas ao meio ambiente.

### 3.1.2 Introdução de fármacos no meio ambiente

Devido ao crescimento populacional e a elevada demanda de serviços e produtos, há uma quantidade crescente de fármacos produzidos diariamente para o consumo humano e animal. Na literatura não são encontrados números exatos da produção de fármacos atualmente (BILA; DEZOTTI, 2003) e pouco se conhece sobre o destino dessas substâncias no meio ambiente.

Os medicamentos, em geral, possuem administração tópica (inalação e aplicação na pele), interna (via oral), ou parenteral (injeções e infusões). Após o uso, as substâncias não são totalmente metabolizadas pelo corpo humano ou animal, com

isso são excretados pelas fezes e urina chegando às ETEs. De fato, em torno de 30 a 90% da dose na maioria dos antibióticos administrado aos seres humanos e animais, são excretados na urina com substância ativa (HALLING-SØRENSEN, 1998).

Outro meio de entrada desses compostos no meio ambiente é o descarte sem o devido tratamento de indústrias farmacêuticas. Na Figura 1 é esquematizada a introdução dos produtos farmacêuticos nos compartimentos ambientais.

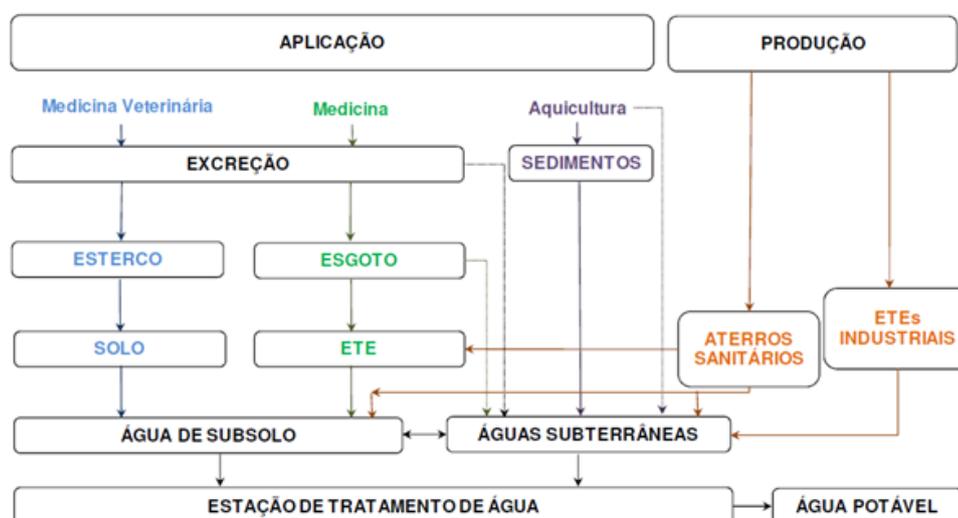


Figura 1 – Principais rotas de fármacos no meio ambiente.

Fonte: Adaptado de BILA; DEZOTTI (2003).

Segundo Richardson e Bowron (1985), há três destinos possíveis para qualquer fármaco individual quando entram nas ETEs: pode ser biodegradável, ou seja, mineralizado a gás carbônico e água, como é o caso da aspirina; pode passar por algum processo metabólico ou ser degradado parcialmente, como ocorre com as penicilinas; ou então, pode ser persistente, como ocorre com o clofibrato.

Os fármacos utilizados para tratamento veterinários são excretados pela urina e fezes no solo ou diretamente em águas superficiais, sem passar por uma ETE. Este solo pode se tornar uma fonte de contaminação de águas superficiais e subterrâneas (ALDER et al., 2010).

Halling-Sørensen (1998) afirmam que grandes criações de gado, podem indiretamente contribuir para a introdução de produtos farmacêuticos no ambiente, através da aplicação de esterco como fertilizante. Outra fonte de entrada de fármacos no ambiente aquático são os efluentes de ETEs, devido à baixa eficiência dos processos para remoção dessas substâncias que estão em concentrações baixas (ESCHER et al., 2011).

Pesquisas apontam que ETEs convencionais, baseadas principalmente em microrganismos (tratamento biológico), são insuficientes para eliminar fármacos devidos a suas características moleculares, estruturas complexas e baixa concentração em água (KATSUMATA, 2014). Segundo Rivera-Utrilla, (2013) em alguns casos a porcentagem removida desse composto pode ser menor que 10%.

Melo et al. (2009) afirmam que fármacos de diversas classes terapêuticas como, antibióticos, hormônios, antilipêmicos, anti-inflamatórios, analgésicos entre outros foram detectadas em efluente doméstico, águas superficiais e subterrâneas em várias partes do mundo.

### 3.2 EFEITOS DOS COMPOSTOS FARMACÊUTICOS NO MEIO AMBIENTE

Os fármacos são elaborados para atingir rotas metabólicas e moleculares específicas tanto nos seres humanos quanto em animais, mas também possuem efeitos colaterais importantes. Quando essas substâncias são inseridas no meio ambiente pode afetar os organismos pelas mesmas rotas e atingir órgãos, tecidos, células ou biomolécula em funções semelhantes às dos humanos (FENT; WESTON; CAMINADA, 2006).

A ocorrência de fármacos residuais no meio ambiente pode apresentar efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres. Segundo Jørgensen; Halling-Sørensen (2000) o efeito pode ser em qualquer nível de hierarquia biológica: célula – órgãos – organismo – população – ecossistema. A presença desses compostos pode interferir na fisiologia, no metabolismo e no comportamento das espécies, além de causar efeitos secundários, os quais podem alterar a defesa imunológica de organismos tornando-os mais susceptíveis a parasitas e doenças.

Os efeitos específicos ou o modo de ação desses resíduos de fármacos são pouco conhecidos, sendo que nos organismos em seus ambientes eles podem agir de forma diferente. As pesquisas ecotoxicológicas realizadas atualmente são desenvolvidas com microrganismos tradicionais, com objetivo de se determinar a mortalidade dos mesmos (PETROVIĆ et al., 2005).

Assim, a ecotoxicologia testa geralmente o efeito agudo (exposição em curto prazo) desses compostos em organismos vivos de diferentes níveis tróficos e, só

raramente os testes são conduzidos a exposição crônica (exposição em longo prazo). Estes testes deveriam ser realizados para se observar o efeito dos fármacos em pequenos vertebrados e invertebrados baseando na hipótese de semelhança no modo de ação (FENT; WESTON; CAMINADA, 2006).

Pesquisas em laboratórios realizados com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) expostas a diclofenaco apontam o acúmulo deste composto nos músculos, brânquias, rins e fígado dos animais (SCHWAIGER et al., 2004).

Segundo Hoeger et al. (2005) um estudo realizado com truta marrom (*Salmo trutta f. fario*), peixe nativos dos rios alemães, expostos a concentrações de diclofenaco semelhantes às registradas em ambientes aquáticos observaram alterações no fígado e na integridade das brânquias dos animais expostos.

Resultados de ensaios de ecotoxicologia, com ácido clofíbrico, mostraram que este composto pode provocar a mortalidade de embriões de peixes e inibir o crescimento de algas (HENSCHERL et al., 1997). A ocorrência de estrogênios pode causar anomalias no crescimento da concha de mexilhões machos e fêmeas da espécie *Elliptio complanata* (GAGNÉ; BLAISE; HELLOU, 2004).

Existe uma preocupação crescente em relação aos possíveis efeitos a saúde humana devido à presença de fármacos e seus resíduos no ambiente, pois estes compostos podem acumular-se nos organismos de animais aquáticos e atingir, conseqüentemente por meio da alimentação, o ser humano.

Segundo Ghiselli (2006) e Sodré; Locatelli e Jardim (2009) estas substâncias podem ser ingeridas através do consumo de água tratada destinada ao abastecimento público. Existe pouca informa o sobre os possíveis efeitos que os fármacos e seus r s duos podem causar a saúde humana. Estudos realizados com alguns animais vertebrados e invertebrados em laboratório ou organismos retirados de ambientes contaminado podem servir de base aos possíveis efeitos adversos dos fármacos sobre a saúde humana.

### 3.3 ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos são compostos naturais ou sint ticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de microrganismos, tais como bactérias, fungos,

protozoários ou até alguns tipos de vírus. São considerados como bactericidas, quando a bactéria morre, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALS, 2003).

Os antibióticos são usados extensivamente na medicina humana e veterinária, na aquicultura com finalidade de prevenir ou tratar infecções microbianas. Segundo Halling-Sørensen (1998) os antibióticos são utilizados no tratamento terapêutico da bovinocultura, promotores de crescimento em avícola e aditivo de alimentos na criação de suínos.

Pesquisas recentes mostraram que vários antibióticos veterinários possuem uma ocorrência em águas superficiais, tanto em situações aeróbicas e anaeróbicas (BASTOS, 2012).

### 3.3.1 Resistência bacteriana

Este assunto tem se tornando cada vez mais importante no meio científico, pois muitos estudos têm apontado o aumento da resistência bacteriana à diversas substâncias farmacêuticas de uso comum.

Os antibióticos apresentam diferentes efeitos sobre os organismos quando presentes no meio ambiente. A resistência microbiana é um destes efeitos que foi acelerado principalmente pelo uso indiscriminado destes fármacos.

Segundo Berger; Petersen e Buening-Pfaue (1986), existem três fatores que podem contribuir para o desenvolvimento e disseminação de microrganismos resistentes: a mutação em genes comuns que estendem o seu espectro de resistência, a transferência de genes de resistência entre diversos microrganismos e os processos de seleção natural.

De acordo com Sahoo et al. (2010) as bactérias, quando expostas a baixa dose de antibiótico, vão gradualmente se tornando tolerantes. Este quadro é agravado, uma vez que os fármacos não são removidos durante os processos convencionais de tratamento de esgoto (BILA; DEZOTTI, 2003; ALMEIDA; WEBER, 2009).

O aumento do uso de antibióticos durante as últimas cinco décadas resultou em uma seleção genética de bactérias resistentes, com efeito em longo prazo e, provavelmente, irreversíveis (SANDERSON et al., 2004). De acordo com Miranda e

Castilho (1998), espécies de *Aeromonas* que foram isoladas dos ambientes aquáticos, desenvolveram resistência a diversos antibióticos testados. Dentre esses destacam-se o cloranfenicol, a trimetropima, o sulfametoxazol e a tetraciclina.

Depizzol et al. (2005), descreveu a resistência microbiana de cepas de *Escherichia coli* isoladas de esgoto bruto hospitalar e sanitário. Estas apresentaram resistência aos 14 antibióticos testados, entre eles sulfametoxazol e tetraciclina. Um estudo semelhante com a espécie *Escherichia coli*, isolada de água do subsolo de uma região rural, verificou resistência em relação a 16 antibióticos testados (MCKEON; CALABRESE; BISSONNETE, 1995).

Com o objetivo de minimizar os riscos associado ao uso irracional dos antibióticos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicou uma Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 44 em 18 de agosto de 2009, que passou a restringir a prescrição e venda de antibiótico mediante retenção e validade das receitas (BRASIL, 2009).

Analisando esses aspectos, os compostos farmacológicos podem alcançar o solo, águas superficiais, águas subterrâneas, e até mesmo a água utilizada para o consumo humano através de diversas vias, promovendo o desenvolvimento e resistência por parte das bactérias presentes nos ambientes sujeitos a este tipo de exposição.

### 3.3.2 Tetraciclina

O primeiro antibiótico dessa família foi aureomicina (clortetraciclina), descoberta em 1948 por Benjamin Minge Duggar, obtida a partir da fermentação natural de culturas da bactéria do solo, *Streptomyces aureofaciens* (BORGHI; PALMA, 2014).

As tetraciclinas livres são substâncias anfóteras cristalinas de baixa solubilidade, sendo comum encontrá-la nas formas oxitetraciclina ou cloridrato de tetraciclina, que são mais solúveis e possuem boa estabilidade (OCAMPO-PEREZ et al., 2012).

A Figura 2 apresenta a estrutura do Cloridrato de Tetraciclina (também conhecida somente como tetraciclina). A fórmula química é  $C_{22}H_{24}N_2O_8$  e a massa molar  $444,435 \text{ g.mol}^{-1}$ .

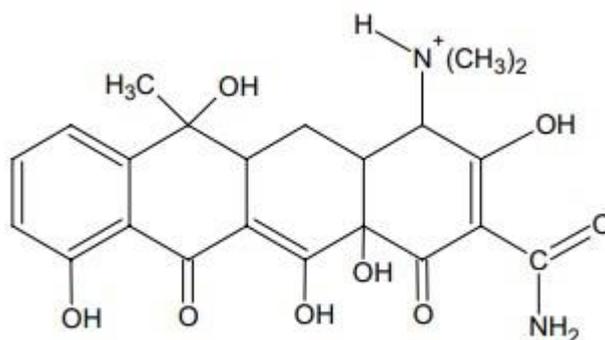


Figura 2 – Estrutura química da TC.  
Fonte: YUAN et al., 2011.

Este composto é um pó cristalino, inodoro, de sabor amargo e levemente higroscópico. É estável ao ar, escurece quando exposto a ação da luz solar intensa, em presença de umidade. Sua potência é afetada em soluções de pH abaixo de 2 e é lentamente destruída em Soluções de hidróxidos alcalinos. Caracterizado por apresentar uma estrutura molecular com quatro anéis, com grupo funcional de carboxilamida, metanotricarbonilo, dicetona fenólica e dimetil de amônia.

A tetraciclina pode ser utilizada, para o controle de diversas infecções causadas por bactérias, atuando como agentes bacteriostáticos, inibindo a síntese da proteína microbiana. Este antibiótico é amplamente utilizado tanto na medicina humana quanto veterinária, por causa do seu amplo espectro de ação e de suas vantagens financeiras (OKA; ITO; MATSUMOTO, 2000). Também é utilizada como aditivo na alimentação de animais confinados para aumentar a taxa de crescimento dos mesmos (BUTH, 2009).

A família da tetraciclina foi o segundo grupo de antibióticos mais utilizados no início do século XX. Considerando que absorção da tetraciclina é de 60 a 80%, a substância não metabolizada é eliminada pelas fezes e urina, e sem o devido tratamento de remoção podem ser inseridas como micropoluentes em rios e lagos. (ADDAMO et al., 2005).

### 3.4 TRATAMENTO DE EFLUENTES

O tratamento de efluentes tradicionalmente utilizado nas indústrias farmacêuticas consistem em tratamento físico-químico, seguido de tratamento biológico. O tratamento físico-químico é destinado à remoção de sólidos em suspensão e materiais coloidais pelos processos físicos (sedimentação e filtração), químicos (coagulação e floculação) ou por sistemas combinados. No tratamento físico-químico, os poluentes são transferidos da fase líquida para a sólida na forma de lodo e não ocorre a degradação ou eliminação dos contaminantes.

O tratamento biológico consiste na degradação da matéria orgânica, remanescente do tratamento primário, por microrganismos aeróbicos e anaeróbicos.

De acordo com Vasconcelos et al. (2009), os tratamentos de efluentes tradicionais não são suficientes para degradar os poluentes de origem farmacêutica, contidos em efluentes hospitalares e urbanos, que seguem para o meio aquático produzindo efeitos ecotoxicológicos. Uma das explicações da ineficiência do tratamento de lodo deve-se ao fato dos fármacos apresentarem moléculas persistentes e de extrema complexidade (BILA; DEZOTI, 2003) além de terem baixa biodegradabilidade e alta toxicidade (KUMMERER; ALAHMAD; MERSCHSUNDERMANN, 2000), podendo causar efeitos mutagênicos e carcinogênicos (BENDESKY; MENÉNDEZ. OSTROSKY-WEGMAN, 2002).

### 3.5 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Os tratamentos aplicados atualmente nas estações de tratamento de esgoto são ineficazes para a remoção de compostos orgânicos complexos. Com o objetivo de resolver esse problema ambiental existe a necessidade de se desenvolver novas tecnologias e novos processos de tratamentos visando a remoção dessas substâncias. Uma das alternativas para tratamento de águas e efluentes contendo POEs são os processos oxidativos avançados (POAs).

POAs são alternativas que proporcionam a degradação dessas substâncias, sem troca de fase, e podem ser aplicadas tanto na saída das ETEs quanto nas etapas finais do tratamento (KIM; YAMASHITA; TANAKA, 2009). Os POAs são definidos

como processos envolvendo geração de agentes oxidantes fortes, sendo o principal agente radical hidroxila (OH•) (TARR, 2003).

Os radicais OH• reagem com diferentes grupos funcionais, formando radicais orgânicos instáveis, que são oxidados em seguida à CO<sub>2</sub>, ácidos inorgânicos e água (BRITO, 2012). A Tabela 1 ilustra os principais tipos de processos oxidativos conhecidos.

**Tabela 1 – Classificação dos principais Processos Oxidativos Avançados (POAs).**

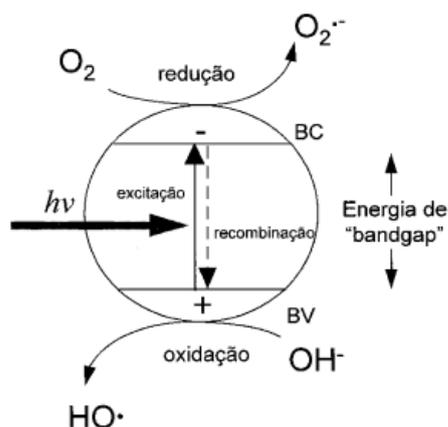
Sistemas irradiados ou fotoativados	Homogêneos	O <sub>3</sub> /UV H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV Ultra-Som UV/Ultra-Som H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Ultra-Som Feixe de elétrons Foto-Fenton
	Heterogêneos	SC/O <sub>3</sub> /UV SC/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV
Sistemas não-irradiados ou não fotoativados	Homogêneos	O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Heterogêneos	Eletro-Fenton

\* SC: Semicondutor (TiO<sub>2</sub>, ZnO, entre outros).

Fonte: COSTA; CANGERANA, 2016.

Existem diferentes métodos para à geração de OH•, podendo eles depender ou não da absorção de luz UV-Vis (SANTOS, 2014). Entre os métodos que dependem da absorção de luz, destacamos a fotólise homogênea – que ocorre em uma solução homogênea contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou O<sub>3</sub> – e a fotólise heterogênea – a qual necessita de um semicondutor (FIOREZE, 2014).

A fotólise heterogênea tem como princípio básico a excitação de um semicondutor – normalmente o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) –, produzindo sítios oxidativos e redutivos em sua superfície. No processo, o semicondutor absorve um fóton, promovendo um elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC), gerando uma lacuna na BV. A lacuna cria os sítios capazes de catalisar reações químicas – os potenciais adquiridos são capazes de gerar radicais OH• a partir de moléculas de água, que posteriormente oxidam o contaminante alvo (SILVA, 2007). Na figura 3 é apresentada a simplificação do mecanismo da fotoativação do TiO<sub>2</sub>.



**Figura 3 – Processo de fotoativação do catalisador TiO<sub>2</sub>.**  
**Fonte: NOGUEIRA, JARDIM (1998).**

O fóton de energia necessária para superar o *bandgap* e promover o elétron, deve ser igual ou superior a 3,2 eV, o que é equivalente a um comprimento de onda de 380nm. Dessa forma, “a luz solar pode ser utilizada como fonte de radiação, uma vez que comprimentos de onda nessa faixa representam, aproximadamente, 3% do espectro solar que atinge a superfície terrestre” (FERREIRA, 2005).

Embora o TiO<sub>2</sub> seja o semicondutor mais utilizado devido a inúmeros fatores – não-toxicidade, insolubilidade em água, estabilidade química, resistência mecânica etc – não existe um consenso sobre seu mecanismo de ação.

Existem ainda métodos de degradação que não dependem da geração de radicais (OH•), como é o caso da fotólise direta. Este processo depende apenas da absorção da radiação incidente no contaminante, resultando na sua degradação a partir de seu estado excitado. Os resultados da fotólise direta, em geral, possuem uma eficiência menor que os processos envolvendo a geração de radicais altamente oxidantes. Porém, em certos casos é um método tão eficaz quanto os demais (PEIXOTO, 2013).

A absorção da luz produz um estado eletricamente excitado, que é extremamente energético e pode desativar-se para o estado fundamental, tanto por processos físicos quanto por reações químicas térmicas (PARSONS, 2005).

Para os processos fotoquímicos a transparência óptica do líquido a ser tratado é de grande importância. Com o aumento da turvação a eficácia da ativação dos oxidantes através dos raios ultravioleta diminui devido à absorção da radiação ultravioleta por outras substâncias contidas no meio reacional (KAMMRADT; FERNANDES, 2004).

### 3.6 DELINEAMENTOS EXPERIMENTAIS

A ferramenta quimiométrica de delineamento experimental (do inglês, *Design of Experiments - DoE*) é uma técnica estatística para o planejamento, condução, análise e interpretação de dados químicos (HIBBERT, 2012).

Com intuito de se obter uma investigação mais consistente, atendendo aos padrões de qualidade, cada vez mais exigentes da comunidade científica e das agências reguladoras (GOOSSENS et al., 2007), a técnica de delineamento experimental, possui um benefício notável que é a menor necessidade de experimentação, mas ainda assim, fornecendo o máximo de informações, e ainda facilita a interpretação dos dados. Isso se deve, entre outras facetas complicadas que o método realiza, de calcular os coeficientes relacionados de forma precisa para todos os  $n$  fatores e suas interações, sendo muito mais válido que os coeficientes comumente calculados de forma univariável (LEARDI, 2009; RICOU-HOEFFER et al., 2001).

Ao contrário da otimização do tipo OVAT que considera individualmente cada variável, desconsiderando a interação entre elas, não garantindo o melhor rendimento possível, uma vez que, só seria possível obter o melhor rendimento por meio do OVAT quando as variáveis são totalmente independentes entre si (LEARDI, 2009; HIBBERT, 2012).

Nesse contexto, existe uma série de vantagens ao se utilizar a ferramenta DoE e a análise da superfície de resposta, é possível investigar a influência das variáveis em um processo e a forma de interação entre estas, além da obtenção dos valores das variáveis que otimizem os resultados. A superfície de resposta é composta por duas etapas distintas (modelagem e deslocamento) em que ambas devem ser repetidas quantas vezes forem necessárias, objetivando atingir a região ótima da superfície investigada (BARROS NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007).

### 3.7 ACTINOMETRIA

A actinometria química consiste em um método simples de medição da intensidade de radiação luminosa incidente sobre um reator fotoquímico. O método permite determinar a taxa de incidência de fótons em um sistema de geometria

específica e domínio espectral da radiação bem definido. A medida desta intensidade é fácil de ser feita quando a radiação incidente tem somente comprimento de onda (BRAUN; MAURETTE; OLIVEIROS, 1991).

De acordo com Telemaco (2008), a intensidade de radiação nos reatores fotoquímicos depende da potência da fonte luminosa, do material de construção do reator e de sua geometria. Uma forma de determinar a intensidade média de radiação no interior do reator fotoquímico é feita através da utilização de substâncias actinométricas, cujo rendimento quântico, para o comprimento de onda de interesse, é conhecido. A partir da quantidade de reagente consumido ou do produto formado, durante o tempo de irradiação, é possível calcular a intensidade média de radiação. A determinação dos rendimentos quânticos padrões normalmente é feita para a luz monocromática em experimentos em laboratório.

Entretanto, em experimentos de fotodegradação utilizam-se lâmpadas policromáticas (normalmente emitindo entre 200-600 nm). Desta maneira a actinometria pode ser realizada em lâmpadas policromáticas com o objetivo de determinar o fluxo de fótons total dentro desta faixa espectral. Este procedimento está bem descrito em Braun et al., 1991 e Bossman et al., 1998.

### 3.8 BIOINDICADORES

De acordo com Zamoner (2017) “Bioindicadores são fatores bióticos empregados para o reconhecimento de condições de ecossistemas, ou seja, as espécies que vivem em determinado local e são adaptadas as condições naturais do meio, quando exposta a alterações do seu habitat indicam de forma a não realizarem atividades que antes normalmente realizava; como por exemplo: não se reproduzindo ou até mesmo morrendo.

Os bioindicadores podem ser definidos como “um determinado organismo biológico (microrganismos, plantas, animais) que, por meio das alterações físicas, químicas ou biológicas causadas no ambiente em que vivem, indicam a variação que ocorreu em seu meio, de forma que na sua normalidade não ocorreria. É possível, por meio dos bioindicadores, avaliar o comportamento entre as interações do ambiente

em que estão alocados e, permitem também a quantificação dos danos e a possível reversão dos impactos causados naquele meio” (ARIAS et al., 2007).

Algumas espécies podem ser aplicadas em substituição de equipamentos de detecção. Entre os organismos mais conhecidos como indicadores destacam-se as plantas vasculares, as briófitas, as algas, os invertebrados e os vertebrados (LIJTEROFF; LIMA; PRIERI, 2008).

### 3.8.1 Ecotoxicidade

O estudo da ecotoxicidade aquática têm tido recorrente uso para a determinação de efeitos que prejudicam a saúde em organismos vivos, em virtude, principalmente, do potencial risco da transferência de poluentes do ambiente para a biota, bem como na avaliação da qualidade da água sobre eles (FERREIRA, 2002).

As abordagens envolvendo a seleção dos organismos alvo podem ser conduzidas através de testes experimentais com metodologias distintas, estabelecidas de acordo com os objetivos que se procuram alcançar nessas avaliações (LOMBARDI, 1999).

A avaliação do potencial tóxico de misturas complexas, tais como as provenientes de águas poluídas por dejetos orgânicos não é um processo fácil. Em águas de rios e represas deve-se sempre levar em consideração a diluição pontual dos xenobióticos oriunda das águas de contribuição, as relações antagonistas entre as substâncias, a rápida associação que ocorre entre a maioria das partículas e a matéria húmica e a sedimentação de sólidos em suspensão (BAGLIANO, 2012).

### 3.8.2 *Escherichia coli* como bioindicador

De acordo com a resolução nº 357, de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) e da portaria 518 de 25 de março de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria do grupo coliforme pertencente à família *Enterobacteriaceae*, oxidase gram negativa que fermenta a lactose e o manitol.

É a única espécie termotolerante cujo *habitat* exclusivo é o intestino humano e de animais homeotérmicos, onde ocorre em número elevado. Essa espécie é considerada, pela legislação vigente, o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual existência de organismos patogênicos (ANVISA 2004, CONAMA 2005). Embora *E. coli* tenha sido mais intensamente estudada, que os outros microrganismos, os conhecimentos sobre o metabolismo em seu habitat natural, o intestino de mamíferos, foram adquiridos nos últimos anos (Munõz-Elias, Mckinney 2006).

De acordo com Kaper et al. (2004), algumas estirpes de *E. coli* podem causar uma das principais doenças infecciosas do trato urinário, acometendo principalmente mulheres e crianças. Estudos diversos têm avaliado a sobrevivência de *E. coli* em diferentes ambientes, incluindo água salgada, doce, sedimentos aquáticos, solos e locais de criação de gado, com acúmulo de resíduos fecais (Zhai et al.1995, Jones 1999).

Embora *E. coli* não seja considerada persistente, uma vez que a mesma é lançada do trato digestivo através das fezes dos animais, misturada ao solo, essa bactéria pode permanecer viável por vários meses (Barker et al. 1999, Jones 1999, Solo-Gabriele et al. 2000).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 REAGENTES, PADRÕES E SOLUÇÕES

O fármaco tetraciclina (TC) foi adquirido na forma de padrão analítico da marca (Sigma-Aldrich®) com pureza de  $\geq 95,0\%$ . Foram preparadas soluções estoque desse fármaco a  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , avolumadas em água ultrapura onde foram adicionadas algumas gotas de acetonitrila para solubilizar, e conservadas a  $4^\circ\text{C}$  sob refrigeração, protegidas da luz.

As reações de fotocatalise homogênea (foto-Fenton) foram realizadas utilizando peróxido de hidrogênio P. A. ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , Alpathec®) e sulfato de ferro (II) heptaidratado ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , Dinâmica®). As reações de fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) foram realizadas utilizando o peróxido de hidrogênio P.A. ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , Alpathec®) e com o dióxido de titânio P.A. ( $\text{TiO}_2$ , Dinâmica®).

Para a preparação das soluções tampões de fosfato, foram utilizados os seguintes reagentes, fosfato de potássio monobásico anidro P.A. ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , Êxodo®), fosfato de potássio dibásico P.A. ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , Alphatec®) e ácido fosfórico 85% P.A. ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ , Moderna®). As soluções tampões foram preparadas conforme a Tabela 2.

**Tabela 2 – Preparo de solução tampão fosfato.**

pH	Preparo
2	5,440 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4$ + 0,5 mL de $\text{H}_3\text{PO}_4$ e diluir para 200 mL com água ultrapura.
3	5,440 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4$ + 0,3 mL de $\text{H}_3\text{PO}_4$ e diluir para 200 mL com água ultrapura.
4	5,440 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4$ e diluir para 200 mL com água ultrapura.
5	5,1664 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4$ + 0,085 mL de $\text{H}_3\text{PO}_4$ e diluir para 200 mL com água ultrapura.
7	1,572 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4$ + 0,948 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4$ e diluir para 200 mL com água ultrapura.

**Fonte: Autoria própria.**

Para a preparação das soluções e meios de cultura para as análises microbiológicas, foram utilizadas o ágar PCA (Plate Count Agar, KASVI®), o ágar EMB (Eosina Azul de Metileno, HIMEDIA®), Água Peptona Tamponada (ION®), cloreto de sódio P.A. (Alphatec®). A cepa padrão de referência utilizada para os ensaios microbiológicos foi a *Escherichia coli* (*E. coli*, Microbiologics® derivada da ATCC® 25922™).

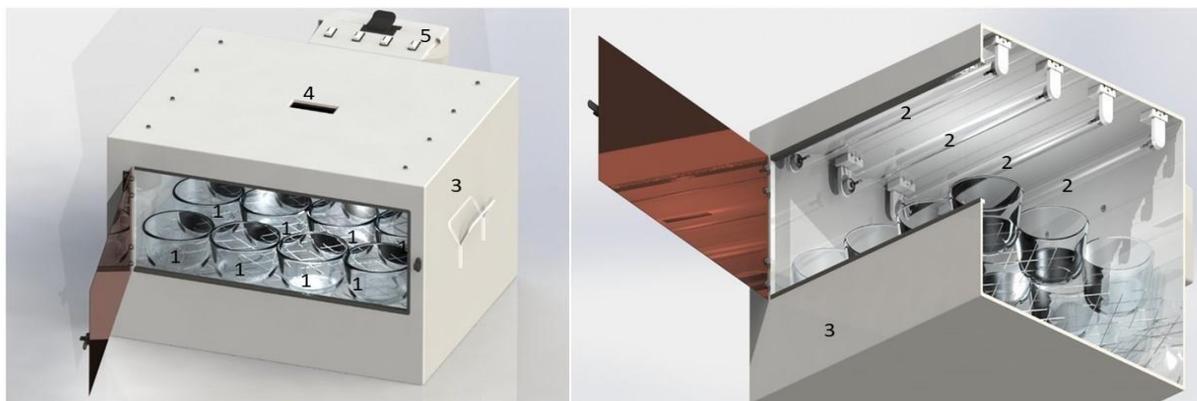
## 4.2 INSTRUMENTAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA TETRACICLINA E CALIBRAÇÃO ANALÍTICA

Nos ensaios preliminares e individuais, os espectros de absorvância foram obtidos com o auxílio do espectrofotômetro de absorção molecular UV/VIS de varredura de feixe simples, (PerkinElmer™ LAMBDA XLS), no intervalo de 200 a 400 nm com resolução de 2nm. Foram utilizadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm.

Foram preparadas soluções com concentração de 5, 10, 15, 20 e 25 mg L<sup>-1</sup> de tetraciclina nos pH 2, 3, 4, 5 e 7 do fármaco, sendo então obtida a curva de calibração para identificar os máximos de absorção do fármaco e seu perfil espectroscópico.

## 4.3 SISTEMA REACIONAL (REATOR)

Foi utilizado um reator em escala laboratorial, operando em sistema batelada, constituído por quatro recipientes de 250 mL colocados no interior do reator sobre quatro agitadores magnéticos com aquecimento (Fisatom®). O reator é constituído por uma caixa de metal com dimensões, 57 cm x 47 cm x 47 cm, selada afim de aumentar a incidência de radiação UV sobre a solução. A caixa é equipada com quatro lâmpadas de mercúrio PURITEC HNS 15 W de baixa pressão (OSRAM™ Germicidal) utilizada como fonte de radiação UV, fixada na parte superior a cerca de 20 cm de distância da solução (Figura 4). A temperatura dentro do reator manteve-se em torno de 40°C após 20 min devido a radiação gerada pela lâmpada.



Legenda: 1 Reator ;  
2 Fonte de Radiação UV;  
3 Revestimento de metal;  
4 Visor para interior do reator;  
5 Interruptor lâmpadas.

**Figura 4 - Esquema do sistema utilizado para fotocatalise (homogenea e heterogenea) artificial.**  
Fonte: BAZEI, 2019.

As lâmpadas do reator foram ligadas com 20 minutos de antecedência e para cada experimento os recipientes do reator foram preenchidos com 125 mL da solução do analito, em duplicata segundo o delineamento experimental previamente definido. Alíquotas de 5 mL dessa solução foram retiradas em intervalos de tempo.

#### 4.3.1 Actinometria

O método de actinometria utilizado foi o de ferrioxalato (BRAUN; MAURETTE; OLIVEROS, 1991). Preparou-se uma solução para actinômetro de ferrioxalato  $0,75 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido oxálico ( $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) e  $0,15 \text{ mol L}^{-1}$  de Sulfato de Ferro III Pentahidratado ( $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) com volume de 250 mL em uma sala escura. Para evitar a oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  pelo  $\text{O}_2$  dissolvido, a água foi fervida em chapa com aquecimento (SL95 Solab®) e em seguida o recipiente foi vedado com plástico filme até o uso.

A solução do actinômetro foi então adicionada ao reator, e o experimento conduzido por 30 minutos, com alíquotas de 0,25 mL coletadas em intervalos de 2 minutos. As amostras foram transferidas para frascos âmbar encapados com papel alumínio contendo 24,75 mL de solução complexante composta de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , acetato de sódio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e 1,10-fenantrolina ( $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ .

Os dados da cinética deste procedimento de actinometria foram obtidos por meio da análise da concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  formado durante o período de exposição à radiação UV. A concentração molar do  $\text{Fe}^{2+}$  foi medida pela absorbância do complexo  $\text{Fe}^{2+}$ -fenantrolina de cor vermelha a 510 nm.

Neste sentido, o frasco foi deixado em repouso por 90 minutos (tempo necessário para o actinômetro reagir com o complexante) e em seguida as amostras foram analisadas para determinação do  $\text{Fe}^{2+}$  utilizando espectrofotômetro no intervalo de 200 a 800 nm com resolução de 2 nm no comprimento de onda ótimo de 510 nm. De acordo com Braun et al. (1991) no comprimento de onda de 510 nm o coeficiente de absorção molar do complexo  $\text{Fe}^{2+}$ -fenantrolina é alto.

O rendimento quântico para a fotólise do complexo ferrioxalato, apropriado para UV visível no intervalo de 250 a 436 nm é aproximadamente igual a 1,24, conforme mostra a Figura 5 (BRAUN; MAURETTE; OLIVEROS, 1991).

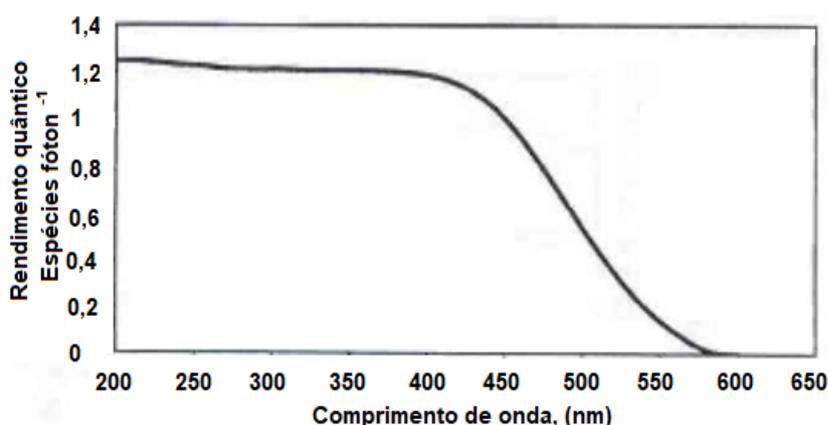


Figura 5 – Rendimento quântico para formação de íons Fe (II) a partir de ferrioxalato. Fonte: Adaptado de Braun; Maurette; Oliveros, 1991.

A intensidade de luz incidente ( $\text{Einstein s}^{-1}$ ) é calculada pela Equação 1:

$$I_i = \frac{V_1 \cdot V_3 \cdot \Delta A}{\varnothing_{\text{Fe}} \cdot t \cdot V_2 \cdot I \cdot \varepsilon \cdot f} \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

$I_i$  = intensidade de luz incidente;

$\varnothing_{\text{Fe}}$  = rendimento quântico do actinômetro irradiado;

$t$  = tempo de irradiação em segundos;

$f$  = fração da luz incidente absorvida pela amostra (0,132 a ~510 nm);

$\epsilon$  = absorvidade molar do complexo  $\text{Fe}^{2+}$ -1,10-fenantrolina ( $1,11 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) (CROSBY; DEMAS, 1971);

$l$  = caminho óptico da cela espectrofotométrica ( $\text{cm}^{-1}$ );

$V_1$  = volume da solução do actinômetro irradiado (mL);

$V_2$  = volume da alíquota tomada para diluição (mL);

$V_3$  = volume final ao qual a alíquota  $V_2$  é diluída (mL);

$\Delta A$  = diferença da absorvância 510 nm da solução irradiada e a de referência.

#### 4.4 PROCESSOS OXIDATIVOS DE DEGRADAÇÃO

##### 4.4.1 Otimização das condições de degradação por fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ )

Com o propósito de verificar a influência dos fatores (variáveis independentes) pH,  $[\text{H}_2\text{O}_2]$  e  $[\text{TiO}_2]$  para fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ), utilizou-se de delineamentos experimentais (DoE). Inicialmente, elaborou-se um planejamento fatorial  $2^3$  com 3 repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios.

A concentração do fármaco tetraciclina (TC) foi fixada em  $20 \text{ mg L}^{-1}$ . Os níveis das variáveis independentes utilizadas, estão apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3 – Planejamento fatorial inicial completo  $2^3$  para o processo de fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ).**

Variáveis Independentes	Níveis codificados e reais das variáveis independentes		
	-1	0	+1
pH (A)	2	3	4
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (B)	25	45	65
$[\text{TiO}_2]$ ( $\text{g L}^{-1}$ ) (C)	0,1	0,3	0,5

*PC = Ponto Central (0)*

**Fonte: Autoria própria.**

Para otimizar as condições com a resposta obtidas no planejamento fatorial, utilizou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR) constituído de um fatorial  $2^3$  com dois níveis (-1 e +1), com 3 repetições no ponto central e 6 pontos axiais (-1,68 e +1,68), totalizando 17 ensaios. O DCCR e os níveis das variáveis, cujos

valores foram ampliados em função dos resultados obtidos com o planejamento fatorial, estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4 – DCCR 2<sup>3</sup> para o processo de fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV).**

Variáveis Independentes	Níveis codificados e reais das variáveis independentes				
	-1,68	-1	0	+1	+1,68
pH (A)	2	3	4	5	7
[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) (B)	11,4	25	45	65	78,6
TiO <sub>2</sub> (g L <sup>-1</sup> ) (C)	0,03	0,1	0,3	0,5	0,37

*PC = Ponto Central (0)*

**Fonte: Autoria própria.**

O software Statistica, versão 8.0 (StatSoft™, USA), foi utilizado para determinação dos efeitos das variáveis independentes (pH, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e [TiO<sub>2</sub>]) pela metodologia de superfície de resposta. A resposta utilizada na análise estatística foi a porcentagem de remoção de TC e seu ajuste ao modelo quadrático por meio da ANOVA de regressão com nível de confiança de 95%.

#### 4.4.2 Otimização das condições de degradação por fotocatalise homogênea (foto-Fenton)

Para verificar a influência dos fatores (variáveis independentes) pH, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e [Fe<sup>2+</sup>] para fotocatalise homogênea (foto-Fenton), elaborou-se inicialmente um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> com 3 repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios.

A eficiência do processo de fotocatalise homogênea depende de determinadas variáveis operacionais, com destaque para: pH e concentração de peróxido de hidrogênio (NOGUEIRA et al., 2009). Neste sentido, as concentrações do analito, o pH, e as variações das concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foram escolhidas com base nas metodologias de outros estudos (TAMBOSI, 2008). A concentração do fármaco foi fixada no tratamento de fotocatalise homogênea, 20 mg L<sup>-1</sup>.

Os níveis das variáveis independentes utilizadas, em ordem crescente, (-1, 0, +1), pH (3, 4 e 5), [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] (15, 25 e 35 mg L<sup>-1</sup>) e [Fe<sup>2+</sup>] (25, 35 e 45 mg L<sup>-1</sup>).

Na Tabela 5, seguem os dados experimentais para o tratamento de fotocatalise homogênea (foto-Fenton), com as variáveis codificadas do delineamento experimental.

**Tabela 5 – Planejamento fatorial inicial completo 2<sup>3</sup> para o processo de fotocatalise homogênea (foto-Fenton).**

Variáveis Independentes	Níveis codificados e reais das variáveis independentes		
	-1	0	+1
pH (A)	3	4	5
[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) (B)	15	25	35
[Fe <sup>2+</sup> ] (mg L <sup>-1</sup> ) (C)	25	35	45

PC = Ponto Central (0)

Fonte: Autoria própria.

Para otimizar as condições obtidas com a modelagem inicial efetuada pelo experimento composto central (2<sup>3</sup>) utilizou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR) constituído de um fatorial 2<sup>3</sup> com dois níveis (-1 e +1), com 3 repetições no ponto central e 6 pontos axiais (-1,68 e +1,68), totalizando 17 ensaios. O DCCR e os níveis das variáveis, cujos valores foram ampliados em função dos resultados obtidos com o planejamento inicial, estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6 – DCCR 2<sup>3</sup> para o processo de fotocatalise homogênea (foto-Fenton).**

Variáveis Independentes	Níveis codificados e reais das variáveis independentes				
	-1,68	-1	0	+1	+1,68
pH (A)	3	4	5	6	7
[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) (B)	11,6	15	20	25	28,4
[Fe <sup>2+</sup> ] (mg L <sup>-1</sup> ) (C)	8,2	15	25	35	41,8

PC = Ponto Central (0)

Fonte: Autoria própria.

O software Statistica, versão 8.0 (Statsoft™, USA), foi utilizado para determinação dos efeitos das variáveis independentes (pH, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e [Fe<sup>2+</sup>]). A resposta utilizada na análise estatística foi a porcentagem de remoção de TC.

#### 4.4.3 Cinética de degradação e tempo de meia vida

Os dados experimentais obtidos a partir das condições otimizadas anteriormente para a fotocatalise homogênea e heterogênea, podem ser ajustados aos modelos ordem zero, pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem. Sendo ajustados a estes modelos para avaliar o seu decaimento ao longo do tempo de experimento, assim como, para determinação do tempo de meia-vida da TC.

A determinação da relação entre a taxa de fotodegradação dos fármacos e suas respectivas concentrações (ordem da reação) é uma importante etapa no estudo da

cinética das reações químicas. A ordem da reação é entendida como a dependência da velocidade da reação com a concentração, em que  $C_0$  é a concentração inicial do reagente, e  $C$  a concentração do reagente decorrido um tempo  $t$  de reação.

Se  $dC/dT$  satisfazer à Equação 2,  $n$  será a ordem da reação.

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C^n \quad \text{Equação 2}$$

Quando  $n = 0$  (reação de ordem zero),  $n = 1$  (reação de primeira ordem) e  $n = 2$  (reação de segunda ordem), a Equação 2 levará, respectivamente, às Equações 3, 4 e 5.

$$C = C_0 - k_0 \cdot t \quad \text{Equação 3}$$

$$\ln C = \ln C_0 - k_1 \cdot t \therefore C = C_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} \quad \text{Equação 4}$$

$$C = \frac{C_0}{1 + C_0 \cdot k_2 \cdot t} \quad \text{Equação 5}$$

Em estudos de fotodegradação envolvendo micropoluentes orgânicos, empregados na avaliação da persistência e susceptibilidade à radiação ultravioleta, os modelos representados nas equações 3, 4 e 5 são comumente aplicados para avaliação cinética (CARLSON et al., 2015).

Os dados experimentais obtidos nos ensaios de degradação pela fotocatalise artificial foram ajustados aos modelos (Equações 3, 4 e 5) empregando o *software originPro 8.0* para avaliar o decaimento da concentração do analito ao longo do tempo do experimento. Para determinação do tempo de meia vida de cada analito, foram utilizadas as Equações 6, 7 e 8 (PETRUCCI, 2007).

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{C_0}{2K_0} \quad \text{Equação 6}$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{K_1} \quad \text{Equação 7}$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{K_2 C_0}$$

Equação 8

#### 4.5 BIOENSAIOS UTILIZANDO O MICRORGANISMO *Escherichia coli* COMO BIOINDICADOR

##### 4.5.1 Obtenção dos inóculos

Para os bioensaios microbiológicos foi utilizada a cepa padrão ATCC (American Type Culture Collection): *Escherichia coli* (*E. coli*, Microbiologics® derivada da ATCC® 25922™).

Antes da realização dos bioensaios, a reconstituição da cepa ocorreu por meio de incubação em água peptonada previamente esterilizada, em estufa de incubação por 24 horas a  $35 \pm 2$  °C.

Para o isolamento das colônias de *E. coli*, com auxílio de uma alça de platina utilizou-se da técnica de esgotamento em estrias em placas de Petri contendo o meio de cultura ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Figura 6). Posteriormente, incubou-se as placas contendo as estrias na estufa a temperatura de  $35 \pm 2$  °C por 24 horas.

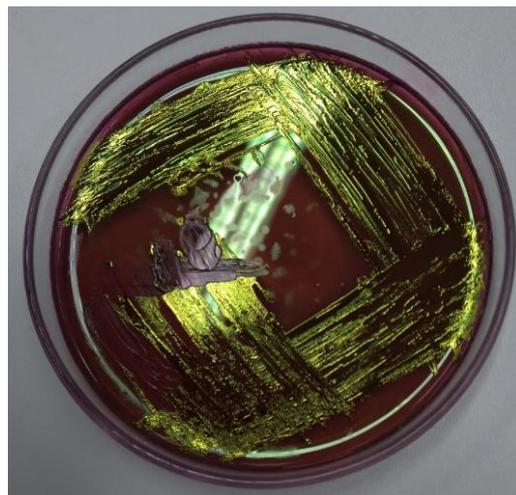


Figura 6 – Ágar EMB contendo colônias de *E. coli*.  
Fonte: Autoria própria.

Transcorrido este período, selecionou-se uma das placas de Petri elaboradas anteriormente (Figura 6), onde utilizou-se cinco colônias isoladas de *E. coli* para a realização de uma diluição seriada ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ) em solução de água salina estéril. Transferiu-se 100  $\mu$ L da solução contida dentro de cada tubo para placas de Petri vazias, em que se realizou a técnica de semeadura *Pour-plate*, adicionando cerca de 20 mL do meio de cultura Plate Count Agar (PCA) fundido e resfriado a uma temperatura de  $45 \pm 2$  °C. Em seguida, homogeneizou suavemente com movimentos circulares.

O procedimento foi realizado em triplicata para ter maior precisão dos resultados, totalizando 18 placas, sendo três 3 placas para cada diluição. As placas preparadas pelo método de *Pour-plate* foram incubadas na estufa a uma temperatura de  $35 \pm 2$  °C durante 24 horas. Após o tempo de incubação, realizou-se a contagem das colônias. Selecionou-se a diluição de  $10^{-4}$  por apresentar um número médio de 181 colônias nas três placas. Posteriormente, realizou-se os cálculos para obtenção do número de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) por mL. O inóculo foi padronizado, em  $1,81 \times 10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>.

#### 4.5.2 Tratamentos empregados nos bioensaios

Com a diluição selecionada anteriormente ( $10^{-4}$ ), realizou-se a degradação do antibiótico TC através dos processos de fotólise direta, fotocatalise heterogênea e fotocatalise homogênea conforme a Tabela 7.

**Tabela 7 – Tratamentos empregados nos bioensaios.**

Tratamentos	Tempo (minutos)	
Controle (inóculo $10^{-4}$ )	0	
A (TC + UV)	0	180
B (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV)	0	180
C (TC + TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV)	0	180
D (TC + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe <sup>2+</sup> /UV)	0	180

**Fonte: Autoria própria.**

A degradação foi realizada em pH = 4, conforme o DCCR estipulou. Posteriormente, as alíquotas de cada tratamento foram neutralizadas com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Mediu-se o valor de pH, quando este valor era equivalente a pH = 7, uma alíquota de 1,0 mL de cada tratamento foi transferida para

para tubos de ensaio contendo 8,0 mL de solução de água salina 0,85% e 1,0 mL do inóculo da diluição selecionada ( $10^{-4}$ ).

Os tratamentos permaneceram em contato com o inóculo durante 2 horas dentro de cada tubo específico onde foram incubados em estufa a  $35 \pm 2$  °C, posteriormente, transferiu-se 100 µL da solução de cada tubo para placas de Petri vazias, onde, realizou-se a técnica de semeadura *Pour-plate*. O procedimento foi realizado em triplicata, totalizando 27 placas.

As placas foram incubadas na estufa a  $35 \pm 2$  °C por 24 horas, por fim, realizou-se as contagens das colônias para cálculo do número de UFC.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA TETRACICLINA

O espectro de absorção do fármaco tetraciclina com concentração de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  e pH 4 é apresentado na Figura 6.

O fármaco TC possui duas bandas máximas de absorção nas regiões de 268 e 360 nm, faixas que são abrangidas no ultravioleta médio, sendo a primeira banda a escolhida para acompanhar a concentração de TC.

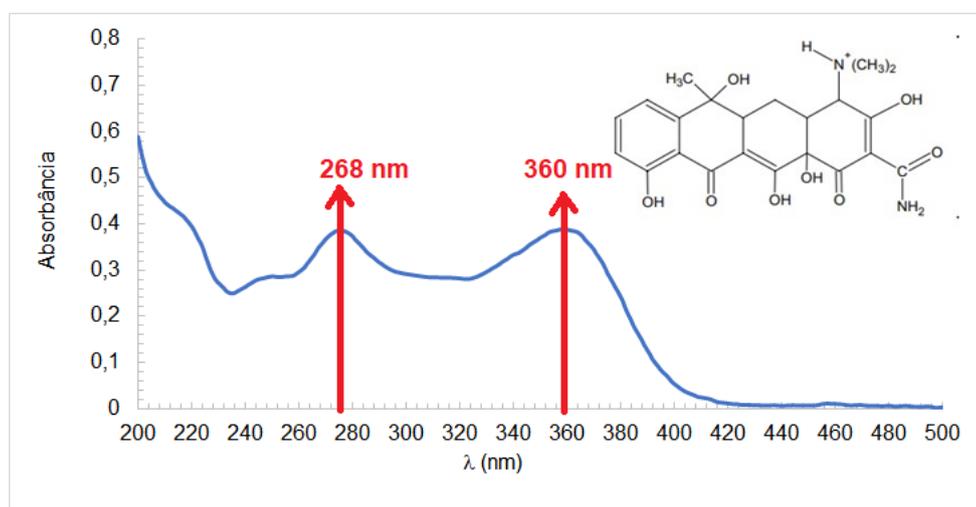
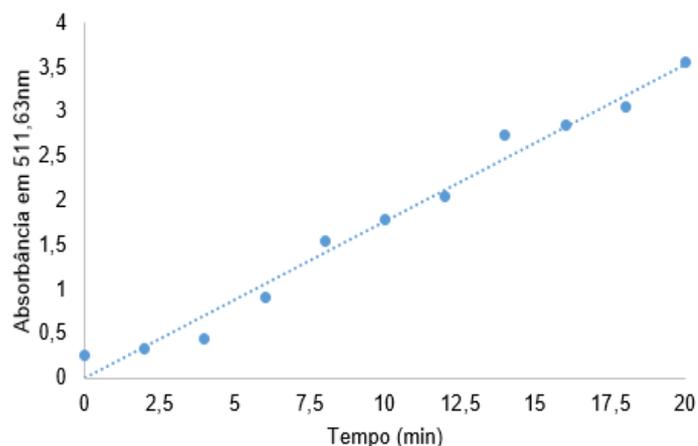


Figura 7 – Espectro de absorção UV-VIS em solução aquosa com concentração de  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de TC e pH= 4, resolução de 2nm e caminho óptico de 1 cm.  
Fonte: Autoria própria.

### 5.2 CARACTERIZAÇÃO ACTINOMÉTRICA DO REATOR FOTOQUÍMICO

Os resultados do experimento actinométrico com ferrioxalato para o reator fotoquímico equipado com quatro lâmpadas de mercúrio de 15 W, de baixa pressão, em 510 nm, está representado na Figura 8. A eficiência das lâmpadas de baixa pressão está na faixa UV-C de radiação, e equivale a 40 %, bastante superior as lâmpadas de média e alta pressão (STÜLP; DE CARVALHO, 2015).



**Figura 8 – Resultado do experimento actinométrico no fotoreator irradiado com 4 lâmpadas de mercúrio de 15 W.**  
**Fonte: Autoria própria.**

Os efeitos bactericidas ocorrem no intervalo de comprimento de onda entre 245 e 285 nm, sendo que o valor de maior efeito desinfetante é de 254 nm (BOLTON, 2000). Neste sentido, nos processos de radiação comumente utilizam lâmpadas de vapor de mercúrio de média ou baixa pressão, que emitem radiação em comprimento de onda de 254 nm (MELO et al., 2009). Os valores utilizados para o cálculo a partir da Equação 1 da dose do fotoreator estão apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8 – Valores utilizados para o cálculo da dose do fotoreator.**

Parâmetros	Valores utilizados
ØFe	1,24
t	1200s
f	0,132
ε	1,11x10 <sup>4</sup> L mol <sup>1</sup> cm <sup>-1</sup>
l	20 cm <sup>-1</sup>
V <sub>1</sub>	250 mL
V <sub>2</sub>	0,25 mL
V <sub>3</sub>	24,75 mL
ΔA	0,150.

**Fonte: Autoria própria.**

De acordo com a Equação 1, a intensidade de luz para o fotoreator utilizado após 20 minutos de ensaio é igual a 4,3 x10<sup>-5</sup> Einstein s<sup>-1</sup>. Estudos utilizando lâmpadas de natureza semelhante reportaram valores de 6,16x10<sup>-6</sup> Einstein s<sup>-1</sup>, 8,10x10<sup>-6</sup> Einstein s<sup>-1</sup>, 4,68x10<sup>-7</sup> Einstein s<sup>-1</sup> (LUO et al. (2018); ARANY et al. (2013); JI et al. (2018)). Assim, pode-se observar que a taxa de irradiação utilizada neste estudo é muito superior comparado aos valores dos estudos citados utilizando o mesmo

processo oxidativo avançado, assim, espera-se obter uma maior taxa de degradação dos analitos.

### 5.3 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE DEGRADAÇÃO FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV)

Utilizando a ferramenta do planejamento experimental e análise da superfície de resposta é possível investigar a influência das variáveis em um processo e a forma de interação entre essas, além de possibilitar a obtenção dos valores das variáveis que otimizem os resultados. A metodologia de superfície de resposta é composta por duas etapas distintas (modelagem e deslocamento) que devem ser repetidas quantas vezes forem necessárias, objetivando atingir a região ótima da superfície investigada (BARROS NETO et al., 2007).

#### 5.3.1 Planejamento Inicial: Experimento composto central (2<sup>3</sup>) + 3 Pontos Centrais

A matriz experimental para o planejamento fatorial inicial (2<sup>3</sup>) é apresentada na Tabela 9, com os níveis de cada fator pH, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>], [TiO<sub>2</sub>] e a eficiência de remoção da tetraciclina (TC) pelo processo de fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV), no decorrer de 11 ensaios, considerando três pontos centrais.

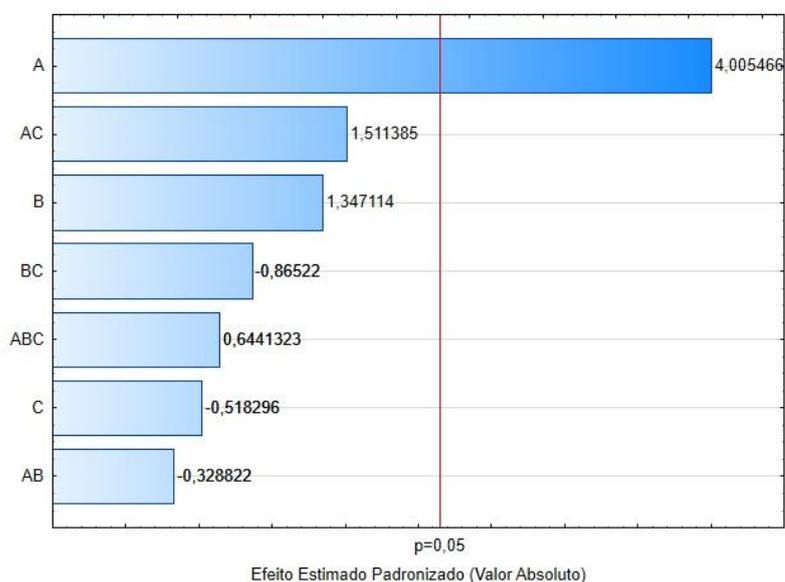
**Tabela 9 – Matriz do planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV) na remoção de TC em meio aquoso.**

Ensaio	Fatores			Variável resposta
	pH codificado (Real)	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) codificado (Real)	[TiO <sub>2</sub> ] (g L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)
1	-1 (3)	-1 (25)	-1 (0,1)	25,80
2	+1(5)	-1 (25)	-1 (0,1)	23,57
3	-1 (3)	+1 (65)	-1 (0,1)	32,89
4	+1(5)	+1 (65)	-1 (0,1)	22,42
5	-1 (3)	-1 (25)	+1 (0,3)	46,43
6	+1(5)	-1 (25)	+1 (0,3)	40,52
7	-1 (3)	+1 (65)	+1 (0,3)	48,62
8	+1(5)	+1 (65)	+1 (0,3)	42,86
9	0 (4)	0 (45)	0 (0,2)	52,29
10	0 (4)	0 (45)	0 (0,2)	53,64
11	0 (4)	0 (45)	0 (0,2)	54,25

Fonte: Autoria própria.

A partir da Tabela 9, os dados foram ajustados para a obtenção do modelo de regressão linear, com os parâmetros avaliados. Para TC o modelo linear apresentou um  $R^2$  de 0,94, significando que 94% da variação na eficiência de remoção do TC, é explicada pelo modelo.

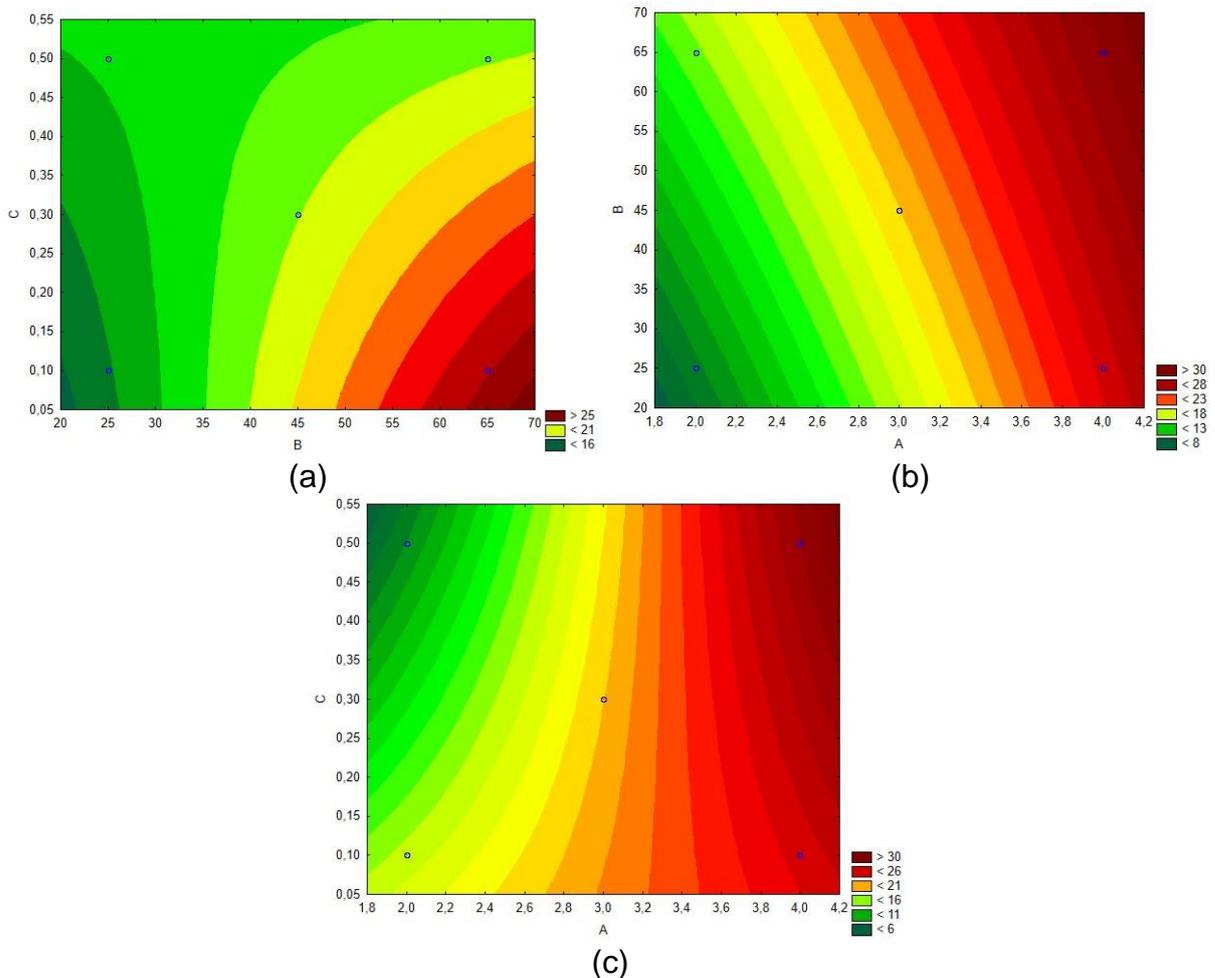
A estimativa dos efeitos em relação à eficiência de remoção de TC é ilustrada no diagrama de Pareto (Figura 9). Os efeitos cujos retângulos estão além da linha tracejada ( $p$ -valor=0,05) são considerados significativos para um intervalo de confiança de 95%.



(A) pH, (B)  $[H_2O_2]$  ( $mg L^{-1}$ ), (C)  $[TiO_2]$  ( $mg L^{-1}$ )  
**Figura 9 – Diagrama de Pareto para remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ).**  
**Fonte: Autoria própria.**

Observa-se na Figura 9 que o fator pH influenciou de forma significativa na remoção do fármaco TC no intervalo de confiança de 95%, valor positivo do coeficiente significa que a eficiência de remoção de TC no sistema em estudo, tende a aumentar com o aumento do pH.

A Figura 10 apresenta o comportamento do processo quanto a eficiência de remoção de [TC] por meio do gráfico de contorno.



(A) pH, (B) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>), (C) [TiO<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>)  
**Figura 10 – Gráfico de contorno com o perfil de eficiência de remoção (%) de TC por fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV) segundo o delineamento fatorial completo 2<sup>3</sup>.  
 Fonte: Autoria própria.**

Observa-se na Figura 10 que as maiores taxas de remoção da TC acontecem em faixa de pH ácido acima de 3, maiores [TiO<sub>2</sub>] e [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]. Os melhores valores de eficiência de remoção encontrados no planejamento inicial, em média de 54%, foram obtidos nos ensaios com pH = 4, concentração 45 mg L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e, concentração de 0,2 g L<sup>-1</sup> de TiO<sub>2</sub>.

Visando à otimização das condições experimentais obtidas com o planejamento inicial, utilizou-se o DCCR. Optou-se por manter as mesmas faixas para as variáveis e com a expansão para os pontos axiais do DCCR.

### 5.3.2 Delineamento Composto Central Rotacional

A matriz experimental para o delineamento composto central rotacional (DCCR) é apresentada na Tabela 10, com os níveis de cada fator pH, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e [TiO<sub>2</sub>] e a variável resposta obtidas quanto à remoção de TC no processo de fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV), no decorrer de 17 ensaios executados aleatoriamente.

**Tabela 10 – Matriz do planejamento DCCR com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise heterogênea na remoção de TC em meio aquoso.**

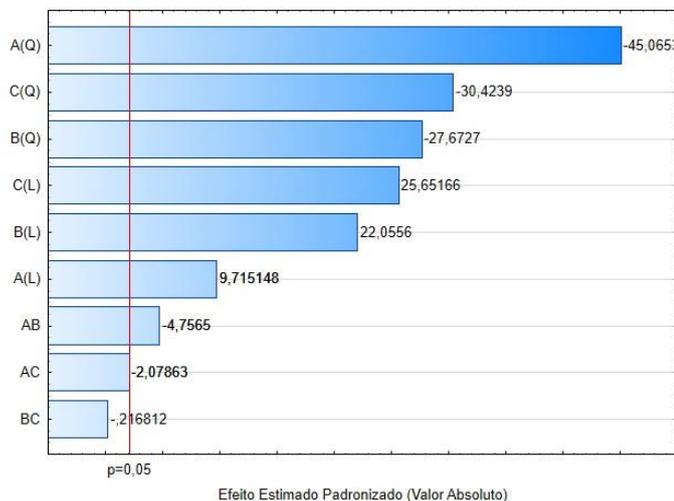
Ensaio	Fatores			Variável resposta
	pH codificado (Real)	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) codificado (Real)	[TiO <sub>2</sub> ] (g L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)
1	-1 (3)	-1 (25)	-1 (0,1)	25,80
2	+1(5)	-1 (25)	-1 (0,1)	23,57
3	-1 (3)	+1 (65)	-1 (0,1)	32,89
4	+1(5)	+1 (65)	-1 (0,1)	22,42
5	-1 (3)	-1 (25)	+1 (0,3)	46,43
6	+1(5)	-1 (25)	+1 (0,3)	40,52
7	-1 (3)	+1 (65)	+1 (0,3)	48,62
8	+1(5)	+1 (65)	+1 (0,3)	42,86
9	0 (4)	0 (45)	0 (0,2)	52,29
10	0 (4)	0 (45)	0 (0,2)	53,64
11	0 (4)	0 (45)	0 (0,2)	54,25
12	-1,68 (2)	0 (45)	0 (0,2)	16,00
13	+1,68 (7)	0 (45)	0 (0,2)	22,37
14	0 (4)	-1,68 (11,4)	0 (0,2)	23,02
15	0 (4)	+1,68 (78,6)	0 (0,2)	41,49
16	0 (4)	0 (45)	-1,68 (0,03)	40,66
17	0 (4)	0 (45)	+1,68 (0,37)	28,12

Fonte: Autoria própria.

Na Tabela 10 tem-se que a maior remoção para a fotocatalise heterogênea da TC, ocorre em pH = 4, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 45 mg L<sup>-1</sup> e [TiO<sub>2</sub>] = 0,2 g L<sup>-1</sup>. Com os resultados experimentais (Tabela 10), obteve-se os valores dos efeitos estimados de cada parâmetro pH e [TC] sobre as variáveis respostas (Figura 11). Os valores que apresentaram p-valor inferior a 0,05 foram considerados significativos para o intervalo de confiança de 95% de confiança.

Observa-se na Figura 11 que todos os fatores influenciaram de forma significativa, assim como suas interações, na remoção do fármaco TC no intervalo de confiança de 95%, o valor negativo do coeficiente para o pH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e TiO<sub>2</sub> significa que

a eficiência de remoção de TC no sistema em estudo, tende a aumentar com a diminuição do pH, já o valor do coeficiente positivo para  $[TiO_2]$  informa que a degradação aumenta com o aumento da  $[TiO_2]$ .



(A) pH, (B)  $[H_2O_2]$  ( $mg L^{-1}$ ), (C)  $[TiO_2]$  ( $mg L^{-1}$ )  
**Figura 11 – Diagrama de Pareto para a remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ) pelo DCCR.**  
**Fonte: Autoria própria.**

A partir dos valores significativos, apresentou-se a equação matemática do modelo de regressão quadrático e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) (Tabela 11).

**Tabela 11 – Modelos matemáticos e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para remoção de TC pelos processos fotocatalise heterogênea ( $TiO_2/H_2O_2/UV$ ) segundo o DCCR.**

Modelo	$R^2$ (%)
$\% = -111,1 (\pm 4,1) + 39,4 (\pm 1,1) A - 4,3 (\pm 0,10) A^2 + 1,73 (\pm 0,1) B + 321,5 (\pm 13,9) C - 633,7 (\pm 20,8) C^2 - 0,06 (\pm 0,01) AB$	71,4

(A) pH, (B)  $[H_2O_2]$  ( $mg L^{-1}$ ), (C)  $[TiO_2]$  ( $mg L^{-1}$ )

**Fonte: Autoria própria.**

Para a remoção de TC o  $R^2$  mostra que 71,4% da resposta foi explicada pelo modelo, sendo que os efeitos lineares dos valores estudados de pH,  $[H_2O_2]$ ,  $[TiO_2]$  e  $[TC]$  foram considerados representativos para tal resposta. Para verificar a qualidade de ajuste do modelo, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), avaliando os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e o teste F para ambas as remoções (Tabela 12).

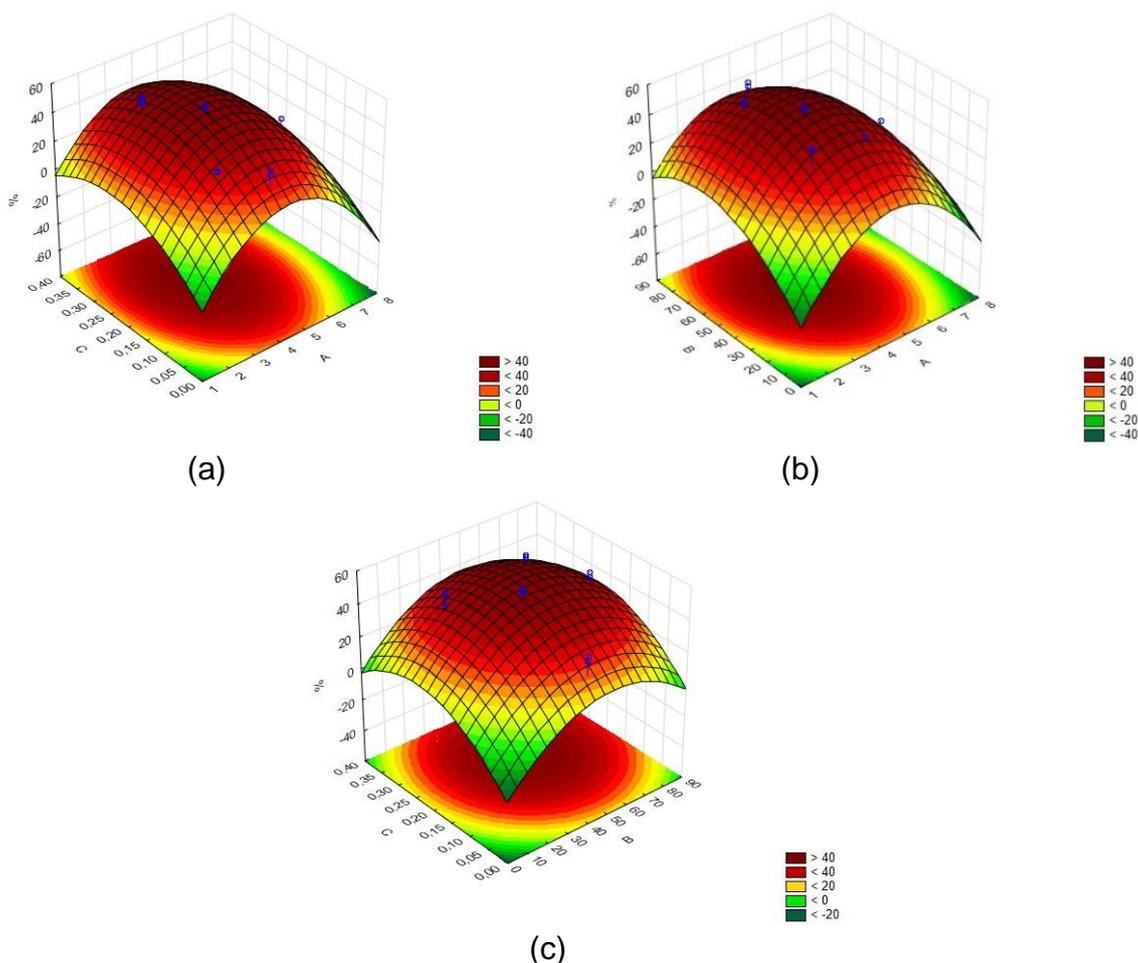
**Tabela 12 – ANOVA do modelo quadrático: eficiência de remoção (%) de TC por fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV).**

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F <sub>cal</sub> (95%)	F <sub>tab</sub> (95%)	F <sub>cal</sub> /F <sub>tab</sub>
Regressão (modelo)	3292,4	9	368,8	4,3	1,9	2,3
Resíduos	2066,1	24	86,1			
Total	5358,5	33				

Fonte: Autoria própria.

Observa-se na Tabela 12 que a razão do  $F_{cal} = 4,3$  pelo  $F_{tab} = 1,9$  para a regressão apresentou valor estatisticamente significativo para a equação de remoção de TC, fato evidenciado pelo valor superior a 1.

A Figura 12 apresenta o comportamento do processo quanto a eficiência de remoção de TC pela superfície de resposta (Figuras 12a, 12b e 12c).



(A) pH, (B) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>), (C) [TiO<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>)  
**Figura 12 – Superfícies de resposta da eficiência de remoção TC (%) por fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV) segundo o DCCR**  
 Fonte: Autoria própria.

Na Figura 12 observa-se que a eficiência na remoção de TC (%) apresentou valores médios entre 22% e 54%. As maiores eficiências de remoção, em média de 54% foram obtidos com  $\text{pH} = 4$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 45 \text{ mg L}^{-1}$  e nas  $[\text{TiO}_2] = 0,2 \text{ g L}^{-1}$ . De acordo com o delineamento estatístico a melhor condição foi  $\text{pH} = 4$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 51 \text{ mg L}^{-1}$  e  $[\text{TiO}_2] = 0,23 \text{ g L}^{-1}$ .

A adição de um catalisador pode aumentar a taxa da reação de oxidação. Entretanto, o uso excessivo de partículas sólidas de catalisador no sistema pode diminuir a absorvância de radiação UV. As taxas iniciais de degradação fotocatalítica são diretamente proporcionais à quantidade de catalisador até certo valor limite, pois nesse ponto é quando ocorre a máxima quantidade de catalisador (HERRMANN, 2005). O catalisador quando em excesso no meio reacional, bloqueia a radiação para partículas catalíticas que estão abaixo da superfície do fluido, tornando-as inativas, pois não serão ativadas pela luz da fonte luminosa.

Buth (2009) realizou um estudo da degradação fotocatalítica da tetraciclina em dois reatores, batelada e contínuo com uma lâmpada de vapor de mercúrio (125W), utilizando o  $\text{TiO}_2$  como catalisador. Em termos percentuais, o rendimento da degradação, com o desaparecimento do fármaco TC foi de cerca de 52, 38 e 34% para as concentrações iniciais de 10, 20 e 30  $\text{mg L}^{-1}$  respectivamente, após uma hora de reação nas condições operacionais estabelecidas de  $\text{pH} = 8$ ,  $[\text{TiO}_2] = 0,5 \text{ mg L}^{-1}$  e temperatura de  $30^\circ\text{C}$ . Teoricamente a fotocatalise heterogênea deve apresentar maior remoção por possuir um efeito sinérgico das concentrações de  $[\text{H}_2\text{O}_2]$  e  $[\text{TiO}_2]$ .

## 5.4 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE DEGRADAÇÃO FOTOCATÁLISE HOMOGÊNEA

### 5.4.1 Planejamento Inicial: Experimento composto central ( $2^3$ ) + 3 Pontos Centrais

A matriz experimental para o experimento composto central ( $2^3$ ) é apresentada na Tabela 13, com os níveis de cada fator  $\text{pH}$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2]$ ,  $[\text{Fe}^{2+}]$  e a eficiência de remoção da TC, no decorrer de 11 ensaios executados aleatoriamente, considerando três pontos centrais.

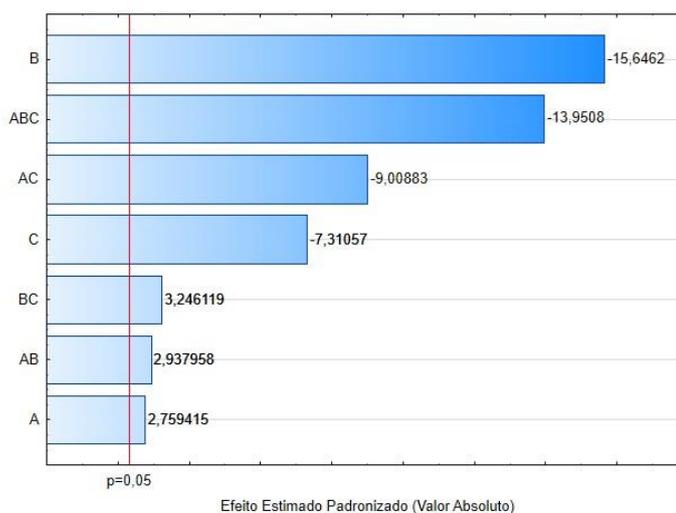
**Tabela 13 – Matriz do planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise homogênea (foto-Fenton) na remoção de TC em meio aquoso.**

Ensaio	Fatores			Variável resposta
	pH codificado (Real)	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) codificado (Real)	[Fe <sup>2+</sup> ] (mg L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)
1	-1 (3)	-1 (15)	-1 (25)	87,62
2	+1(5)	-1 (15)	-1 (25)	80,89
3	-1 (3)	+1 (35)	-1 (25)	78,90
4	+1(5)	+1 (35)	-1 (25)	77,56
5	-1 (3)	-1 (15)	+1 (45)	40,55
6	+1(5)	-1 (15)	+1 (45)	43,71
7	-1 (3)	+1 (35)	+1 (45)	77,99
8	+1(5)	+1 (35)	+1 (45)	73,75
9	0 (4)	0 (25)	0 (35)	65,62
10	0 4)	0 (25)	0 (35)	66,40
11	0 (4)	0 (25)	0 (35)	70,46

Fonte: Autoria própria.

Com os resultados experimentais obtidos (Tabela 13), foi avaliado o modelo de regressão, relacionando a eficiência de remoção de [TC] por meio do processo de fotocatalise homogênea. O modelo linear apresentou um R<sup>2</sup> de 0,96, significando que 96% da variação na eficiência de remoção do TC, é explicada pelo modelo.

A estimativa dos efeitos lineares em relação à eficiência de remoção de [TC] é ilustrada no diagrama de Pareto (Figura 13). Os efeitos cujos retângulos estão além da linha tracejada (p-valor=0,05) são considerados significativos para um intervalo de confiança de 95%.



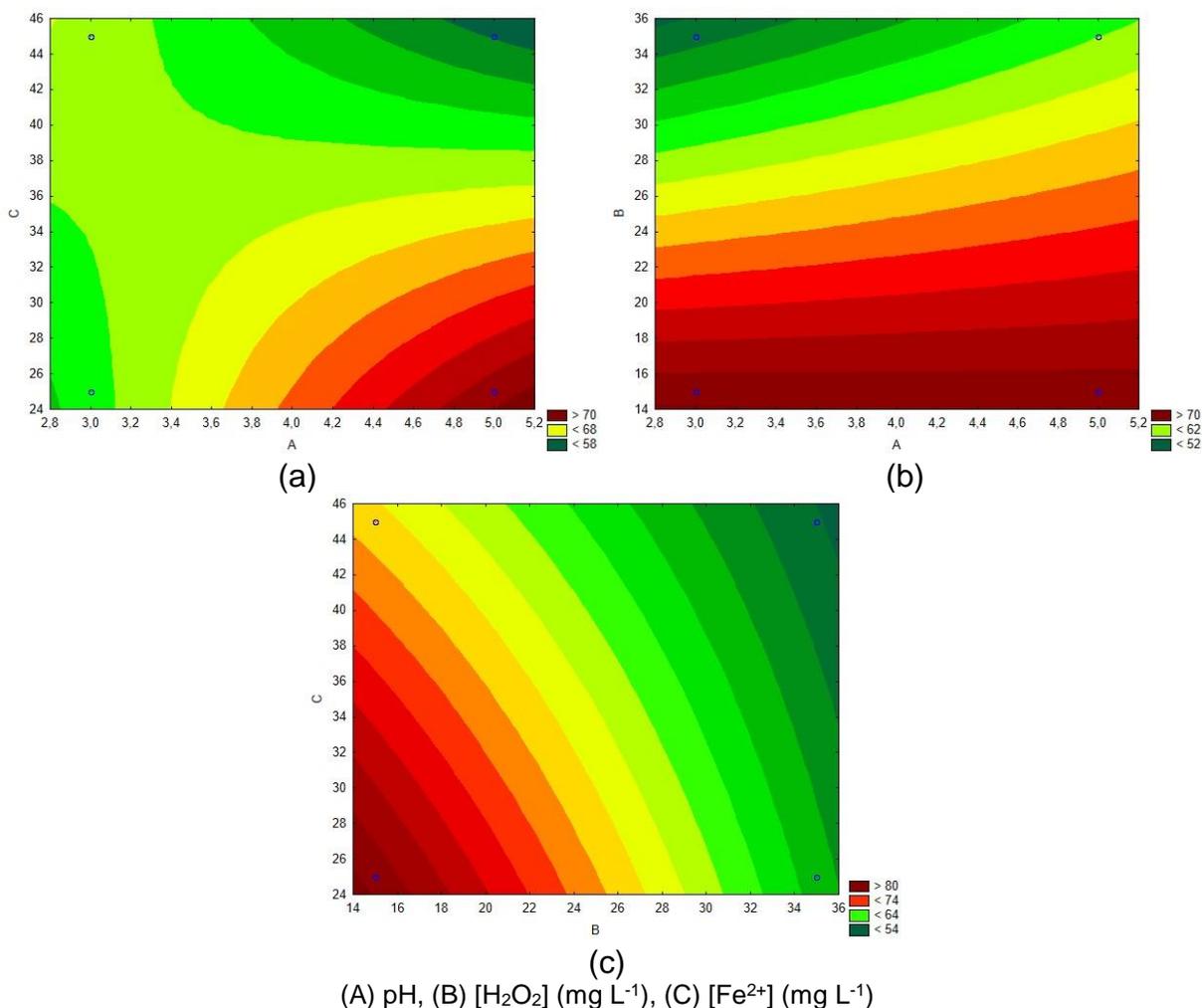
(A) pH, (B) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>), (C) [Fe<sup>2+</sup>] (mg L<sup>-1</sup>)

**Figura 13 – Diagrama de Pareto para a remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton) no planejamento inicial.**

Fonte: Autoria própria.

Observa-se na Figura 13 que todos os fatores e suas interações influenciaram de forma significativa a remoção do fármaco TC no intervalo de confiança de 95%, os coeficientes negativos significam que o processo é favorecido com a redução dos níveis de cada fator.

A Figura 14 apresenta o comportamento do processo quanto a eficiência de remoção de [TC] por meio do gráfico de contorno.



**Figura 14 – Gráfico de contorno com o perfil de eficiência de remoção (%) de TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton) segundo o delineamento fatorial completo 2<sup>3</sup>. Fonte: Autoria própria.**

Observa-se na Figura 14 que as maiores taxas de remoção da TC acontecem em faixa de pH de 4 a 5, menores [Fe<sup>2+</sup>] e [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]. A eficiência na remoção de TC (%) apresentou valores médios entre 40% e 87%. Os melhores valores de eficiência de remoção encontrados no planejamento inicial, em média de 87% foram obtidos nos

ensaios com pH = 3, concentração 15 mg L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e, concentração de 25 mg L<sup>-1</sup> de Fe<sup>2+</sup>.

Visando à otimização das condições experimentais obtidas com o planejamento inicial, utilizou-se o DCCR. Optou-se por deslocar os valores dos fatores com base nas observações feitas anteriormente visando melhorar a remoção.

#### 5.4.2 Delineamento Composto Central Rotacional

A matriz experimental para o delineamento composto central rotacional (DCCR) é apresentada na Tabela 14, com os níveis de cada fator pH, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e [Fe<sup>2+</sup>] estudados e as variáveis respostas obtidas quanto à remoção de [TC] no processo de fotocatalise homogênea, no decorrer de 17 ensaios executados aleatoriamente.

**Tabela 14 – Matriz do planejamento DCCR com os fatores (codificados e reais) e respostas quanto à eficiência da fotocatalise homogênea na remoção de TC em meio aquoso.**

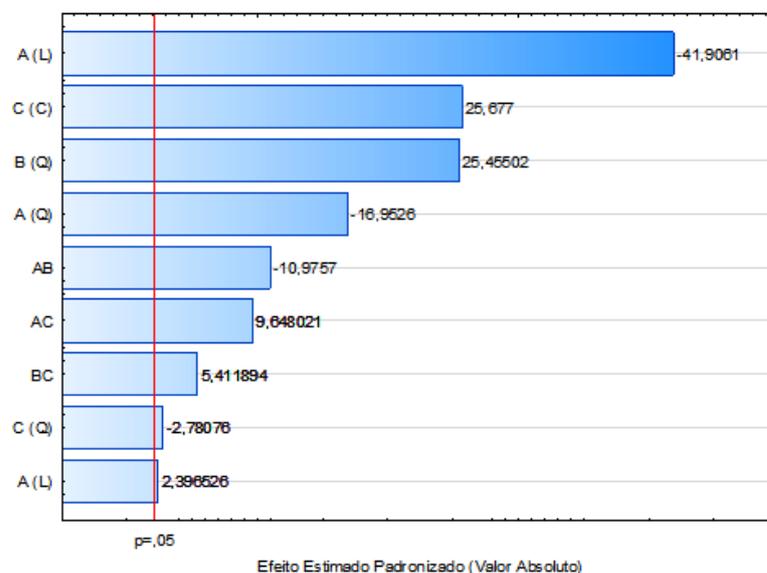
Ensaio	Fatores			Variável resposta
	pH codificado (Real)	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) codificado (Real)	[Fe <sup>2+</sup> ] (mg L <sup>-1</sup> )	Remoção (%)
1	-1 (4)	-1 (15)	-1 (15)	75,66
2	+1(6)	-1 (15)	-1 (15)	69,47
3	-1 (4)	+1 (25)	-1 (15)	84,16
4	+1(6)	+1 (25)	-1 (15)	45,25
5	-1 (4)	-1 (15)	+1 (35)	79,04
6	+1(6)	-1 (15)	+1 (35)	72,67
7	-1 (4)	+1 (25)	+1 (35)	80,68
8	+1(6)	+1 (25)	+1 (35)	72,39
9	0 (5)	0 (20)	0 (25)	65,95
10	0 (5)	0 (20)	0 (25)	66,94
11	0 (5)	0 (20)	0 (25)	67,07
12	-1,68 (2)	0 (20)	0 (25)	79,86
13	+1,68 (7)	0 (20)	0 (25)	16,21
14	0 (5)	-1,68 (11,6)	0 (25)	81,20
15	0 (5)	+1,68 (28,4)	0 (25)	95,63
16	0 (5)	0 (20)	-1,68 (8,2)	38,83
17	0 (5)	0 (20)	+1,68 (41,8)	83,84

Fonte: Autoria própria.

Na Tabela 14 tem-se que a maior remoção para a fotocatalise homogênea (foto-Fenton) da TC, ocorre em pH = 5, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 28,4 mg L<sup>-1</sup> e [Fe<sup>2+</sup>] = 25 mg L<sup>-1</sup>. Com

os resultados experimentais (Tabela 14), obteve-se os valores dos efeitos estimados de cada parâmetro sobre a variável resposta. Os valores que apresentaram p-valor inferior a 0,05 foram considerados significativos para o intervalo de confiança de 95% de confiança.

Observando-se a Figura 15 é possível identificar que todas as variáveis e suas interações, apresentaram efeito sobre a eficiência de remoção do fármaco TC, indicando que as maiores remoções foram alcançadas com o aumento dos níveis de [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e [Fe<sup>2+</sup>] e com a diminuição do pH.



(A) pH, (B) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>), (C) [Fe<sup>2+</sup>] (mg L<sup>-1</sup>)

**Figura 15 – Diagrama de Pareto para a remoção (%) do fármaco TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton) pelo DCCR.**  
**Fonte: Autoria própria.**

A partir dos valores significativos, apresentou-se a equação matemática do modelo de regressão quadrático e seus respectivos coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) (Tabela 15).

**Tabela 15 – Modelos matemáticos e coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) para remoção de TC pelos processos catálise homogênea (foto-Fenton) segundo o DCCR.**

Modelo	R <sup>2</sup> (%)
% = 112 (± 14,4) + 38,1 (± 3,1) A - 4,2 (± 0,2) A <sup>2</sup> - 10,4 (± 0,7) B + 0,3 (± 0,0) B <sup>2</sup> - 1,5 (± 0,3) C - 0,9 (± 0,1) AB + 0,4 (± 0,0) AC	85,5

(A) pH, (B) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>), (C) [Fe<sup>2+</sup>] (mg L<sup>-1</sup>)

**Fonte: Autoria própria.**

Para a remoção de TC o R<sup>2</sup> mostra que 85,5% da resposta foi explicada pelo modelo, sendo que os efeitos lineares dos valores estudados de pH e [TC] foram

considerados representativos para tal resposta. Para verificar a qualidade de ajuste do modelo, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), avaliando os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e o teste F para ambas as remoções (Tabela 16).

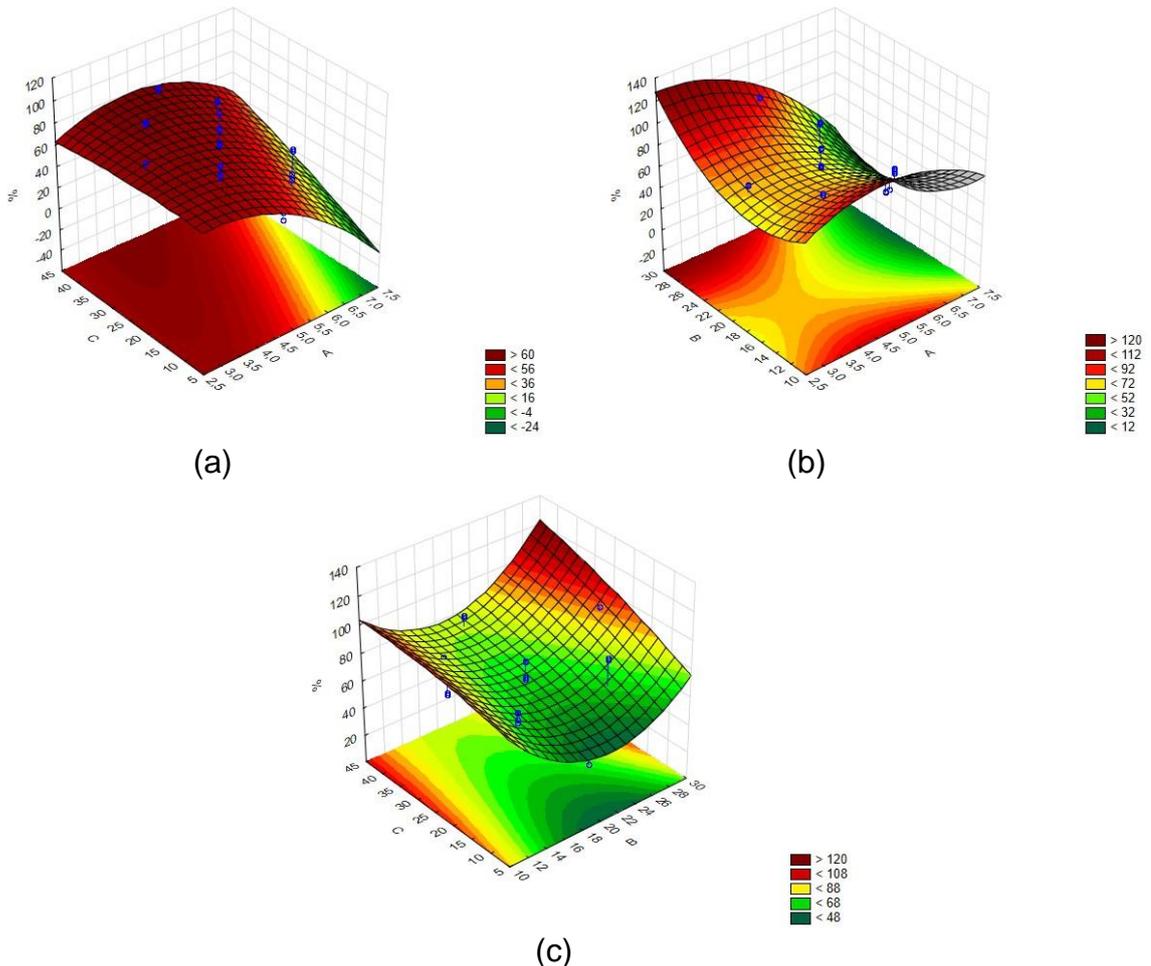
**Tabela 16 – ANOVA do modelo quadrático: eficiência de remoção de TC por fotocatalise homogênea (foto-Fenton).**

<b>Fonte de Variação</b>	<b>Soma Quadrática</b>	<b>Graus de Liberdade</b>	<b>Média Quadrática</b>	<b>F<sub>cal</sub> (95%)</b>	<b>F<sub>tab</sub> (95%)</b>	<b>F<sub>cal</sub>/F<sub>tab</sub></b>
Regressão (modelo)	12019,3	9	1335,5	17,2	1,9	9,1
Resíduos	1860,9	24	77,5			
Total	12068,47	33				

**Fonte: Autoria própria.**

Observa-se na Tabela 16 que a razão do  $F_{cal} = 17,2$  pelo  $F_{tab} = 1,9$  para a regressão apresentou valor estatisticamente significativo para a equação de remoção de TC, fato evidenciado pelo valor superior a 1.

A Figura 16 apresenta o comportamento do processo quanto a eficiência de remoção de [TC] pela superfície de resposta (Figura 16a, 16b e 16c).



(A) pH, (B) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] (mg L<sup>-1</sup>), (C) [Fe<sup>2+</sup>] (mg L<sup>-1</sup>)  
**Figura 16 – Superfícies de resposta da eficiência de remoção TC (%) segundo o DCCR.**  
**Fonte: Autoria própria.**

Na Figura 16 observa-se que a eficiência na remoção de TC (%) apresentou valores médios entre 16% e 95%. As maiores eficiências de remoção, em média de 95% foram obtidos com pH = 4, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 28,4 mg L<sup>-1</sup> e [Fe<sup>2+</sup>] = 25 mg L<sup>-1</sup>. De acordo com o delineamento estatístico a melhor condição foi pH = 4, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 25 mg L<sup>-1</sup> e [Fe<sup>2+</sup>] = 15 mg L<sup>-1</sup>.

## 5.5 ESTUDO DE DEGRADAÇÃO DA TETRACICLINA

As condições experimentais utilizadas nos estudos de degradação do antibiótico TC foram as condições otimizadas pelos planejamentos para os tratamentos estudados.

A Figura 17 apresenta a evolução da degradação da TC pelos processos de fotocatalise homogênea (foto-Fenton) e heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) ao longo dos 180 minutos. Também foram aplicadas as variantes desses processos: Fotólise (UV), foto-peroxidação ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) e Fenton. As condições utilizadas foram pH 4,  $[\text{TC}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $[\text{Fe}^{2+}] = 15 \text{ mg L}^{-1}$  para fotocatalise homogênea e para o processo de fotocatalise heterogênea as condições utilizadas foram pH 4,  $[\text{TC}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 51 \text{ mg L}^{-1}$  e  $[\text{TiO}_2] = 0,23 \text{ g L}^{-1}$ .

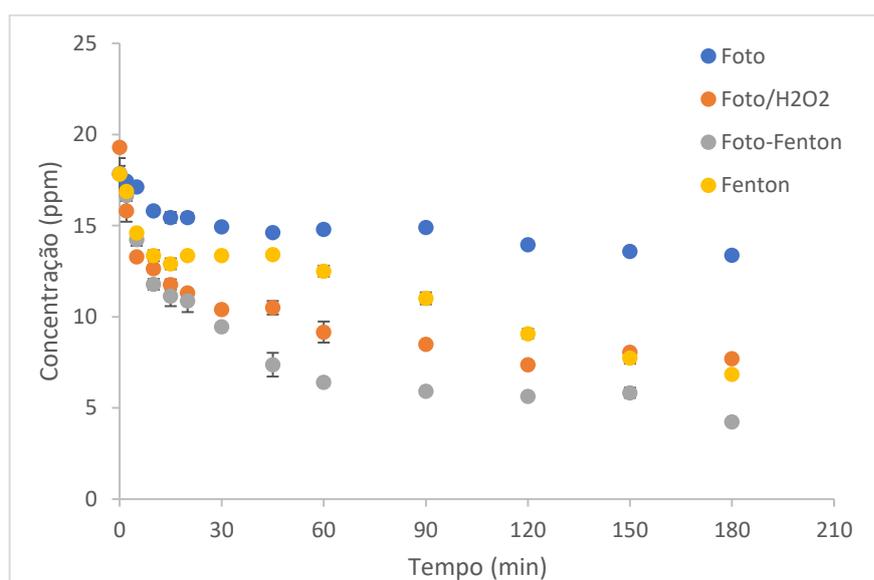


Figura 17 – Remoção em (%) TC nos diferentes processos testados ao longo do tempo. Fonte: Autoria própria.

Conforme a Figura 17, para o processo de fotólise, em 30 minutos de irradiação a remoção do fármaco TC é cerca de 25 %, com 180 minutos verificou-se que houve uma remoção de cerca de 30 %. No processo de fotocatalise homogênea ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ), em 30 minutos de irradiação a remoção de TC é cerca de 50 %, com 180 minutos houve um salto a cerca de 65 %. No processo de catálise homogênea (Fenton), em 30 minutos de irradiação a remoção de TC é cerca de 38 %, com 180 minutos houve um salto a cerca de 65 % e para o processo de fotocatalise homogênea (foto-Fenton)

em 30 minutos de irradiação a remoção de TC é cerca de 55 % e após 180 minutos, houve um salto a para 75 % de remoção.

Di Paola et al. (2004) realizaram um estudo sobre a fotodegradação da tetraciclina em meio aquoso irradiado por luz UV ( $\lambda = 300 \text{ nm}$ ). Dois sistemas foram testados: a fotólise direta e a fotocatalise heterogênea (com a presença do semicondutor). Os resultados apresentados para o sistema de fotólise direta revelaram uma fotodegradação muito lenta e parcial. Um desaparecimento de apenas 10% de carbonos orgânicos totais foi alcançado nesses experimentos, constatando um nível de degradação parcial da molécula de tetraciclina, que era degradada a subprodutos similares a sua estrutura.

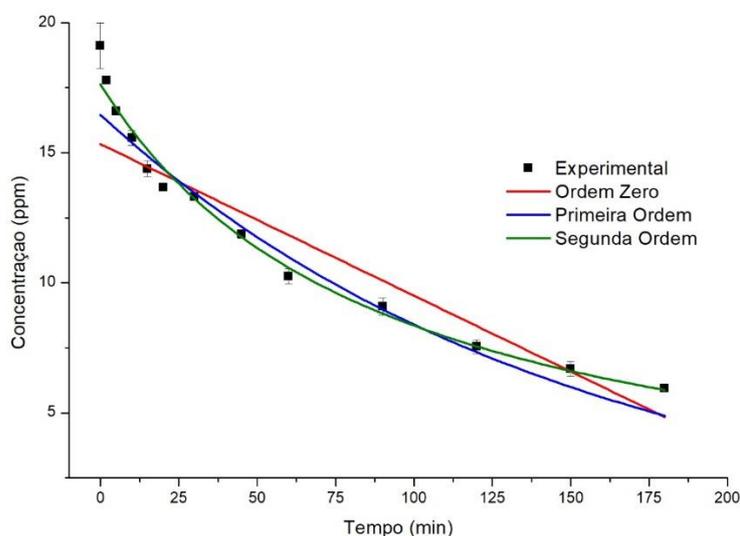
Ferreira (2015) realizou um estudo sobre a fotodegradação do cloridrato de tetraciclina em meio aquoso. A solução aquosa do fármaco foi preparada numa concentração de  $20 \text{ mg L}^{-1}$ . O trabalho utilizou quatro processos de tratamento: fotólise,  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ , Fenton e foto-Fenton. Para o processo de fotólise, usou-se a radiação UV-C e solar em um reator de bancada. Os experimentos foram submetidos à radiação por um período de até 8 h. No sistema de radiação UV-C a eficiência de degradação do composto orgânico alcançou 45,35% e no sistema de luz solar, 34,76%. Para o processo  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ , utilizou-se também a radiação UV-C e a radiação solar, também em reator de bancada, aplicando-se um delineamento estatístico tipo planejamento fatorial  $2^2$ . As reações utilizando  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$  apresentam a geração de radicais ( $\bullet\text{OH}$ ), capaz de obter degradação de 94,47% e 71,20%, respectivamente, para radiação UV-C e solar.

Reyes et al., (2006) realizou um estudo de degradação da tetraciclina em suspensões aquosas de dióxido de titânio com três diferentes fontes de radiação a fim de comparação: lâmpada UV ( $\lambda > 254\text{nm}$ ), um dispositivo solar (lâmpadas usadas geralmente para fins cosméticos,  $\lambda = 300\text{-}400\text{nm}$ ) e uma lâmpada de UV-A (luz negra,  $\lambda=365\text{nm}$ ). A lâmpada UV possui emissões dentro das regiões UV e UV-A, realçando a reação fotocatalítica.

## 5.6 CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO EM SOLUÇÃO AQUOSA

### 5.6.1 Fotocatálise Heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ )

Para obter um melhor entendimento do processo de fotodegradação por fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) do antibiótico de interesse em meio aquoso, os dados experimentais foram ajustados aos modelos cinéticos por meio de regressão não linear às Equações 3, 4 e 5. A Figura 18 apresenta o ajuste dos dados experimentais para o antibiótico TC por fotocatalise heterogênea.



**Figura 18 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Ordem-Zero, Primeira ordem e Segunda-ordem para fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) em pH 4, [TC] 20 mg L<sup>-1</sup>, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 51 mg L<sup>-1</sup> e [TiO<sub>2</sub>] 0,23g L<sup>-1</sup>.  
Fonte: Autoria própria.**

Além do ajuste dos dados experimentais aos modelos, o tempo de meia-vida foi calculado pelas Equações 6, 7 e 8 (Tabela 17).

**Tabela 17 – Dados cinéticos para a fotocatalise heterogênea da solução do fármaco TC com concentração inicial de 20 mg L<sup>-1</sup>, pH 4, [TC] 20 mg L<sup>-1</sup>, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 51 mg L<sup>-1</sup> e [TiO<sub>2</sub>] 0,23g L<sup>-1</sup>.**

Modelos Cinéticos								
Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
k <sub>0</sub> (mol.L <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)	R <sup>2</sup>	k <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)	R <sup>2</sup>	k <sub>2</sub> (mol.L <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)	R <sup>2</sup>
0,06 (±0,06)	127,75	0,87	0,0070 (±0,0006)	99,02	0,95	0,0006 (±0,0003)	94,54	0,98

Fonte: Autoria própria.

Conforme mostra a Tabela 17, para a TC houve melhor ajuste dos dados experimentais ao modelo de segunda ordem, pois o valor de  $R^2$  foi de 0,98, sendo, portanto, superior ao do modelo de ordem zero e próximo ao de primeira ordem.

Molinari et al. (2006) realizou um estudo fotodegradativo de diferentes fármacos, utilizando um sistema híbrido que consistia de um fotoreator com partículas de  $TiO_2$  policristalinas em meio aquoso juntamente com um sistema de membranas seletivas aos produtos e intermediários da reação. Foram realizados experimentos em diferentes pHs, concentração inicial de fármacos e pressão de operação de modo a se distinguir o valor ótimo destes parâmetros. Os resultados demonstraram que a fotodegradação dos fármacos foi realizada com sucesso, seguindo uma cinética de pseudo-primeira ordem.

Kaniou et al. (2005) realizou o estudo de oxidação da sulfametazina em solução aquosa, utilizando diferentes semicondutores ( $TiO_2$  e  $ZnO$ ). Os resultados apresentaram uma taxa de velocidade de pseudo-primeira ordem,  $k_1 = 0,018 \text{ min}^{-1}$  seguindo o modelo de Langmuir-Hinshelwood. A adição de  $H_2O_2$  ao meio reacional se fez eficiente quando o semicondutor utilizado era o  $TiO_2$ , fazendo com que a taxa aumentasse significativamente. De acordo com os autores, o uso do  $TiO_2$  e a possibilidade de ativá-lo com luz solar ou UV-A combinadas ao método apresentando no estudo oferece soluções práticas e economicamente razoáveis para o processamento deste tipo de poluentes.

Buth (2009) em seu estudo sobre a degradação fotocatalítica da tetraciclina em solução aquosa empregando  $TiO_2$  suportado também obteve cinética de degradação de pseudo-primeira ordem  $k_1 = 0,090 \text{ min}^{-1}$ .

Sendo que o parâmetro tempo de meia vida comumente é destacado em quatro níveis, onde as degradações rápidas ocorrem entre 0 e 60 minutos, as moderadas entre 60 a 300 minutos, lentas de 300 a 1440 minutos e estáveis àquelas acima de 1440 minutos (BLUM, 2013). Neste sentido, a fototransformação do antibiótico TC pode ser classificada como moderada, 94,54 min, conforme mostra a Tabela 17.

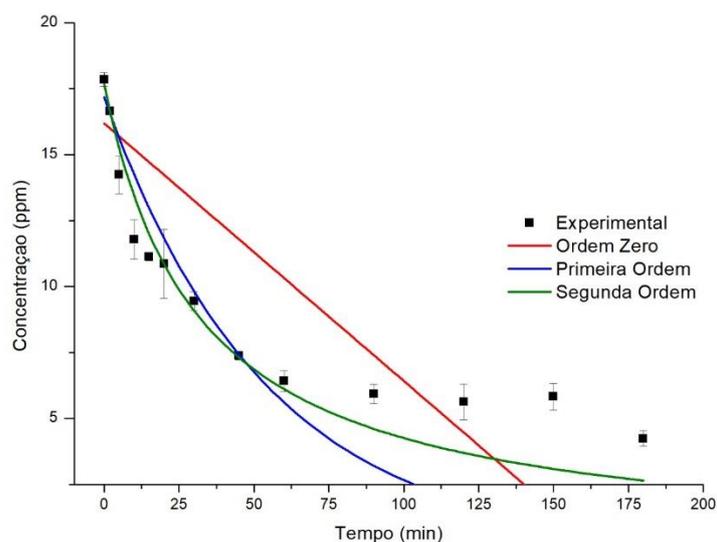
Outros fármacos também foram degradados por fotocatalise heterogênea. Entre eles, tetraciclina, sulfonamidas, carbamazepina, ácido clofíbrico, iomeprol e iopromida (ADDAMO et al., 2005; CALZA et al., 2004; DOLL; FRIMMEL, 2005).

Palominos et al. (2009) estudaram a degradação da tetraciclina utilizando também o processo fotocatalítico. As taxas de degradação da tetraciclina observadas

foram altas usando  $\text{TiO}_2$  ou  $\text{ZnO}$  ( $\approx 100\%$ ), bem como a mineralização ( $\approx 50\%$  usando  $\text{TiO}_2$  e  $\approx 100\%$  utilizando  $\text{ZnO}$ ). Um estudo recente de Bu e Zhuang (2013), utilizando um processo de fotocatalise (0,4 g de  $\text{Cu/TiO}_2$  como fotocatalisador e sob radiação UV) mostrou ser eficaz para remover mais de 80% de clortetraciclina. De acordo com o autor em termos de eficiência de remoção, este método parece ser promissor para o tratamento de efluentes com baixas cargas de matéria orgânica, como rios, águas subterrâneas e água potável.

### 5.6.2 Fotocatálise Homogênea (foto-Fenton)

Os dados experimentais foram ajustados aos modelos cinéticos por meio de regressão não linear às Equações 3, 4 e 5. A Figura 19 apresenta o ajuste dos dados experimentais para o antibiótico TC por fotocatalise homogênea.



**Figura 19 – Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Ordem-Zero, Primeira ordem e Segunda-ordem para fotocatalise homogênea (foto-Fenton) em pH 4,  $[\text{TC}] = 20 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg L}^{-1}$  e  $[\text{Fe}^{2+}] = 15 \text{ mg L}^{-1}$ .  
Fonte: Autoria própria.**

Além do ajuste dos dados experimentais aos modelos, o tempo de meia-vida foi calculado pelas Equações 6, 7 e 8 (Tabela 18).

**Tabela 18 – Dados cinéticos para a fotocatalise homogênea da solução do fármaco TC com concentração inicial de 20 mg L<sup>-1</sup> e pH 4.**

Modelos Cinéticos								
Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
k <sub>0</sub> (mol.L <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)	R <sup>2</sup>	k <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)	R <sup>2</sup>	k <sub>2</sub> (mol.L <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)	R <sup>2</sup>
0,100 (±0,02)	80,90	0,67	0,020 (±0,002)	34,66	0,93	0,0020 (±0,0001)	28,25	0,98

Fonte: Aatoria própria.

Conforme mostra a Tabela 18, para a TC houve melhor ajuste dos dados experimentais ao modelo de segunda ordem, pois o valor de R<sup>2</sup> foi de 0,98, sendo, portanto, superior ao do modelo de ordem zero e primeira ordem.

Gul (2014) avaliou a tetraciclina por vários processos, eletroquímico, eletroquímico foto-assistido, Fenton e foto-Fenton. Os experimentos de Fenton e foto-Fenton foram realizados em um reator de vidro preenchido com 0,6 L de solução aquosa que corresponde a 200 mg L<sup>-1</sup> de TC. Os experimentos foram feitos utilizando a concentração inicial de [Fe<sup>2+</sup>] variando entre 2,5 -15 mg L<sup>-1</sup> e [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] no intervalo de 50-150 mg L<sup>-1</sup>. A lâmpada utilizada foi da marca Philips de (254nm) fluorescente germicida inserida no tubo de quartzo e posicionada no meio da solução. A degradação obedeceu uma cinética de primeira ordem com k<sub>1</sub>= 0,098 min<sup>-1</sup>.

A fototransformação do antibiótico TC através da fotocatalise homogênea pode ser classificada como rápida, 28,25 min, conforme mostra a Tabela 18.

## 5.7 ANÁLISE DA ECOTOXIDADE COM *Escherichia coli*

Após as 24 horas de incubação em estufa a 35 ± 2 °C do inóculo com a concentração de 1,8 x 10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, obteve-se contagem em placa *Pour-plate* de 1,8 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> da mesma amostra, tornando-se, portanto, o inóculo utilizado na degradação (Tabela 19).

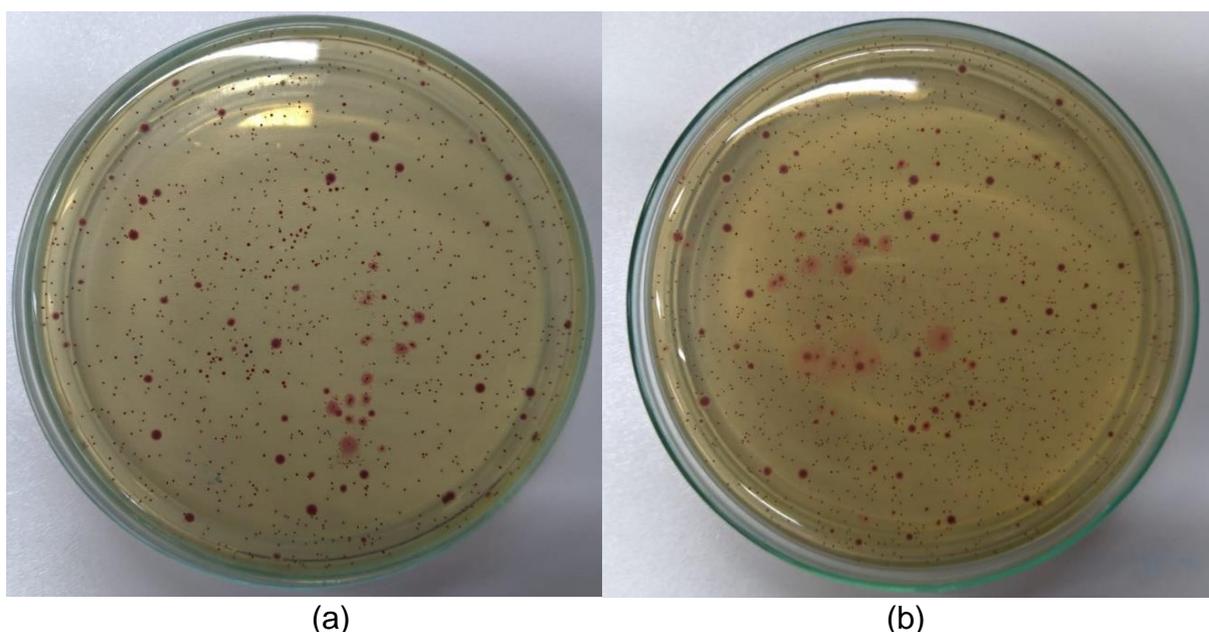
**Tabela 19 – Relação do número de UFC de *E. coli* x tratamentos.**

Tratamentos										
Placas	Controle		<i>E. coli</i> + A		<i>E. coli</i> + B		<i>E. coli</i> + C		<i>E. coli</i> + D	
Tempo 0 minutos										
1	1724 UFC	1,8 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	1300 UFC	1,27 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	840 UFC	1,0 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	1220 UFC	1,3 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	1260 UFC	1,3 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.
2	1944 UFC		1164 UFC		1108 UFC		1228 UFC		1420 UFC	
3	1704 UFC		1332 UFC		1100 UFC		1436 UFC		1308 UFC	
Tempo 180 minutos										
4	1724 UFC	1,8 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	1640 UFC	1,6 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	2732 UFC	2,6 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	2952 UFC	3,0 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.	2188 UFC	2,2 x 10 <sup>8</sup> UFC/mL (Est.) média.
5	1944 UFC		1756 UFC		2628 UFC		2968 UFC		2112 UFC	
6	1704 UFC		1436 UFC		2524 UFC		3024 UFC		2252 UFC	

Tratamentos: A (Fármaco TC + UV); B (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV); C (Fármaco TC + (TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV)) e D (Fármaco TC + (Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV)).

**Fonte: Autoria própria.**

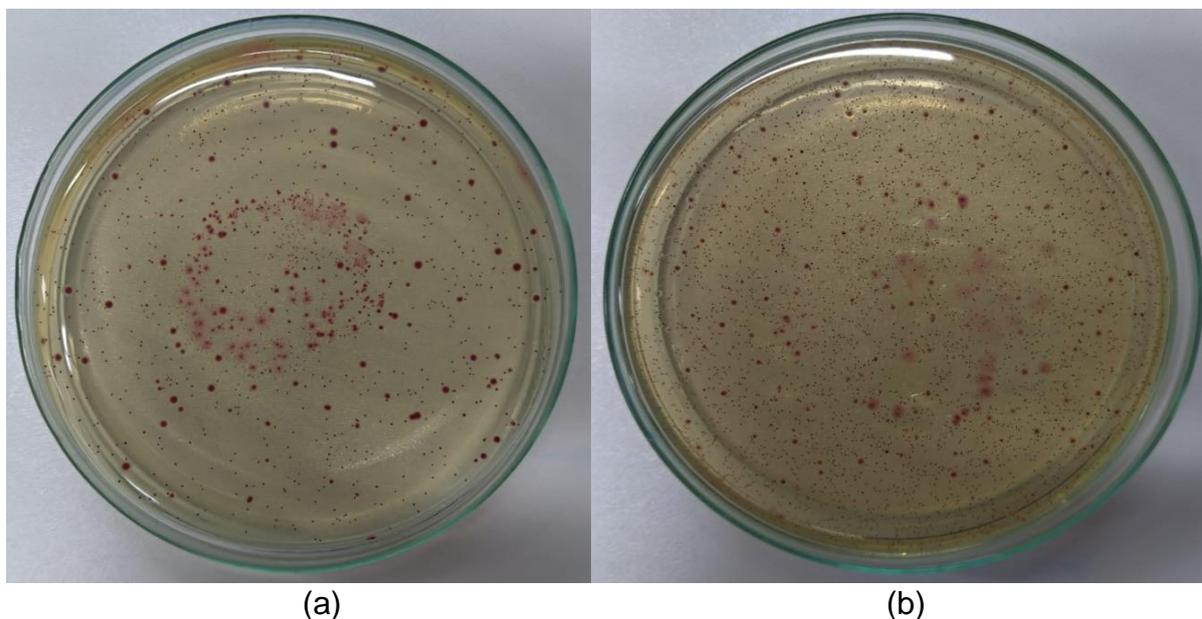
No tratamento A, o tempo de 0 minutos de degradação, equivalente a 2 horas em contato com o inóculo em estufa a 35 ± 2 °C, contou-se 1,27 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (Est.) (Figura 21a). Após 180 minutos do processo de degradação do tratamento A, uma alíquota permaneceu em contato com o inóculo em estufa a 35 ± 2 °C durante 2 horas, e obteve-se 1,6 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (Est.) (Figura 21b). Houve um aumento de 25,98 % no número de UFC de *E. coli* após 180 minutos, ou seja, evidenciando a degradação do antibiótico.



**Figura 20 – Placas de Petri contendo o inóculo *E. coli* + tratamento A: (a) 0 min. (b) 180 min.**

**Fonte: Autoria própria.**

No tratamento B, o tempo de 0 minutos de degradação, contou-se  $1,0 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> (Est.) (Figura 22a). Após 180 minutos de degradação do tratamento B, obteve-se  $2,6 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> (Est.) (Figura 22b). Houve um aumento de 160 % no número de UFC de *E. coli* (Figura 22b).



(a) (b)  
Figura 21 – Placas de Petri contendo o inóculo *E. coli* + tratamento B: (a) 0 min. (b) 180 min.  
Fonte: Autoria própria.

Sabe-se que o uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> favorece a ocorrência de estresse oxidativo nos organismos presentes no sistema, pois quando se decompõe no meio de produção gera as espécies reativas de oxigênio como exemplos temos o radical hidroxila (OH•), o próprio peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-•</sup>) (SIGLER et al. 1999).

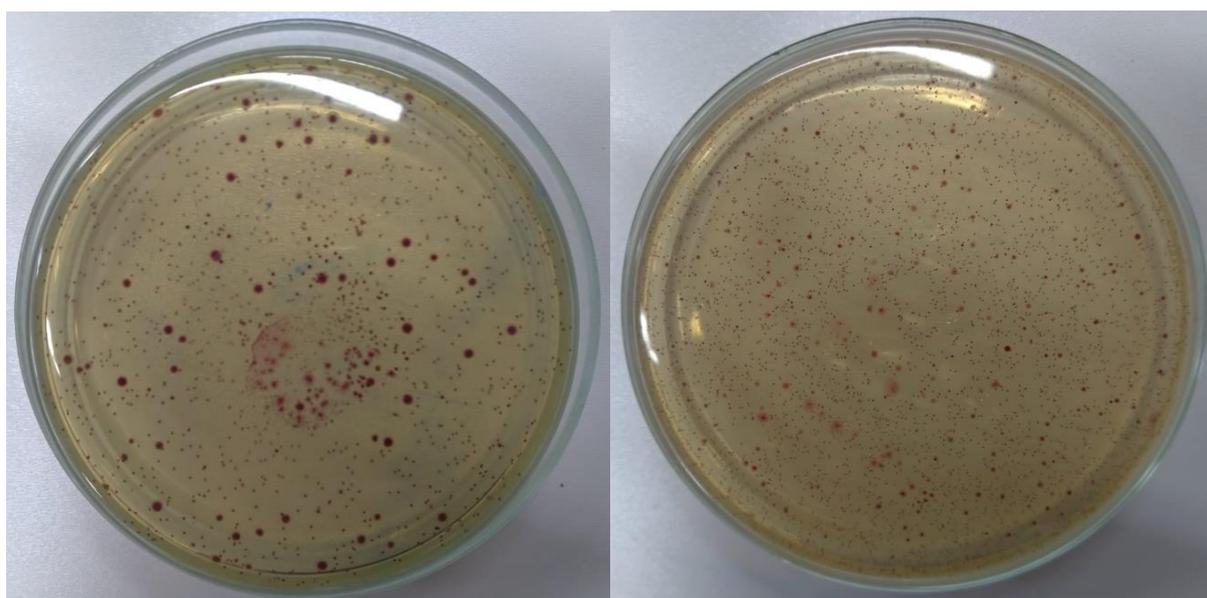
O peróxido de hidrogênio é capaz de difundir-se rapidamente através das membranas celulares e na presença de íons de metais de transição podem ser convertidos em radicais hidroxila através da reação de Fenton (ETTERIDGE 2000). O mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) consiste na oxidação dos grupos sulfídrico e das duplas ligações das enzimas das bactérias, provocando uma modificação na estrutura das proteínas que formam essas enzimas, com a perda da sua função e, conseqüentemente, a morte celular.

Especificamente com relação às bactérias, Imlay et al. (1988) estudaram a sensibilidade de diversas cepas mutantes de *Escherichia coli* à baixas concentrações de peróxido de hidrogênio. As cepas tiveram comprometidas as suas capacidades de

reparar danos no DNA e se tornaram muito sensíveis, morrendo após as aplicações de peróxido de hidrogênio.

Mesmo o inóculo tendo contato com o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e tendo sofrido estresse oxidativo, houve um aumento no número de UFC em função da degradação da TC.

No tratamento C com o tempo de 0 minutos de degradação permaneceu em contato com o inóculo durante 2 horas, obteve-se  $1,0 \times 10^8$  UFC  $mL^{-1}$  (Est.) (Figura 23a). Com o tempo de 180 minutos do tratamento C após permanecer 2 horas em contato com o inóculo, obteve-se  $2,6 \times 10^8$  UFC  $mL^{-1}$  (Est.). Houve um aumento de 130,76 % no número de UFC de *E. coli* (Figura 23b). Sinalizando que houve grande taxa de degradação do fármaco TC e que os produtos formados não apresentam uma maior toxicidade em relação ao tratamento C no tempo inicial.



(a) (b)  
Figura 22 – Placas de Petri contendo o inóculo *E. coli* + tratamento C: (a) 0 min. (b) 180 min.  
Fonte: Autoria própria.

Mboula et al. (2012) estudaram a degradação da tetraciclina com um fotocatalisador heterogêneo pelo processo com  $TiO_2/UV$ , com foco na determinação de biodegradabilidade, toxicidade e identificação dos produtos formados durante o tratamento fotocatalítico. Eles observaram uma redução de 24% na concentração do carbono orgânico e toxicidade reduzida em *Pseudomonas aeruginosa* e a não biodegradabilidade através do Teste de Sturm.

No tratamento D com o tempo de 0 minutos, após permanecer 2 horas em contato com o inoculo em estufa, obteve-se  $1,3 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> (Est.) (Figura 24a). Com o tempo de 180 minutos do tratamento D em contato durante 2 horas com o inoculo, obteve-se  $2,2 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> (Est.). Houve um aumento de 69,23 % no número de UFC de *E. coli* (Figura 24b), sinalizando que houve degradação do fármaco TC e que os produtos formados não apresentam uma maior toxicidade em relação ao tratamento D no tempo inicial.

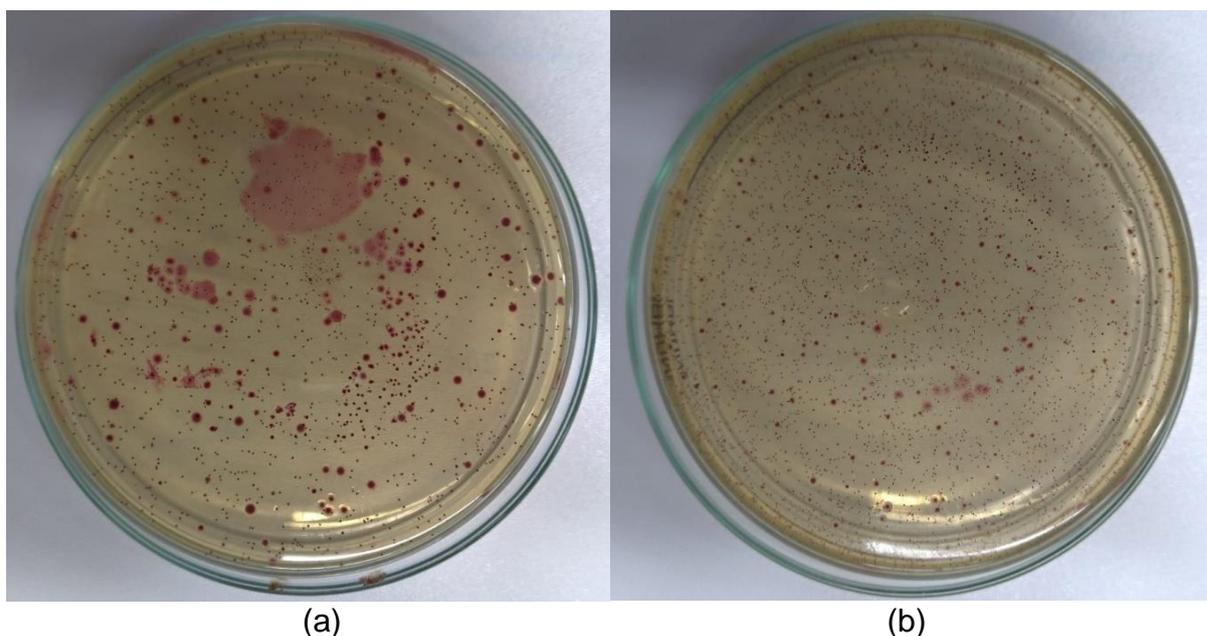


Figura 23 – Placas de Petri contendo o inóculo *E. coli* + tratamento D. (a) 0 min. (b) 180 min. Fonte: Autoria própria.

As tetraciclinas são conhecidas por se degradarem por meio 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 próton (HALLING SORENSEN et al., 2003).

Os antibióticos da classe da TC têm um sistema de anéis aromáticos e os subprodutos formados algumas vezes são potencialmente mais perigosos do que o composto original (DANTAS et al., 2008). Vários destes produtos de degradação têm potência antibiótica, ao mesmo nível de concentração que os seus compostos precursores (HALLING-SORENSEN et al., 2002).

Jiao et al. (2008) estudou a degradação fotocatalítica da tetraciclina e da toxicidade de seus produtos de degradação com massa molar (m/z) igual 398 e 413. O naftol do anel de tetraciclina permaneceu intacto durante fotólise e toxicidade dos

compostos de fotólise usando *V. fischeri* mostrou que toxicidade foi aumentada com a irradiação.

Uma hipótese para o estudo atual é que como a otimização dos tratamentos propostos aconteceram em pHs levemente ácidos, a TC não gerou sub-produtos mais tóxicos do que ela própria, pois de acordo HALLING SORENSEN et al., 2003 a maioria dos sub-produtos gerados pela degradação da TC se formam em pHs muito ácidos.

Por outro lado, estudos in vitro da reação de Fenton (reação de peróxido de hidrogênio com o ferro) mostraram que o peróxido de hidrogênio é capaz de gerar rupturas das cadeias de DNA, formar radicais de DNA prejudiciais, na presença de metais de transição (Fe, Cu, Zn) e de equivalentes redutores, provocando a morte das bactérias (STORZ et al. 1990, IMLAY 2003).

Kümmerer (2009) avaliou a toxicidade de tetraciclina, ampicilina, cloranfenicol e estreptomicina às espécies *Vibrio harveyi*. Eles não encontraram efeitos tóxicos para testes a longo prazo e para concentrações usualmente encontradas o ambiente. No entanto, eles observaram a reprodução diminuir para as mesmas condições testadas anteriormente. Outro fator relevante está relacionado à bioacumulação nos organismos, este processo é governado principalmente pelo caráter lipofílico da molécula, que pode ser expresso pelo coeficiente de partição n-octanol-água ( $K_{ow}$ ) geralmente expressa em forma logarítmica (REGITANO e LEAL, 2010).

Yang et al. (2013) avaliaram a influência de tetraciclina na cianobactéria *Microcystis aeruginosa* e clorofila *Selenastrum capricornutum*, abundante em sistemas aquáticos, e observou que a tetraciclina tem efeito tóxico especialmente em *S. capricornutum* porque, em primeiro contato, inibiu a taxa de produção de biomassa de 20-75% para concentrações de tetraciclina de 0,2-5,0 mg L<sup>-1</sup>.

Na verdade, pouco se sabe sobre o problema da ecotoxicidade promovida pela exposição prolongada a doses baixas antibióticos, bem como os impactos causados por metabolitos no meio aquático, uma vez que também podem exibir ação biocida, como observado para a degradação produtos enrofloxacina e tetraciclina, como também não é claro que organismos são afetados e em que grau (BILA E DEZOTTI, 2003; SARMAH et al., 2006).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstraram a eficiência dos processos propostos para o tratamento de soluções contendo o fármaco tetraciclina. O uso do planejamento fatorial e DCCR permitiu a definição das melhores condições de operação dos sistemas: Fotocatálise homogênea e heterogênea. Desta forma, é possível concluir que:

No sistema de fotocatalise heterogênea ( $H_2O_2/TiO_2/UV$ ), com 75 minutos, 50 % da TC havia sido degradada. Porém sua completa mineralização não ocorreu durante a análise. Para o sistema de fotocatalise homogênea (foto-Fenton), com 25 minutos 50 % da TC havia sido degradada.

A cinética da reação se ajustou ao modelo cinético ao modelo de pseudo-segunda ordem apresentando os coeficientes de correlação de  $R^2 = 0,98$  para o sistema fotocatalise heterogênea e  $R^2 = 0,98$  para o sistema fotocatalise homogênea. A determinação dos tempos de meia vida do fármaco apresentou semelhanças com alguns estudos pioneiros já realizados, apesar da dificuldade de comparação devido a variabilidade das condições experimentais.

No teste de sensibilidade com bactérias *Escherichia coli* mostrou-se que é menos tóxico a matriz aquosa sintética após tratamento do que sem tratamento.

Assim, os tratamentos de fotocatalise homogênea e heterogênea são promissores no tratamento de águas e efluentes contaminados com o fármaco TC, embora em escala industrial outros fatores devem ser avaliados, como a remoção de carbono orgânico total relacionado aos subprodutos formados além da complexidade do efluente real.

Para estudos futuros, sugere-se a utilização de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa com detector de massa afim de identificação dos subprodutos gerados, uma vez que eles podem ser mais tóxicos do que os parentais, além de avaliar a toxicidade associada a cada um dos tratamentos e seus subprodutos com outros organismos alvos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDAMO, M.; AUGUGLIARO, V.; PAOLA, A. D.; GARCÍA-LÓPEZ, E.; LODDO, V.; MARCÌ, G.; PALMISANO, L. Removal of drugs in aqueous systems by photoassisted degradation. *Journal of Applied Electrochemistry*, v. 35, n. 7-8, p. 765-774, 2005.

ALDER, A. C.; SCHAFFNER, C.; MAJEWSKY, M.; KLASMEIER, J.; FENNER, K. Fate of  $\beta$ -blocker human pharmaceuticals in surface water: Comparison of measured and simulated concentrations in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Water Research*, v. 44, n. 3, p. 936-948, 2010.

ALMEIDA, G. A. de; WEBER, R. R. Fármacos na represa Billings. *Revista Saúde e Ambiente*, v. 6, n. 2, p. 7-13, 2009.

ANDREOZZI, R., V. CAPRIO, A. INSOLA e R. MAROTTA. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today*, v.53, No. 1, p.51-59, 15 oct. 1999.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Ministério da Saúde, Brasil. Resolução nº 518, 25 de março de 2004.

ARANY, E.; SZABÓ, R. K.; APÁTI, L.; ALAPI, T.; ILISZ, I.; MAZELLIER, P.; DOMBI, A.; GAJDA-SCHRANTZ, K. Degradation of naproxen by UV, VUV photolysis and their combination. *Journal of Hazardous Materials*, v. 262, p. 151–157, 2013.

ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C. D.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, p. 61-72, 2007.

BAGLIANO, R. V. Principais organismos utilizados como bioindicadores relatados com uso de avaliadores de danos ambientais. *Revista meio Ambiente e sustentabilidade*, v. 2, n. 1, 2012.

BARBÉRIO, A.; BARROS, L.; VOLTOLINI, J. C.; MELLO, M. L. S. Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of water from the River Paraíba do Sul, in Brazil, with the *Allium cepa* L. test. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 69, n. 3, p. 837-842, 2009.

BARCELÓ, D., Emerging pollutants in water analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, v 22, n 10, p 655-784, 2003.

BARKER, J.; HUMPHREY, T.J. & BROWN, M.W.R. Survival of *Escherichia coli* O157 in soil protozoa: implications for disease. *Federation of European Microbiological Societies - FEMS - Microbiology Letters*, v. 173: p. 291-295, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13516.x>. Acesso em: 06 jun. 2019.

NETO, B. de B.; SCARMINO, L. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 3 ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2007.

BASTOS, R. V. **Estudo da degradação do antibiótico sulfametoxazol em solução aquosa por fotólise**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-10062013-153348/en.php>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

BAZEI, Bruna C. **Degradação do antibiótico tetraciclina em matriz aquosa por processos oxidativos avançados**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2019.

BENDESKY, A.; MENÉNDEZ, C.; OSTROSKY-WEGMAN, P. Is metronidazole carcinogenic? *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 511, n.2, p. 133-144, 2002.

BERGER, K.; PETERSEN, B.; BUENING-PFAUE, H. Persistence of drugs occurring in liquid manure in the food chain. **Archiv fuer Lebensmittelhygiene (Germany, FR)**, 1986.

BERNABEU, A.; PALACIOS, S.; VICENTE, R.; VERCHER, R.; MALATOS, S.; ARQUES, A.; AMAT, A. M. Solar photo-fenton at mild conditions to treat a mixture of six emerging pollutant. **Chemical Engineering Journal**, v 198-199, p. 65-72, 2012.

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

BLUM, K. **Phototransformation of pharmaceuticals in the environment: Multivariate modeling and experimental determination of photolysis half-lives** Umeå University. 2013. Disponível em: <<http://umu.divaportal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A632013&dswid=7516>>. Acesso em 15 nov. 2018.

BOLTON, J. R. Calculation of ultraviolet fluence rate distributions in an annular reactor: significance of refraction and reflection. **Water Research**, v. 34, n.13, p. 3315-3324, 2000.

BORGHI, A. A.; PALMA, M. S. A. Tetracycline: production, waste treatment and environmental impact assessment. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 1, p. 25-40, 2014.

BOSSMAN, S. H.; OLIVEIROS, E.; GÖB, S.; SIEGWART, S.; DAHLEN, E. P.; PAYAWAN, L.; STRAUB, M.; MICHAEL, W.; BRAUN, A. M. New evidence against hydroxyl radical as reactive intermediates in the thermal and photochemically enhanced Fenton reactions. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 102, n. 28, p. 5542-5550, February 1998.

BRASIL. Resolução RDC nº 44 de 18 de agosto de 2009. Dispõe sobre Boas Práticas Farmacêuticas para o controle sanitário do funcionamento, da dispensação e da

comercialização de produtos e da prestação de serviços farmacêuticos em farmácias e drogarias e dá outras providências. **ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/28425>> Acesso em: 15 nov. 2018.

BRAUN, A. M.; MAURETTE, M.; OLIVEROS, E. **Photochemical Technology**. Chischester, ed. John Wiley, cap. 4, p. 152-163., 1991.

BRITO, N. N. de.; SILVA, V. B. M. Processo oxidativo avançado e sua aplicação ambiental. **REEC – Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, v. 1, n. 3, p. 36-47, 2012.

BROWN, K. D.; KULIS J.; THOMSON, B.; CHAPMAN T.; 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 Environment**, v. 366, n. 2, p. 772-783, 2006.

BU, D.; ZHUANG, H.; Biotemplated synthesis of high specific surface area copper-doped hollow spherical titania and its photocatalytic research for degrading chlorotetracycline; **Applied Surface Science**; 265 677–685, 2013.

BUTH, Daniel Frederico. **Degradação fotocatalítica da tetraciclina em solução aquosa empregando TiO<sub>2</sub> suportado**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009. Disponível em:<<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/18992>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

CABRERA, G. L.; RODRIGUES, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research**, n° 426, p. 211-214, 1999.

CALZA, P.; MEDANA, C.; PAZZI, M.; BAIOCCHI, C.; PELIZZETTI, E. Photocatalytic transformations of sulphonamides on titanium dioxide. **Applied Catalysis, B: Environmental**, v. 53, p. 63-69, 2004

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, v.72, p.722-725, 2008.

CARLSON, J. C.; STEFAN, M. I.; PARNIS, J. M., METCALFE, C. D. Direct UV photolysis of selected pharmaceuticals, personal care products and endocrine disruptors in aqueous solution. **Water Research**, v. 84, p. 350-361, 2015.

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). Ministério do Meio Ambiente. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quím. Nova [online]**. v. 31, n. 7, 2008.

COSTA, G.; CANGERANA, F. Estudo do processo oxidativo avançado como uma alternativa tecnológica e eficaz no tratamento de efluentes. **Revista Eletrônica de Tecnologia e Cultura**, v. 19, n. 1, p. 63-84, 2016.

CROSBY, G. A.; DEMAS, J. N. Measurement of Photoluminescence Quantum Yields. Review, **The Journal Physical Chemistry**, v. 75, n. 8, p. 991-1024, 1971.

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

DEPIZZOL, F.; SANTOS, V. A. de C.; KELLER, R. de P.; GONÇALVES, R, F.; CASSINI, S. T.A. Detecção e isolamento de cepas *Escherichia coli* resistentes a antibióticos presentes em efluente hospitalar e doméstico da cidade de Vitória/ES. In. **Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. Saneamento ambiental Brasileiro: Utopia ou realidade?** Rio de Janeiro, ABES, 2005.

DI PAOLA, A.; ADDAMO, M.; AUGUGLIARO, V.; GARCIA LOPEZ, E. I.; LODDO, V.; MARCI, G.; PALMISANO, L. Photolytic and TiO<sub>2</sub>- assisted photodegradation of aqueous solutions of tetracycline. **Fresenius Environmental Bulletin**, v 13, n°11b, p. 1275-1280, 2004.

DOLL, T. E.; FRIMMEL, F. H. Photocatalytic degradation of carbamazepine, clofibric acid and iomeprol with P25 and Hombikat UV100 in the presence of natural organic matter (NOM) and other organic water constituents. **Water Research**, v. 39, p. 403-411, 2005.

DUAN, L.; LI, L.; XU, Z.; CHEN, W. Adsorption of tetracycline to nano-NIO: the effect of co-existing Cu (II) ions and environmental implications. **Environmental Science Processes & Impacts**, v. 6, n. 16, p. 1462-1468, 2014.

ESCHER, B. I.; BAUMGARTNER, R.; KOLLER, M.; TREYER, K.; LIENERT, J.; MCARDELL, C. S. Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 75-92, 2011.

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic toxicology**, v. 76, n. 2, p. 122-159, 2006.

FERREIRA, C. M. **Avaliação da toxicidade do cobre e do uso de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) como animais sentinelas.** Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Univ. São Paulo. São Paulo: 2002.

FERREIRA, I. V. L. Fotocatálise heterogênea com TiO<sub>2</sub> aplicada ao tratamento de esgoto sanitário secundário. Tese (Doutorado em hidráulica e saneamento) – Escola de engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2005.

FERREIRA, A. P. **Degradação do fármaco cloridrato de tetraciclina via processos oxidativos avançados.** 2015. 105 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Universidade Federal do Pernambuco, 2015.

FIGLIANO, M.; SANTOS, E. P. dos.; SCHMACHTENBERG, N. Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental – REGET**, v. 18, n. 1, p. 79-91, 2014.

GAGNÉ, F.; BLAISE, C.; HELLOU, J. Endocrine disruption and health effects of caged mussels, *Ellipticoplanata*, placed downstream from a primary-treated municipal effluent plume for 1 year. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, v. 138, n. 1, p. 33-44, 2004.

GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. Tese de Doutorado. Universidade de Campinas. 2006.

GOOSSENS, Herman; FERRECH, Matus; COENEN, Samuel; STEPHENS, Peter. Comparison of Outpatient Systemic Antibacterial Use in 2004 in the United States and 27 European Countries. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 8, p. 1091-1095, 2007.

GUL, S. **Degradação do antibiótico tetraciclina por vários processos em mistura salina**. 2014, 138f. Tese (doutorado em ciências). Instituto de Química de São Carlos – São Paulo, 2014.

HALLING-SØRENSEN, B. et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-A review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.

HALLING-SØRENSEN, B., SENGELOV, G., TJORNELUND, J. Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 42, p. 263-271, 2002.

HALLING-SØRENSEN, B. et al. Characterisation of the abiotic degradation pathways of oxytetracyclines in soil interstitial water using LC-MS, **Chemosphere**, v. 50, p. 1331-1342, 2003.

HENSCHEL, K. P.; WENZEL, A.; DIETRICH, M.; FLIEDNER, A. Environmental Hazard Assessment of Pharmaceuticals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 25, n. 3, p. 220-225, 1997.

HERRMANN, J. M. Heterogeneous photocatalysis: state of the art present applications. **Topics in Catalysis**, v.34, p.49-65,2005.

HIBBERT, D. B. Experimental design in chromatography: A tutorial review. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 910, p. 2–13, 2012. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023212000505>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

HOEGER, B.; KÖLLNER, B.; DIETRICH, D. R.; HITZFELD, B. Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*). **Aquatic Toxicology**, v. 75, n. 1, p. 53-64, 2005.

IMLAY, J. A.; CHIN, S. M.; LINN, S. Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction in vivo and in vitro. **Science**. V. 240 n. 4852, p. 640-642. Apr. 29, 1988.

IMLAY, J. A. Pathways of Oxidative Damage. **Annual Review of Microbiology**, v. 57, p. 395-418, 2003.

JONES, D.L. Potential health risks associated with the persistence of Escherichia coli O157 in agricultural environments. **Soil Use and Management**, v. 15, p. 76-83, 1999. Disponível em: <https://doi: 10.1111/j.1475-2743.1999.tb00069>. Acesso em: 06 jun. 2019.

JØRGENSEN, S. E.; HALLING-SØRENSEN, B. Drugs in the environment. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 691-9, Apr 2000.

JIAO, S. et al.; Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photocatalytic products to luminescent bacteria; **Chemosphere**; 73 377-382, 2008.

KAMMRADT, P.B e FERNANDES, C.V.S., **Remoção de cor de efluentes de tinturarias industriais através de processo de oxidação avançada**. 107 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental), Universidade Federal do Paraná, 2004.

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

KAPER, J.B.; NATARO, J.P & MOBLEY, H.L. Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 123-140, 2004. Disponível em: <https://doi: 10.1038/nrmicro818>. Acesso em: 06 jun. 2019.

KATSUMATA, C. P. **Degradação de fármacos em meio aquoso por meio de fotólise e peroxidação fotoassistida**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2014. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-24042015-155745/en.php>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

KIM, I.; YAMASHITA, N.; TANAKA, H. Performance of UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processes for the removal of pharmaceuticals detected in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, n. 2, p. 1134-1140, 2009.

LEARDI, R. Experimental design in chemistry: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, n. 1-2, p. 161-172, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267009008058>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

LIJTEROFF, R., LIMA, L., PRIERI, B. Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica em la ciudad de San Luis, Argentina. **San Luis**, v.3. n.1, p.3-6, octubre. 2008.

LOMBARDI, J.V. **Toxicidade aguda de agrotóxicos para o camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* De Man (Decapoda, Palaemonidae)**. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Univ. Estadual Paulista Rio Claro: 1999.

LUO, S.; WEI, Z.; SPINNEY, R.; ZHANG, Z. DIONYSIOU, D. D.; GAO, L.; CHAI, L.; WANG, D.; XIAO, R. UV direct photolysis of sulfamethoxazole and ibuprofen: An experimental and modelling study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 343, p. 132-139, 2018.

MBOULA, V.M.; HÉQUET, V.; GRU, Y.; COLIN, R.; ANDRÈS, Y. Assessment of the efficiency of photocatalysis on tetracycline biodegradation. **J. Hazard. Mater.**, p.209-210, p.355-364, 2012.

MCKEON, D. M.; CALABRESE, J. P.; BISSONNETTE, G. K. Antibiotic resistant gram-negative bacteria in rural groundwater supplies. **WaterResearch**, v. 29, n. 8, p. 1902-1908, 1995.

MELO, S. A. S.; TROVÓ, A. G.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química nova**, p. 188-197, 2009.

MIRANDA, C. D.; CASTILLO, G. Resistance to antibiotic and heavy metals of motile aeromonads from Chilean freshwater. **Science of the total environment**, v. 224, n. 1, p. 167-176, 1998.

MOLINARI, R.; PIRILLO, F.; LODDO, V.; PALMISANO, L. Heterogeneous photocatalytic degradation of pharmaceuticals in water by using polycrystalline TiO<sub>2</sub> and a nanofiltration membrane reactor. **Catalysis Today**, v.118, p.205-213. 2006.

MUNÓZ-ELIAS, E.J. & McKINNEY, J.D. Carbon Metabolism of intracelular bactéria. **Cellular Microbiology**, v. 8, p. 10-22, 2006. Disponível em: <https://doi:10.1111/j.1462-5822.2005.00648.x>. Acesso em: 06 jun. 2019.

NAIDU, R.; ESPANA, V. A. A.; LIU, Y.; JIT, J. Emerging contaminants in the environment: Risk-based analysis for better management. **Chemosphere**, v. 154, p. 350–357, 2016.

OCAMPO-PÉREZ, R.; RIVERA-UTRILLA, J.; GÓMEZ-PACHECO, C.; SÁNCHEZ-POLO, M.; LÓPEZ-PEÑALVER, J. J. Kinetic study of tetracycline adsorption on sludge-derived adsorbents in aqueous phase. **Chemical Engineering Journal**, v. 213, p. 88-96, 2012.

OKA, H.; ITO, Y.; MATSUMOTO, H. Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 882, n. 1, p. 109-133, 2000.

PALOMINOS, R. A., MONDACA, M. A.; GIRALDO, A.; PEÑUELA, G.; PÉREZ-MOYA, M.; MANSILLA, H. D. Photocatalytic oxidation of the antibiotic tetracycline on TiO<sub>2</sub> and ZnO suspensions. **Catalysis Today**, v. 144, p.100-105, 2009.

PARSONS, S. *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. London: **IWA Publishing**, 2005.

PEIXOTO, A. L.de C. **Degradação do herbicida amicarbazona por fotólise direta e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV em reator fotoquímico anular coaxial**. Tese (Doutorado em ciências) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

PETROVA, M.; GORLENKO, Z.; MINDLIN, S. Molecular structure and translocation of a multiple antibiotic resistance region of a *Psychrobacter psychrophilus* permafrost strain. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.296, p.190-197, 2009.

PETROVIC, M.; HERNANDO, M.D.; DIAS-CRUZ, M.S.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. **Journal of Chromatography A**, v. 1067, n. 1/2, p.1-14. 2005.

PETRUCCI, R. H. P. **General Chemistry: Principles and Modern Applications**. New Jersey: Pearson Education Inc., 9 ed, 2007.

RECHE, M. H. L. R.; PITTOL, M. & FIUZA, L. M. Bactérias e Bioindicadores de Qualidade de Águas de Ecossistemas Orizícolas da Região Sul do Brasil. **Oecol. Australis**, v. 14, p. 452-463, 2010. Disponível em: <https://doi:10.4257/oeco.2010.1402.08>. Acesso em: 06 jun. 2019.

REGITANO, J.B.; LEAL, R.M.P. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v.34, p.601-616, 2010.

REYES, C. et al. Degradation and inactivation of tetracycline by TiO<sub>2</sub> photocatalysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 184, p. 141-146, 2006.

RICHARDSON, M. L.; BOWRON, J. M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 37, n.1, p. 1-12, 1985.

RICOU-HOEFFER, P.; LECUYER, I.; CLOIREC, P. Le. Experimental design methodology applied to adsorption of metallic ions onto fly ash. **Water Research**, v. 35, n. 4, p. 965-976, 2001.

RIVERA-UTRILLA, J.; SÁNCHEZ-POLO, M.; FERRO-GARCÍA, M. Á.; PRADOS-JOYA, G.; OCAMPO-PÉREZ, R. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. **Chemosphere**, v. 93, n. 7, p. 1268-1287, 2013.

SAHOO, K. C.; TAMHANKAR, A. J.; JOHANSSON, E.; LUNDBORG, C. S. Antibiotic use, resistance development and environmental factors: a qualitative study among healthcare professionals in Orissa, India. **BMC Public Health**, v. 10, n. 1, 2010.

SANDERSON, H.; BRAIN, R. A.; JOHNSON, D. J.; WILSON, C. J.; SOLOMON, K. R. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics,

antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. **Toxicology**, v. 203, n. 1-3, p. 27-40, 2004.

SANTOS, L. C. dos. **Avaliação de parâmetros operacionais na cinética de degradação do antibiótico ciprofloxacino pelo processo foto-Fenton**. Tese (Mestrado em química analítica e ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

SARMAH, A. K.; MEYER, M.T.; BOXALL, A.B.A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment. **Chemosphere**, v.65, p.725-759, 2006.

SCHWAIGER, J.; FERLING, H.; MALLOW, U.; WINTERMAYR, H.; NEGELE, R. D. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. **Aquatic Toxicology**, v. 68, n. 2, p. 141-150, 2004.

SILVA, L. P. **Modificação e imobilização de TiO<sub>2</sub> visando a degradação de compostos orgânicos poluentes via o processo de fotocatalise heterogênea**. Tese (Mestrado em química analítica) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SIGLER, K.; CHALOUPKA, J.; BROZMANOVÁ, J.; STADLER, N.; HÖFER, M. Oxidative stress in microorganisms. Microbial vs. higher cells damage and defenses in relation to cell aging and death. **Folia Microbiol (Praha)** 44(6):587-624.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of Emerging Contaminants in Brazilian Drinking Waters: A Sewage-To-Tap Issue. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 206, n. 1-4, p. 57-67, 2009.

SOLO-GABRIELE, H.M.; WOLFERT, M.A.; DESMARAIS, T.R. & PALMER, C.J. Sources of Escherichia coli in a coastal subtropical environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66: p. 230-237. 2000.

STORZ, G.; TARTAGLIA, L.A. & AMES, B.N. Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible gene: direct activation by oxidation. **Science**. v. 248, pp. 189-194, 1990.

STÜLP, S.; DE CARVALHO, L. M. Aplicação de Fotólise em Alimentos, **Rev. Virtual Química**, v. 7, n. 1, p. 278-291, 2015.

TARR, M. A. **Chemical degradation methods for wastes and pollutants: environmental and industrial applications**. CRC Press, 2003.

TELEMACO, E. de P. **Degradação fotoquímica de efluentes industriais contendo polipropileno e isoniazida**. Tese (Doutorado em engenharia química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

VASCONCELOS, T. G.; KUMMERER, K.; HENRIQUES, D.; MARTINS, A. F. Ciprofloxacin in hospital effluente: Degradation by ozone and photoprocesses. **Journal of Hazardous Materials**, v. 169, n. 1-3, p. 1154-1158, 2009.

WOLLENBERGER, L.; HALLING-SORENSEN, B.; KUSK, K.O. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v.40, p.723-730, 2000.

YANG, W.; TANG, Z.; ZHOU, F.; ZHANG, W.; SONG L. Toxicity studies of tetracycline on *Microcystis aeruginosa* and *Selenastrum capricornutum*. **Environ. Toxicol. Pharmacol**, v.35, p.320-324, 2013.

YUAN, F.; HU, C.; HU, X.; WEI, D.; CHEN, Y.; QU, J. Photodegradation and toxicity changes of antibiotics in UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 2–3, p. 1256-1263, 2011.

ZAMONER, M. **Bioindicadores, Relatores Ambientais** / Divulgação científica, disponível em: [http://www.protexto.com.br/texto.php?cod\\_texto=371](http://www.protexto.com.br/texto.php?cod_texto=371) Acesso em 24 de agosto de 2017.

ZHAI, Q.; COYNE, M.S. & BARNHISEL, R.I. Mortality rates of fecal bacteria in subsoil amended with poultry manure. **Bioresource technology**, v. 54, p. 165-169, 1995. Disponível em: [https://doi:10.1016/0960-8524\(95\)00126-3](https://doi:10.1016/0960-8524(95)00126-3). Acesso em: 06 jun. 2019.