

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO
AMOXICILINA EM EFLUENTE DE INDÚSTRIA
FARMACÊUTICA

Olívia Maria de Sousa Ribeiro Vasconcelos

Belo Horizonte

2011

**DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO
AMOXICILINA EM EFLUENTE DE INDÚSTRIA
FARMACÊUTICA**

Olívia Maria de Sousa Ribeiro Vasconcelos

Olívia Maria de Sousa Ribeiro Vasconcelos

DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO AMOXICILINA EM EFLUENTE DE INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Meio Ambiente

Linha de pesquisa: Caracterização, prevenção e controle da poluição.

Orientador: Prof. Dra. Liséte Celina Lange

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Avenida Antônio Carlos, 6627 - 4º andar - 31270-901 - Belo Horizonte - BRASIL

Telefax: 55 (31) 3409-1882 - posgrad@desa.ufmg.br

<http://www.smarh.eng.ufmg.br>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Degradação do Antibiótico Amoxicilina em Efluente de Indústria Farmacêutica

OLIVIA MARIA DE SOUZA RIBEIRO VASCONCELOS

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos Senhores:

Profa. LISÉTE CELINA LANGE

Profa. CAMILA COSTA DE AMORIM

Profa. MÍRIAM CRISTINA SANTOS AMARAL

PESQ. ANA CLÁUDIA QUEIROZ LADEIRA

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH

Profa. Mônica Maria Diniz Leão
Coordenadora

Versão Final aprovada por

Profa. Liséte Celina Lange
Orientadora

Belo Horizonte, 01 de março de 2011.

Para

**Marília,
Júlio,
Leonardo,
Com amor**

AGRADECIMENTOS

À Prof. Liséte Celina Lange, por sua amizade constante, seu apoio e presença. Por seu empenho em orientar e incentivar as rotas pensadas para a condução desta pesquisa.

À Prof. Mônica Maria Diniz Leão pela sabedoria e ensinamentos de Química Ambiental e Aquática, e por sua amizade.

À Prof. Sílvia Maria Alves Correa Oliveira pelos ensinamentos de Estatística e sua amizade de longo tempo.

À Lucilaine Valéria de Souza Santos, uma amiga sempre presente;

Ao Prof Cláudio Luís Donnici por todo ensinamento de Química Orgânica, e sua amizade.

À Dra. Eleonora Deschamps, por seu apoio e amizade.

À Ilda de Sousa Batista, Patrícia Mara Azevedo Trigueiro, e Andreia Bicalho Henriques por uma longa jornada de amizade e apoio, e pelas análises importantes realizadas!

À Dra Maria Sylvia Dantas pela análise por Raman e Dra. Cláudia Lima pelo apoio analítico.

À D. Francisca Tenório, Norma Rodrigues de Abreu, Cláudia do Nascimento Passos, Iara Maria de Melo Malta, pelo apoio nesta jornada.

À Marina Andrada e Marcos Mol agradeço pelas ajudas e trocas nesse processo...

Amanda e Mariana, minha equipe de suporte, agradeço por todo o trabalho realizado.

Camila e Danusa, amigas especiais, por terem ajudado em diversas etapas desse trabalho, sempre com disposição e alegria.

Às amigas do DQ, Dayse, Layza e Sheila pelas análises tão importantes para elucidar pontos dessa pesquisa.

Aos companheiros de jornada: Ana Paula Campos, Alexandra Saraiva, Josiane, Laura Hamdan, Paulo Viera, Teofani Mitre, Valéria Godinho e tantos outros, obrigada e boa sorte para vocês!

Ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental pelo apoio na condução dessa pesquisa.

A todas as pessoas que estiveram envolvidas nas diferentes etapas de elaboração e execução deste trabalho. A todas elas, minha gratidão e carinho.

RESUMO

Os fármacos são moléculas complexas, com propriedades biológicas e físico-químicas diferentes, sendo importantes e indispensáveis, tanto na medicina humana e veterinária, como na agricultura e aquicultura. Apesar das baixas concentrações de antibióticos lançados no meio ambiente, tanto pela cadeia produtora, como pela cadeia consumidora (uso humano e veterinário) essas substâncias são continuamente introduzidas no ambiente, sendo dispersas e levando ao aumento da resistência bacteriana em diferentes meios. As classes de antibióticos possuem diferentes propriedades químicas, como solubilidade em água, pH do meio, volatilidade, e potencial de sorção que influenciam no seu comportamento no meio ambiente. A presente pesquisa objetiva investigar a biodegradabilidade de um efluente da indústria farmacêutica, gerado na linha de produção de amoxicilina e sua degradação por meio de um processo oxidativo avançado, especificamente o reagente de Fenton. O estudo compreendeu na caracterização do princípio ativo amoxicilina e de três efluentes da produção em batelada do medicamento. Foram realizadas duas baterias de ensaios de biodegradabilidade aeróbia na solução aquosa de amoxicilina e em 01 efluente in natura e no mesmo efluente enriquecido com amoxicilina; utilizando um inóculo de uma Estação de Tratamento de Efluentes Industriais (ETEI) de origem farmacêutica, e outro inóculo coletado no tanque de aeração de uma Estação de Tratamento Sanitário (ETE) com lodos ativados. Fez-se também o estudo de degradação por meio oxidativo utilizando reagente de Fenton, ocorrendo formação de precipitados durante essa etapa. O comportamento dos inóculos mostrou-se bastante diferente para biodegradar a amoxicilina e os efluentes in natura. A biodegradabilidade dos efluentes enriquecidos indicou que a carga orgânica biodegradável pode camuflar a sua degradação. Os efluentes apresentaram alta variabilidade em suas concentrações de carbono orgânico total (COT) e na taxa de degradação com reagente de Fenton. No estudo de degradação oxidativa avançada da amoxicilina obteve-se uma taxa de degradação de 60% de COT, e nos precipitados identificou-se a sorção da amoxicilina.

PALAVRAS-CHAVE: Amoxicilina, Efluente da indústria farmacêutica, Processos Oxidativos Avançados, Biodegradabilidade Aeróbia

ABSTRACT

Pharmaceuticals are complex molecules with different biological and physicochemical properties. That is vital not only for human and veterinarian medicine but also in agriculture and aquiculture. Despite the low concentrations of antibiotics released in the environment, both by the producers and by the consumers (human and veterinarian use) these substances are introduced continuously in the environment, where they disperse and allow an increase in bacterial resistance in different settings. Classes of antibiotics have many chemical properties as water solubility, pH, volatility, sorption potential which influence in their behaviour in the environment. This research aims to investigate the biodegradability of a pharmaceutical wastewater generated in the production line of amoxicillin and its degradation by advanced oxidation process, specifically the Fenton's reagent. This study involved the characterization of active amoxicillin and of three effluents from the drug's production batches. There were two batteries of tests of aerobic biodegradation on the amoxicillin and in 01 effluent fresh and later enriched with amoxicillin, using an inoculum of a Industrial Effluents Wastewater Treatment from pharmaceutical source, and another from a sanitary sewage treatment. The study of oxidative degradation using Fenton's reagent was also made, occurring the formation of precipitates during the oxidative process. The inoculum behaviors proved to be quite different while degrading the amoxicillin and the fresh effluents. The enriched effluents' biodegradability indicated that biodegradable organic load can mask its degradation. The effluents showed high variability in their COT concentrations and in their degradation rate with Fenton reagent. On the amoxicillin's oxidative degradation study we obtained a 60% degradation rate, and it was found that adsorption of amoxicillin occurred in the precipitates

KEY WORDS: Amoxicillin, Pharmaceutical industry effluents, Advanced Oxidative Processes, Aerobial Biodegradability

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XI
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	6
2.1 OBJETIVO GERAL.....	6
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	7
3.1 FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE E IMPACTOS AMBIENTAIS	8
3.2 AMOXICILINA.....	12
3.3 BIODEGRADABILIDADE AERÓBIA DA AMOXICILINA	12
3.3.1 <i>Biodegradabilidade aeróbia</i>	18
3.3.2 <i>Biodegradabilidade da Amoxicilina</i>	20
3.4 PROCESSOS OXIDATIVOS A VANÇADOS E SUA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA	22
3.4.1 <i>Processos oxidativos com radical •OH, aspectos teóricos</i>	26
3.4.2 <i>Influência do pH na reação com reagente de Fenton</i>	30
3.4.3 <i>Efeito da concentração de H₂O₂</i>	33
3.4.4 <i>Reagente de Fenton na degradação da Amoxicilina</i>	34
3.4.5 <i>Investigação da sorção de amoxicilina nos hidróxidos de ferro gerados nos ensaios por POA/Fenton</i>	37
3.5 METODOLOGIAS ANALÍTICAS.....	41
3.5.1 <i>Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray</i>	41
3.5.2 <i>Carbono Orgânico Total e Nitrogênio Total</i>	43
3.5.3 <i>Espectroscopia por Raman</i>	43
4 MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1 MATERIAIS E REAGENTES UTILIZADOS NA PESQUISA	45
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE INDUSTRIAL E DO PRINCÍPIO ATIVO AMOXICILINA, PREPARO DAS SOLUÇÕES AQUOSAS DE AMOXICILINA	46
4.2.1 <i>Caracterização do efluente industrial:</i>	46
4.2.2 <i>Preparo da solução aquosa de Amoxicilina</i>	49
4.2.3 <i>Caracterização do princípio ativo amoxicilina (AMOX)</i>	49
4.3 DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE AERÓBIA	50
4.3.1 <i>Origem do inóculo (lodo biológico)</i>	50
4.3.2 <i>Preparo da solução de nutrientes minerais</i>	51
4.3.3 <i>Definição das amostras submetidas à biodegradação</i>	52

4.3.4	<i>Controle do processo de biodegradabilidade</i>	53
4.3.5	<i>Preparo das amostras dos ensaios de Biodegradabilidade aeróbia</i>	53
REATORES		55
4.3.6	<i>Controle analítico da biodegradabilidade</i>	56
4.3.7	<i>Cálculo da biodegradabilidade</i>	57
4.3.8	<i>Descarte do inoculo após teste de biodegradabilidade</i>	58
4.4	PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO UTILIZANDO REAGENTE DE FENTON	58
4.4.1	<i>Metodologia para os cálculos da taxa de remoção de Carbono orgânico dissolvido</i>	60
4.4.2	<i>Bateria de Ensaios de degradação com reagente de Fenton realizados</i>	60
4.4.3	<i>Preparo e padronização de soluções</i>	61
4.4.4	<i>Equipamentos utilizados</i>	61
4.4.5	<i>Ensaios de degradação da AMOX e efluente com reagente de Fenton</i>	61
4.4.6	<i>Controle analítico dos ensaios de degradação</i>	62
4.4.7	<i>Investigação da sorção de amoxicilina na lama formada</i>	63
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE INDUSTRIAL	66
5.1.1	<i>Espectros de ESI-MS – Espectrometria de massa com ionização por eletrospray</i> 68	
5.2	CARACTERIZAÇÃO DO REAGENTE UTILIZADO – AMOXICILINA	71
5.2.1	<i>Determinação elementar por CHN (carbono, hidrogênio e nitrogênio)</i>	71
5.2.2	<i>Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear - RMN</i>	72
5.3	DETERMINAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE AERÓBIA	74
5.3.1	<i>Caracterização dos Sólidos nos inóculos</i>	74
5.3.2	<i>Resultados dos ensaios de biodegradação</i>	75
5.4	ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO UTILIZANDO REAGENTE DE FENTON	85
5.4.1	<i>Investigação da degradação de solução aquosa de AMOX com reagente de Fenton</i>	85
5.4.2	<i>Degradação do efluente real (EI) por POA com reagente de Fenton</i>	90
5.4.3	<i>Investigação das características da lama gerada durante POA-Fenton</i>	92
6	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	100
7	REFERÊNCIAS	102
ANEXOS		109
ANEXO 1 - RESOLUÇÃO - RDC N° 44, DE 26 DE OUTUBRO DE 2010 MINISTÉRIO DA SAÚDE		
ANEXO 2 - PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE H ₂ O ₂ RESIDUAL - MÉTODO IODOMÉTRICO		

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula geral de família de alguns antibióticos, onde R indica radicais diferentes ...	3
Figura 2: Estrutura geral das penicilinas	3
Figura 3: Estrutura química da amoxicilina.....	4
Figura 4: Estrutura química da Penicilina G e Ampicilina	4
Figura 5: Mecanismo proposto para degradação de penicilina G em um efluente real, durante as etapas de tratamento da ETEI.....	16
Figura 6: Produtos de degradação presentes nas águas do rio Wangyang, China, a partir da jusante do lançamento dos efluentes da indústria de fármacos	17
Figura 7: Hidrólise do anel β -lactâmico causado pela alteração do pH da solução	18
Figura 8: Biodegradação aeróbia de fármacos, utilizando os testes Zahn-Wellens, em efluentes reais e de seu princípio ativo em solução aquosa.	19
Figura 9: Evolução da remoção dos princípios ativos nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia por Zahn-Wellens.....	20
Figura 10: Taxa de degradação de Amoxicilina e Penicilina em ensaios de biodegradabilidade aeróbia, comparando os testes de Zahn-Wellens e Sturm	21
Figura 11: Sítios propostos para ataque de radicais oxidantes, em processo de oxidação por ozonólise	25
Figura 12: Estrutura química da amoxicilina, com indicação dos grupos ionizáveis e seus valores de pKa	25
Figura 13: Relação da degradação de amoxicilina em água comparada com a taxa de remoção de COD.	26
Figura 14: Reação ideal de degradação de amoxicilina.....	29
Figura 15: Reação de hidrólise da AMOX, e seus produtos de transformação	30
Figura 16: Efeito do pH na eficiência de remoção do reagente de Fenton	31
Figura 17: Diagrama de especiação de Fe^{3+}	31
Figura 18 Diagrama Eh x pH de sistemas Fe-O-H.....	32
Figura 19: Influência da concentração de peróxido na degradação de AMOX, pH = 3,5, $[AMOX] = 450 \mu g.L^{-1}$, $[Fe^{2+}] = 95 \mu g.L^{-1}$	33
Figura 20: Reações de adição do radical OH à amoxicilina	34
Figura 21: Degradação de Amoxicilina com Reagente de Fenton, carga orgânica e pH constante, e variações em H_2O_2 e Fe^{2+}	35
Figura 22: Taxa de remoção de AMOX, variando H_2O_2 adicionado e $[Fe^{2+}]$ constante	35
Figura 23: Influência do efeito de matriz na oxidação da Amoxicilina, por processo Foto-Fenton	36
Figura 24: Mecanismo proposto para degradação de AMOX por Foto-Fenton, em pH 2,5-2,8	37
Figura 25: Estrutura química da família de tetracilinas, com os pK_a indicados.	39
Figura 26: Estrutura química da amoxicilina e tetraciclina	40

Figura 27: Estrutura química do antibiótico cefapirina	40
Figura 28 Esquema do Cone de Taylor, responsável pela introdução das amostras no MS	42
Figura 29: Molécula de AMOX com átomos numerados, para identificação das bandas de absorção na espectroscopia Raman	44
Figura 30: Fluxograma do processo de tratamento, com os pontos de coleta das amostras.....	47
Figura 31 Fotos do sistema utilizado na biodegradabilidade aeróbia	55
Figura 32: Reatores de 1º Bio, a esquerda com redução na incidência luminosa	56
Figura 33: Descomissionamento de biomassa utilizada nos ensaios de biodegradação aeróbia	58
Figura 34: Espectro de ESI-MS obtidos para o efluente E1, coletado em P1, com o pico m/z 365,24 atribuído a amoxicilina	69
Figura 35: Espectro de efluente E2 coletado em P1, por ESI-MS,.....	70
Figura 36: Espectro ESI-MS para E3, amostrado em P1, antes da hidrólise.....	71
Figura 37: Espectro padrão de RMN ¹ H para amoxicilina pura	73
Figura 38: Espectro de RMN ¹ H completo da AMOX estudada	73
Figura 39: Biodegradabilidade aeróbia por teste de Zahn-Wellens da solução de AMOX.....	76
Figura 40: Comparativo da remoção entre COD e NT _{dissolvido} , 1º e 2º ensaios de Biodegradabilidade aeróbia para solução aquosa de AMOX	77
Figura 41: Espectro ESI-MS da alíquota do R3, ensaio 1º Bio - fração inicial.....	78
Figura 42: Espectro ESI-MS da alíquota do R3, ensaio 1º Bio, fração inicial, após adição do inóculo	78
Figura 43: Espectro ESI-MS da alíquota do reator R3 AMOX, ensaios 1º Bio, fração após 5 dias de degradação	79
Figura 44: Biodegradabilidade aeróbia do efluente E2 com 2 inóculos procedentes da ETEI e ETE	81
Figura 45: Biodegradabilidade aeróbia do efluente E2 enriquecido com AMOX,	82
Figura 46: Biodegradação aeróbia Efluente 2 enriquecido com AMOXICIL,	83
Figura 47: Biodegradabilidade aeróbia do efluente E2 enriquecido com AMOX,	84
Figura 48: Degradação por Fenton de AMOX = 1,0 g L ⁻¹ (COD ≅ 450 mg.L ⁻¹)	86
Figura 49: Degradação por Fenton de AMOX = 0,5 g L ⁻¹ (COD ≅ 225 mg.L ⁻¹)	87
Figura 50: Espectro ESI-MS fração de POA reagente de Fenton para AMOX = 0,5 mg.L ⁻¹ , ..	88
Figura 51: Espectro ESI-MS da fração de POA com reagente de Fenton para solução aquosa de AMOX = 0,5 mg.L ⁻¹ ,	89
Figura 52: Proposição para identificar o pico m/z 457	90
Figura 53: Degradação dos efluentes E1 e E3 (coletados em P1) por POA com reagente de Fenton	91
Figura 54: Degradação do efluente E3 com reagente de Fenton E3,.....	92
Figura 55: Difratoograma de Raios-X da amostra de lama gerada durante a etapa de degradação com reagente de Fenton, pH = 3,02, antes da neutralização	94

Figura 56: Gráfico da distribuição granulométrica da lama formada durante a etapa de degradação com reagente de Fenton, pH = 3,02, antes da neutralização	95
Figura 57: Espectro de uma Goethita padrão, sintetizada em laboratório.	96
Figura 58: Espectro Raman de L-POA/AMOX, com bandas de absorção em números de onda semelhante às encontradas para a goethita.	96
Figura 59: Espectro Raman da lama L-POA-AMOX, com varredura entre 200 cm ⁻¹ e 2000 cm ⁻¹ , com os picos 985 cm ⁻¹ , 1302 cm ⁻¹ , 1593 cm ⁻¹	97
Figura 60: Espectro Raman do Ensaio POA-4, amostra 6, área com ponto brilhante amarelado (foto em detalhe), varredura do espectro entre 200 e 3500 cm ⁻¹	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Avaliação da biodegradabilidade de alguns fármacos	11
Tabela 2: Utilização e taxas de excreção e biodegradabilidade de antibióticos, Dinamarca, 1995	14
Tabela 3: Presença de penicilina em sistema de tratamento industrial de indústria farmacêutica, na China	15
Tabela 4: Amoxicilina e seus produtos de degradação, determinados por ESI-MS	24
Tabela 6: Identificação dos pontos de coleta dos efluentes	47
Tabela 5: Reagentes utilizados na pesquisa	48
Tabela 7: Solução estoque do meio mineral	52
Tabela 8: Condições iniciais do ensaio de biodegradabilidade aeróbia	55
Tabela 9: Relação entre carga orgânica/peróxido de hidrogênio/ Fe^{2+}	59
Tabela 10: Valores para COD, CT, Ci e NT nas diferentes etapas de tratamento na ETEI	67
Tabela 11: Caracterização do Efluente E1, E2, E3, antes da etapa de hidrólise (P1).....	68
Tabela 12: Valores teóricos e encontrados na determinação por CHN	72
Tabela 13: Deslocamento químico δ^1 (ppm) RMN 1H AMOX _{REAGENTE} e AMOX _{PADRÃO}	72
Tabela 14: Caracterização dos SST e SSV, após lavagem e sedimentação dos inóculos e a concentração adicionada aos reatores dos testes de biodegradabilidade	74
Tabela 15: Testes de biodegradabilidade aeróbia: COD _{inicial} , COD _{final} , taxa de biodegradação, reator de controle alimentado com solução de glicose	84
Tabela 16: Teor de Carbono orgânico adsorvido na lama pós-POA e taxa de remoção de COT	93
Tabela 17: Bandas características da Amoxicilina, na espectroscopia Raman (parcial)	97

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

1º Bio	Primeiro ensaio de biodegradação, outubro a novembro de 2010
2º Bio	Segundo ensaio de biodegradação, novembro/2010 a janeiro/2011
AMOX	Amoxicilina
AMOXIL	Nome comercial da amoxicilina
AMP	Ampicilina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CE	Comunidade Européia
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CI	Cromatografia Iônica
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
COT	Carbono Orgânico Total
CT	Carbono Total
CInorg	Carbono Inorgânico
DEMET	Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais
DESA	Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
DQ	Departamento de Química
E 1	Efluente 1, gerado em julho de 2010
E 2	Efluente 2, gerado em setembro de 2010
E 3	Efluente 3, gerado em outubro de 2010
EPA	Environmental Protection Agency
ESI-MS	Espectrometria de Massas com fonte de Ionização Electrospray
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
ETEI	Estação de Tratamento de Efluente Industrial
FDA	U. S. Food and Drug Administration
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry

K_{ow}	Coeficiente de partição octanol/água dissociação ácida
K_d	Coeficiente de sorção sólido/água
LC/MS	Cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas
MS	Espectrometria de Massas
m/z	Relação em massa e carga de compostos
NT	Nitrogênio Total
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
OMS	Organização Mundial da Saúde
P 1	Ponto de coleta dos efluentes in natura
P 2	Ponto de coleta dos efluentes após hidrólise alcalina
P 3	Ponto de coleta dos efluentes após acidificação com HCl
PEN G	Penicilina G ou benzilpenicilina
pKa	Coeficiente de dissociação ácida
PAF	Princípio ativo farmacêutico
POA	Processos Oxidativos Avançados
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TETRA	Tetraciclina
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

1 INTRODUÇÃO

O consumo de antibióticos no mundo é significativamente alto, tanto para uso humano como para uso veterinário. Os antibióticos são uma classe de fármacos importante, sendo responsáveis pelo aumento da expectativa de vida dos humanos, a partir de meados do século XX, bem como o aumento da produção de alimentos de origem animal como carne, peixes, leite e ovos, pelo uso profilático e em tratamento em toda a cadeia produtora de alimentos.

Os antibióticos possuem características químicas diversas, e são escassas as informações sobre seus efeitos no ambiente. Ainda não existe regulamentação para novos produtos farmacêuticos, de cuidados pessoais e seus subprodutos presentes em águas para consumo e em efluentes industriais e domésticos. (EPA, ANVISA, 2010) Os avanços tecnológicos e industriais superam as práticas de regulamentação em todo o mundo, levando ao lançamento de novos poluentes em diferentes escalas de concentração no meio ambiente. A Agência de Regulamentação de Drogas e Alimentos do EUA (FDA - U. S. Food and Drug Administration) requer apenas ensaios ecológicos e avaliação de fármacos quando a concentração ambiental for superior a 1 µg/L. (BOLONG *et al*, 2009).

No Brasil, a resolução RDC 44, 26/10/2010 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (ANEXO 1) passou a restringir a prescrição e venda de antibióticos, com retenção e validade das receitas. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) mais de 50% das prescrições de antibióticos no mundo são inadequadas. No segundo semestre de 2010 ocorreram, no Brasil, surtos de bactérias produtoras da enzima KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), levando a algumas mortes. Essa enzima pode ser produzida por enterobactérias, que confere às bactérias uma resistência ainda maior aos antibióticos, podendo inativar a ação de penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos (ANVISA, 2010).

Os dados obtidos junto ao Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio mostram que o Brasil importou em torno de 71 milhões de dólares (\cong 1,7 t) em medicamentos com o princípio ativo das penicilinas naturais e seus derivados e cerca de 174,5 milhões de dólares (\cong 1,6 t) em compostos com o princípio ativo das cefalosporinas e cefamicinas naturais e semi-sintéticas, no período entre 2002 e 2007 (MARQUES, 2010). De acordo com a pesquisa de Elander (2003), o mercado mundial de antibióticos β -lactâmicos situa-se na faixa de 15 bilhões de dólares, o que corresponde a 65% do mercado global de antibióticos. Desse valor,

cerca de 5 bilhões de dólares são devidos às penicilinas e 10 bilhões de dólares às cefalosporinas e cefamicinas. A indústria farmacêutica brasileira, geralmente, importa os princípios ativos dos atuais pólos de produção como Índia e China, para a formulação dos medicamentos nas dosagens usadas pela medicina humana e veterinária (PALMEIRA FILHO e PAN, 2003).

As indústrias farmacêuticas geram efluentes com concentrações residuais dos produtos sintetizados e/ou envazados, juntamente com os solventes utilizados nos processos e seus produtos intermediários, os quais podem apresentar características de não biodegradabilidade, e toxicidade para o meio ambiente (MASCOLO *et al.*, 2010).

Os antibióticos são compostos polares, não voláteis, com estruturas químicas e reações de alta complexidade. Possui, em suas estruturas químicas, um grande número de grupos funcionais, como o ácido carboxílico, amida, amina, álcool, cetona, enol, fenol, tiazol, nitro composto, derivados halogenados, sulfonamida entre outros, caracterizando uma grande atividade química e biológica dessas substâncias. Na figura 1 estão algumas estruturas químicas das famílias de antibióticos. A presença desses grupos funcionais propicia interações por processos de adsorção ou complexação, dependendo das condições do meio, como pH, potencial redox, presença de cátions e ânions. Por isso podem permear o solo sendo carregados para as águas subterrâneas, e com isso atingir os rios, expondo tanto os organismos aquáticos como os usuários dessa água a esse tipo de contaminação (CASTIGLIONI, *et al.*, 2004). Os efeitos causados por esses micropoluentes no meio ambiente são função de: concentração no ambiente, lipofilicidade, persistência, bioacumulação, tempo de exposição, mecanismos de biotransformação e de excreção. Ocorrem biotransformações de algumas substâncias presentes no meio ambiente, formando subprodutos igualmente ou até mais danosos que os compostos originais (KRAUSE, 2009)

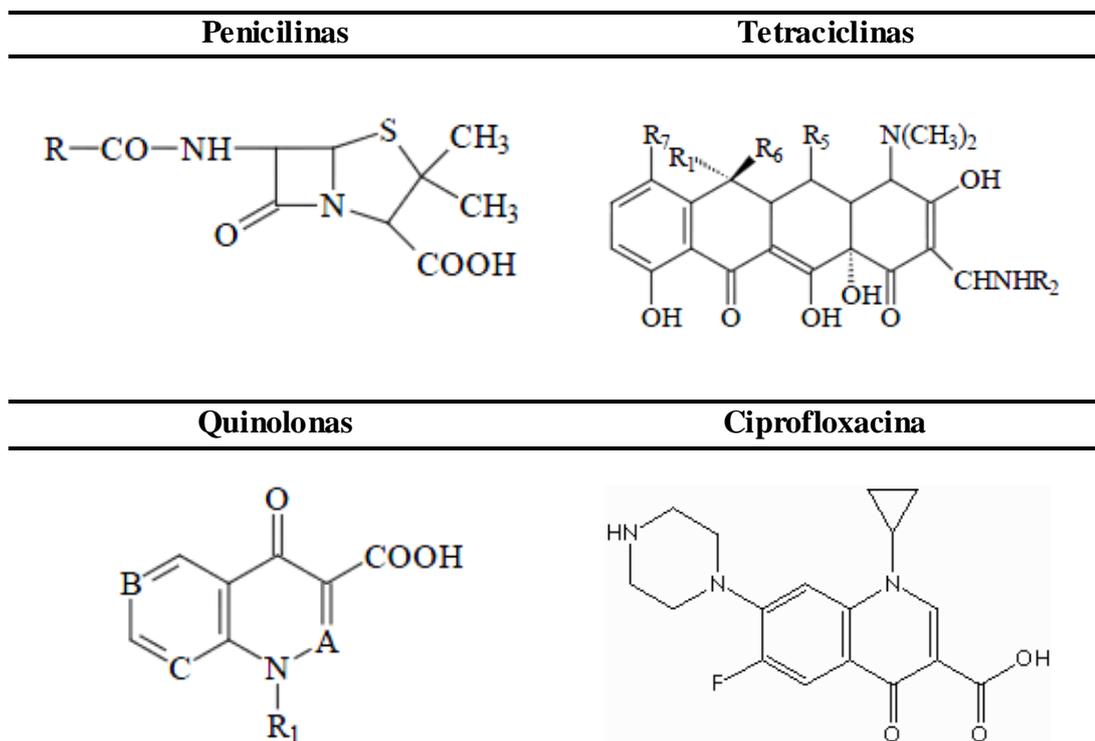


Figura 1: Fórmula geral de família de alguns antibióticos, onde R indica radicais diferentes
 Fonte: (PubChem, 2010)

A estrutura química das penicilinas está apresentada na figura 2, com a indicação de pontos de substituição R_1 , utilizado para a síntese dos diferentes tipos de antibióticos β -lactâmicos. O substituinte R apresentado na figura 2 leva a síntese da amoxicilina (AMOX). AMOX é um dos antibióticos mais amplamente utilizados na medicina humana e veterinária. É uma penicilina semi-sintética com a presença do anel β -lactâmico que inibe a síntese das paredes celulares das bactérias (figura 3).

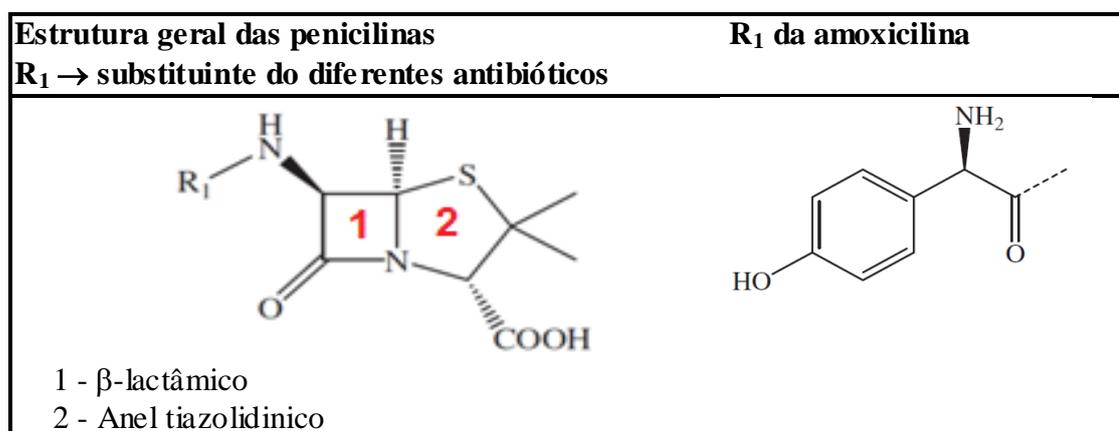


Figura 2: Estrutura geral das penicilinas
 Fonte: PubChem, 2010

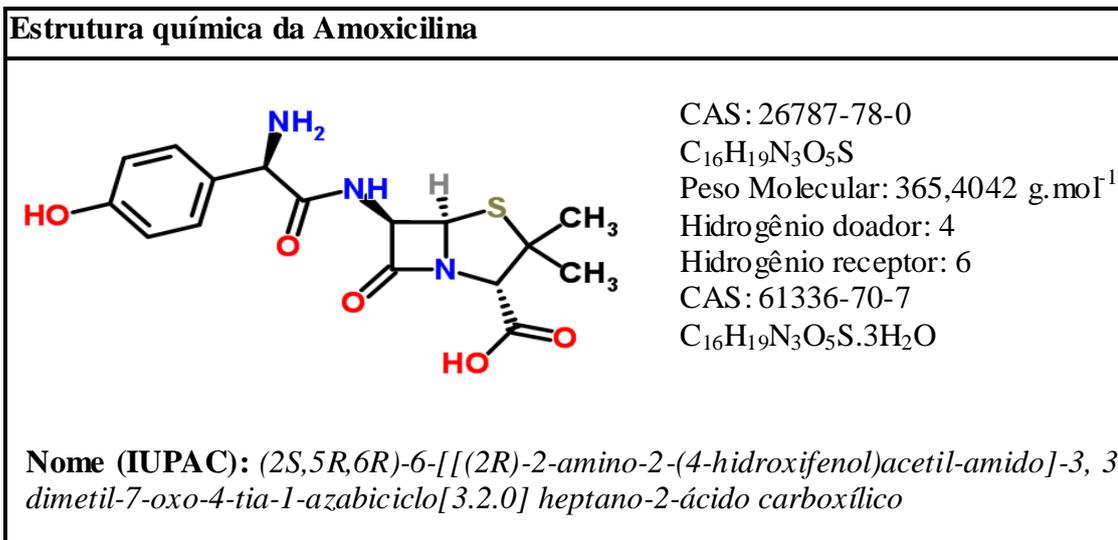


Figura 3: Estrutura química da amoxicilina
 Fonte: PubChem, 2010

Os antibióticos β-lactâmicos possuem a estrutura básica formada pelo anel β-lactâmico ligado ao anel tiazolidínico, identificados na figura 2. Na figura 4 estão apresentadas as estruturas da penicilina G ou benzilpenicilina (PEN G) e a ampicilina (AMP), que possuem pequenas diferenças em relação à estrutura química da AMOX.

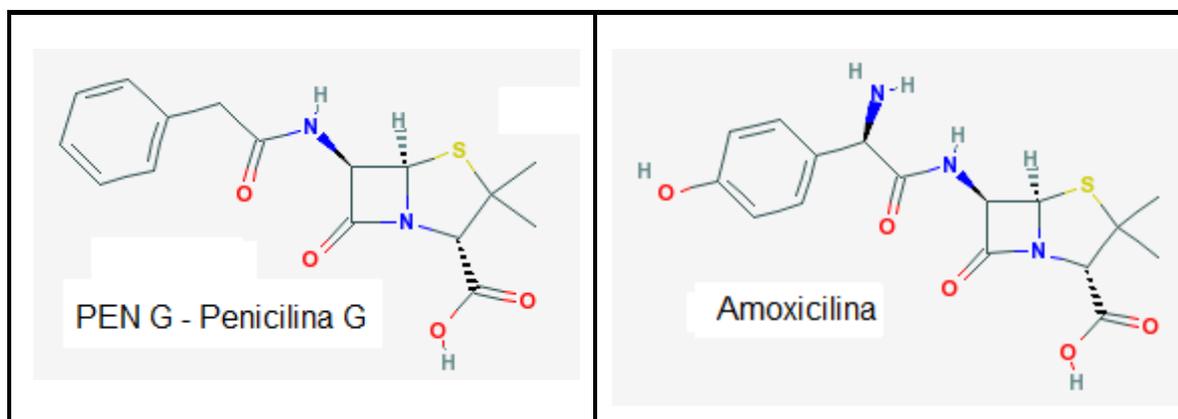


Figura 4: Estrutura química da Penicilina G e Ampicilina
 Fonte: PubChem, 2010

Diversas pesquisas enfocam a degradação apenas de solução aquosa de amoxicilina (AY e KARGI, 2010, HOMEM *et al.*, 2010; KLAUSON, *et al.*, 2010), sendo que Trovó e colaboradores (2011) avaliaram sua degradação em efluentes sanitários após o enriquecimento com a adição do princípio ativo AMOX.

Nessa pesquisa buscou-se estudar a degradação da amoxicilina, caracterizando-a, posteriormente investigando sua biodegradabilidade e sua degradação por reagente de Fenton. Nesse trabalho foram investigados um efluente real de uma indústria farmacêutica, e um efluente sintético preparado a partir de solução aquosa de amoxicilina, no intuito de estudar diferentes concentrações e eliminar interferentes. Os efluentes reais (linha de penicilâmicos da indústria farmacêutica) apresentam concentrações baixas, na ordem de $\eta\text{g. L}^{-1}$ ou $\mu\text{g. L}^{-1}$, o que torna relevante o seu estudo, uma vez que baixas concentrações no meio ambiente podem resultar no desenvolvimento de microrganismos resistentes.

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Caracterizar a degradação do antibiótico amoxicilina em efluente real e sintético em solução aquosa através de Processos Oxidativos Avançados, utilizando o reagente de Fenton e por processos biológicos aeróbios.

2.2 *Objetivos específicos*

- Investigar a performance de degradação da amoxicilina em solução aquosa por processos oxidativos avançados utilizando reagente de Fenton;
- Investigar a ocorrência de sorção de amoxicilina em hidróxidos de ferro formados durante o tratamento por Fenton, antes da etapa de neutralização;
- Investigar os intermediários formados durante o tratamento por processo Fenton;
- Avaliar a degradação do efluente real da linha de produção da indústria farmacêutica, por reagente de Fenton;
- Avaliar a biodegradabilidade aeróbia de amoxicilina e efluentes reais da linha de produção da indústria farmacêutica.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Os fármacos são moléculas complexas, com diferentes grupos funcionais, e possuem propriedades biológicas e físico-químicas distintas, sendo importantes e indispensáveis, tanto na medicina humana e veterinária, como na agricultura e aquicultura. Estas substâncias possuem características persistentes, pois devem manter suas propriedades químicas o tempo necessário para atuarem no tratamento terapêutico. Estão presentes no ambiente aquático em concentrações entre mg.L^{-1} e ng.L^{-1} (BOXALL *et al.*, 2003; KÜMMERER, 2009a). A grande maioria possui características lipofílicas, apresentando, freqüentemente, baixa biodegradabilidade no ambiente, levando a bioacumulação e persistência.

A eliminação dos fármacos do meio ambiente ocorre pelos processos naturais de biodegradação e de degradação abiótica. Muitas drogas não são biodegradadas em matrizes ambientais e nos sistemas de tratamento de esgotos, sendo lançadas nos corpos hídricos (HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998). A degradação abiótica do fármaco, promovida pela absorção da radiação solar ou pela reação com espécies reativas fotoquimicamente geradas ($\bullet\text{OH}$, $\bullet\text{OOH}$, etc.), poderia ser o processo de eliminação dominante, no entanto, as persistências destes resíduos no ambiente aquático indicam que esses processos naturais de eliminação não têm sido eficientes para removê-los (ANDREOZZI *et al.*, 2004).

A preocupação com a presença de produtos farmacêuticos decorre de sua persistência química, resistência microbiana, e efeitos sinérgicos, que levam às implicações toxicológicas. Apesar das baixas concentrações, presentes nos efluentes o lançamento desses sem tratamento podem provocar efeitos adversos na vida aquática, causando danos tanto à saúde humana como à ecologia aquática (ONESIOS, *et al.*, 2009).

O tratamento de compostos residuais nos efluentes gerados pela indústria farmacêutica é complexo e dependente dos processos de produção. Efluentes com altas frações de carbono facilmente biodegradáveis (como os solventes e excipientes) e quantidades baixas desses compostos orgânicos recalcitrantes (princípios ativos dos fármacos) levam a um acúmulo de compostos orgânicos não-biodegradáveis, em baixas concentrações, no ambiente. Tem-se estudado a utilização de processos de tratamento químico para a remoção de fármacos dos efluentes industriais, utilizando os processos oxidativos avançados (POA), que possuem eficiência na remoção de contaminantes orgânicos refratários, apesar de limitações em sua aplicação para sistemas de grande escala devido aos custos muitas vezes considerados elevados. Esses estudos focam fármacos em solução aquosa, efluentes sintéticos ou

enriquecidos (COELHO, 2008; LONGHIN, 2008; SIRTORI *et al.*, 2009, MASCOLO, *et al.*, 2010, TROVÓ, 2011). Esses pesquisadores obtiveram uma redução na carga orgânica e na toxicidade das amostras estudadas após a etapa de tratamento com processos oxidativos avançados. Para Mascolo (2010) a adoção de testes padrões de biodegradabilidade associado à determinação, nas frações, dos produtos de degradação por cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas (LC/MS) possibilita estabelecer a potencial taxa de biodegradação, principalmente nos estudos de efluentes onde substâncias refratárias podem ser mascaradas pelas frações maiores dos compostos biodegradáveis. Na pesquisa de Trovó (2011) foram identificados os produtos de degradação que foram formados durante processos de foto-Fenton. Esses compostos intermediários eram responsáveis pela toxicidade durante o tratamento, sendo essa toxicidade reduzida após etapa de irradiação em um simulador solar com intensidade luminosa de 250 W.m^{-2} .

3.1 Fármacos no meio ambiente e impactos ambientais

Muitos pesquisadores focam na persistência, bioacumulação e toxicidade dos poluentes, que podem afetar toda a cadeia alimentar. Em consequência houve redução de uso ou banimento de algumas substâncias, como dioxinas, PCBs, e pesticidas organoclorados, sobre as quais não existem dúvidas sobre sua toxicidade ou perigo para a vida. Os fármacos, no entanto, são continuamente lançados ou dispersos no meio ambiente, em baixas concentrações, tanto pelas indústrias produtoras como pelo consumo humano e veterinário. Os dados sobre o destino, mecanismos de transporte, e efeitos da exposição aos fármacos, seus metabólitos e produtos de degradação no meio ambiente são escassos, apesar da alta taxa de utilização. Esses fármacos, principalmente a classe de antibióticos podem afetar o crescimento, a reprodução e o desenvolvimento dos organismos presentes no ecossistema (HIRSCH *et al.*, 1999; GARCIA-GALÁN, *et al.*, 2008, SANDERSON e THOMSEN, 2009).

O lançamento de efluente contendo antibióticos, em geral, podem levar ao desenvolvimento de bactérias patogênicas resistentes, alterando a estrutura da comunidade microbiana na natureza, e afetando as bactérias suscetíveis. A maior rota de exposição, tanto para os humanos como para animais, é ingerindo fármacos através dos alimentos ou água, o que pode levar a bioacumulação e biomagnificação, especialmente em direção às espécies no topo da cadeia alimentar. Os fármacos não necessitam ser persistentes para apresentarem toxicidade, uma vez que são liberados de forma contínua para os ecossistemas aquáticos, através do lançamento de efluentes das ETE nos cursos d'águas. Ainda assim, a persistência de alguns compostos em organismos pode ser comprovada, como o triclosan, antibacteriano de ampla

utilização, que foi detectado em plasma de golfinhos *Tursiops truncatus*. No Paquistão, a população de abutres asiáticos sofreu um declínio decorrente da exposição ao analgésico diclorofenaco presente no ambiente (HIRSCH *et al.*, 1999; FENT *et. al.*, 2006, SANDERSON e THOMSEN, 2009; KASPRZYK-HORDERN, 2010).

A grande maioria dos fármacos é excretada através das fezes e urina como uma mistura de metabólitos e compostos inalterados, ou passam por processos de transformação durante o tratamento dos efluentes, podendo produzir compostos de alta toxicidade para os humanos e ecossistemas. Os processos de tratamento de efluentes usuais não removem os fármacos completamente, como mostrado por Ternes (1998) através de um balanço entre entrada e saída dessas plantas. Os fármacos têm sido detectados em águas potáveis, caracterizando um risco direto para os seres humanos, levando ao questionamento da constante contaminação das fontes de água, associado ao processo contínuo e crescente de reutilização da água em todo o mundo. Um grande problema encontrado é a taxa de reposição contínua desses compostos, os quais, potencialmente, sustentam a exposição crônica nos organismos aquáticos (ZWIENER e FRIMMEL, 2000; CASTIGLIONI *et al.*, 2004; BOLONG *et al.*, 2009; BOXALL *et al.*, 2009; KASPRZYK-HORDERN, 2010).

Existem milhares de moléculas ativas sendo utilizadas no Brasil e no mundo, para tratar ou prevenir doenças. A indústria trabalha em um processo constante de pesquisas e sínteses de novas moléculas, para substituir fármacos ultrapassados ou tratar doenças ainda sem cura. No caso de antibióticos, devido ao desenvolvimento de cepas resistentes de bactérias, os novos fármacos desenvolvidos levam à entrada de novas moléculas no meio ambiente. Ao serem introduzidas no ambiente, essas drogas podem afetar os animais pelas mesmas rotas, atingindo órgãos, tecidos, células ou biomoléculas que apresentam funções semelhantes a ação específica do antibiótico. Para muitos fármacos o efeito específico ou o modo de ação não são bem conhecidos e podem agir de maneira diferente e adversa sobre outros organismos (GÖBEL *et. al.*, 2005; ZUCCATO *et. al.*, 2005, FENT *et al.* 2006). Mesmo que estas drogas tenham sido submetidas a estudos farmacocinéticos para obterem a liberação governamental para uso, existem pouquíssimas informações sobre o seu destino no ambiente (FARRÉ *et. al.*, 2008, STUMPF *et. al.*, 1999; FENT *et. al.*, 2006, COELHO, 2008).

As classes de antibióticos possuem diferentes propriedades químicas (solubilidade em água, pH do meio, volatilidade, e potencial de sorção) que influenciam o seu comportamento no ambiente. Pequenas alterações na sua estrutura química podem causar impactos significativos

em seu destino ambiental. Os mecanismos de troca iônica, sorção, complexação superficial e pontes de hidrogênio podem influir na adsorção desses fármacos em solos, sedimentos e lodos biológicos, causando um aumento em sua persistência (BOXALL *et al*, 2003; KÜMMERER, 2009b).

As principais fontes de antibióticos para o meio ambiente são:

- Indústria farmacêutica (produtora da matéria prima ou formulação de fármacos por processos físicos de mistura): gera efluentes em pequenos volumes, baixa biodegradabilidade, e alta toxicidade atribuída aos ingredientes ativos das fórmulas. (ALATON e GURSES, 2004).
- Eliminação pelos organismos: fármacos são absorvidos pelo organismo após ingestão, e estão sujeitos a reações metabólicas, como a hidroxilação ou clivagem. Parte da substância original pode ser eliminada pelos organismos sem ser metabolizada, por excreção, chegando às estações de tratamento de efluentes. (HIRSCH *et al*, 1999; KÜMMERER, 2009).
- Estações de tratamento de efluentes (ETE): os antibióticos são parcialmente eliminados no processo de tratamento, passando através do sistema, e são lançados nos corpos receptores. (HIRSCH *et al*, 1999; ANDREOZZI *et al*, 2004; KÜMMERER, 2009). Os processos de remoção podem variar, dependendo das características do efluente, das condições ambientais, tempo de detenção hidráulica e do processo de tratamento empregado (TERNES, 1998; JOHNSON e SUMPTER, 2001).
- Eliminação nas excretas dos animais: antibióticos veterinários são utilizados no tratamento de doenças, como também para proteger a saúde dos animais e promover seu crescimento. São excretados parcialmente metabolizados, e o esterco gerado, ao ser aplicado como fertilizante (rico em nitrogênio, fósforo, e potássio, e alta concentração de matéria orgânica), leva os fármacos para os solos, podendo ser carregados para os cursos d'água ou adsorvidos por esses (HIRSCH *et al*, 1999; SARMAH, *et al*., 2006).
- Aplicação de antibióticos em aquicultura leva esses compostos diretamente e sem biotransformação para a água e podem ser adsorvidos pelos sedimentos, com também ingeridos pela comunidade aquática (BOXALL *et al*, 2003).

A indústria farmacêutica pode gerar efluentes com alto grau de complexidade, através das etapas de fermentação, síntese química, extração e formulação, gerando um efluente altamente refratário e com alta variabilidade na concentração de matéria orgânica e volumes

gerados. Entre os diferentes efluentes dessas indústrias, o efluente proveniente da lavagem dos equipamentos possui baixa vazão e as concentrações dos poluentes são variáveis com a eficiência do processo (menores perdas do princípio ativo levam a menores concentrações desse nos efluentes). Torna-se necessário realizar um pré-tratamento químico, principalmente para as linhas de produção ou formulação dos antibióticos, ao quais possuem concentrações mais elevadas de compostos bio-inibidores (BALCIOGLU *et al.*, 2003, FENT *et al.*, 2006).

A Índia e China especializaram-se na produção de fármacos a custos bem reduzidos, mas isso tem causado sérias agressões ao meio ambiente. Larsson e colaboradores (2007) analisaram, em coletas pontuais, efluentes das Estações de Tratamentos de Efluentes Industriais (ETEI) de uma indústria farmacêutica em Patancheru, Índia, e detectaram o antibiótico ciprofloxacina na faixa de 28.000 a 31.000 $\mu\text{g.L}^{-1}$, valores que excedem mais de 1000 vezes a toxicidade para algumas bactérias. Li e colaboradores (2008) identificaram a penicilina G (PEN G) e seus produtos de degradação nas águas do rio Wangyang, na China, até 30 km após o ponto de lançamento dos efluentes industriais.

Em uma pesquisa realizada em 1985, Richardson e Bowron avaliaram a biodegradabilidade de alguns fármacos durante o processo de tratamento de efluentes, por tratamento biológico convencional. A escolha dos fármacos deveu-se ao alto consumo e às características nocivas ao sistema de tratamento. Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Avaliação da biodegradabilidade de alguns fármacos

Fármacos	Biodegradabilidade
Ampicilina	48% biodegradável
Ibuprofeno	Biodegradável
Naproxeno	Não biodegradável
Sulfametoxazol	Não biodegradável
Tetraciclina	Não biodegradável

Fonte: RICHARDSON e BOWRON, adaptado (1985).

A ampicilina (AMP) (figura 3), com estrutura química semelhante à AMOX, apresentou biodegradabilidade de 48%, mas a presença de metabólitos e produtos de degradação não foi avaliada. Apesar da ampla aplicação, tanto na medicina humana como veterinária, as penicilinas não são encontradas com frequência no ambiente aquático, sendo que esse fato

pode ser atribuído a sua alta susceptibilidade para hidrolisar ou camuflar através de ligações a íons livres ou sedimentos. (HIRSCH *et al*, 1999)

3.2 Amoxicilina

A utilização dos antibióticos β -lactâmicos a partir do final da 2^a Guerra Mundial representou uma enorme contribuição para as ciências médicas. Esses medicamentos continuam muito utilizados devido à alta eficiência, ao baixo custo e aos poucos efeitos colaterais. Embora os antibióticos da família dos β -lactâmicos possuam grande eficácia no combate à maioria das bactérias patogênicas, ao longo dos anos de utilização algumas linhagens de bactérias desenvolveram resistência a estes. O desenvolvimento de resistência é uma consequência inevitável da pressão seletiva imposta pelo uso generalizado e disposição inadequada dos antibióticos. As preocupações referentes aos impactos ambientais e ao desenvolvimento de resistência bacteriana tiveram seu crescimento a partir dos anos 1990 (BAGGALEY *et al.*, 1997, WILKE *et al*, 2005).

A amoxicilina é um antibiótico aminopenicilâmico de amplo espectro, amplamente usado na medicina humana e veterinária (Figura 2). Os estudos, referentes a essa molécula, tem crescido e são decorrentes da sua presença em diferentes compartimentos ambientais. Um monitoramento realizado em Estações de Tratamentos de Esgotos (ETE) localizadas em diferentes regiões da Itália mostram concentrações de AMOX, nos efluentes finais, na faixa entre $1,8 \text{ } \eta.\text{gL}^{-1}$ a $120 \text{ } \eta.\text{gL}^{-1}$ (ANDREOZZI *et al.*, 2004). A legislação brasileira ainda não estabelece limites de lançamento de princípios ativos de fármacos, havendo necessidade de estudos para avaliar individualmente cada substância.

A indústria farmoquímica brasileira não realiza a síntese dos antibióticos β -lactâmicos, importando o princípio ativo para sua formulação, de acordo com as características utilizadas pela cadeia consumidora. Este processo gera efluentes com características e volumes variáveis, dependente da demanda produtiva, com baixa biodegradabilidade, por conter compostos biologicamente ativos e tóxicos, que podem promover a inibição da atividade dos sistemas biológicos de tratamento como lodos ativados.

3.3 Biodegradabilidade aeróbia da Amoxicilina

Os testes de biodegradabilidade são ferramentas para avaliar o destino de produtos químicos no ambiente, fornecendo uma caracterização inicial desses compostos em relação à possibilidade de degradação via microrganismos, sob condições ambientais específicas. Os

testes propostos pela OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) são utilizados pela Comunidade Européia (CE) para a classificação dos produtos químicos, referentes aos riscos ambientais envolvidos, bem como a classificação e destinação final desses efluentes. (OECD, 1993). Os testes são conduzidos em batelada, e o composto em estudo é a única fonte de carbono disponível para o crescimento dos microrganismos, adicionados no início do teste. Embora não simulem as condições específicas encontradas no meio ambiente, os resultados obtidos podem prever o comportamento em relação à biodegradação de compostos orgânicos nos compartimentos aquáticos e terrestres, apesar de não fornecerem informações em relação aos metabólitos formados durante o processo (GUHL, 2006; GARTISER, 2007).

Os ensaios de biodegradabilidade permitem estimar quanto uma substância é passível de um processo de bio-tratamento:

- > 70% de degradação em 28 dias: substâncias biodegradáveis,
- $20\% < X < 70\%$: parcialmente biodegradáveis, indicando formação de metabólitos estáveis,
- < 20%: não biodegradáveis (OEDC – 302-B, 1992).

O estudo da biodegradabilidade de um princípio ativo em solução aquosa não representa o comportamento desses no ambiente, devido à ausência de interações entre as espécies. O grau de biodegradação depende da diversidade da microbiota presente. A eficiência depende da presença e características da flora microbiana, de substâncias inibitórias e suas concentrações, do pH, da relação entre biomassa e substrato orgânico e da aclimatação microbiana (COKGOR *et al*, 2004). Para melhor avaliar a biodegradabilidade, o efluente deve ser formulado com características químicas semelhantes ao efluente real. As discrepâncias encontradas na biodegradação de fármacos podem ser atribuídas a diferenças na concentração inicial do efluente; concentrações iniciais do substrato; adaptação dos microrganismos; e fontes do inóculo microbiano. (GARTISER, *et al*, 2007, MASCOLO *et al*, 2007, ONESIOS, *et al*, 2009)

Os dados de produção e consumo de fármacos, em geral, são escassos na literatura. Em 1994, a Alemanha produziu cerca de 1800 t de antibióticos, sendo 624 t de penicilinas. Estes números possuem a mesma ordem de grandeza dos pesticidas aplicados na Alemanha, no mesmo período; e o comportamento desses pesticidas tem sido mais estudado. A partir de dados gerados na pesquisa de Halling-Sørensen (1998), foram estimadas as taxas de excreção

de alguns antibióticos consumidos na Dinamarca, em 1995. Na avaliação da biodegradabilidade, a penicilina G apresenta biodegradabilidade parcial (Tabela 2). A biodegradabilidade dos metabólitos não foi avaliada (HIRSCH *et al.*, 1999).

Tabela 2: Utilização e taxas de excreção e biodegradabilidade de antibióticos, Dinamarca, 1995

Utilização		Consumo na Dinamarca, em 1995	
Medicação humana		38 t	
Medicina veterinária		50 t	
Promotores de crescimento, produção intensiva de suínos		94 t	
Substância	Razão de excreção (%)		Biodegradabilidade
	Sem alteração	metabólitos	
Consumo Humano			
Amoxicilina	80-90	10-20	sem dados
Ampicilina	30-60	20-30-	sem dados
Penicilina G	50-70	30-70	parcialmente degradável
Tetraciclina	80-90	-	persistente
Oxitetraciclina	> 80	-	t _{1/2} = 20 dias
Consumo Veterinário			
Ivermectina	40-75	25-60	Persistente
Clortetraciclina	17-75	-	t _{1/2} > 64 dias
Oxitetraciclina	20	-	t _{1/2} > 20 dias

Fonte: HIRSCH *et al.*, 1999, adaptado

Muitos trabalhos abordam, apenas, a remoção do princípio ativo do antibiótico, não considerando a extensão da biodegradação dos metabólitos e produtos intermediários de degradação formados (ONESIOS *et al.*, 2009, SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009). Na análise das águas do rio Wangyang, China foram encontrados produtos de degradação da penicilina G (LI *et al.*, 2008), abrindo frentes para pesquisas semelhantes, em relação à identificação dos produtos de degradação de fármacos. Para esta identificação, as amostras foram coletadas em 5 pontos no

sistema de tratamento de uma indústria produtora de PEN G (7000 t/ano) e em 4 pontos rio Wangyang, China, à jusante do lançamento. Os efluentes dessa indústria são submetidos a tratamento anaeróbio, hidrólise e acidificação, seguido por tratamento aeróbio primário e secundário. A PEN G e seus produtos de degradação foram identificados em todo o processo de tratamento e ao longo do curso do rio, por 30 km (Tabela 3). As etapas do tratamento convertem a penicilina G em produtos de degradação, como os identificados nessa pesquisa: ácido pencicilóico, ácido penilóico, ácido penicílico, ácido isopenílico e peniciloaldeido. Pode ser observado o aumento na concentração do ácido penicilóico no efluente gerado na etapa anaeróbia (LI *et al.*, 2008).

Tabela 3: Presença de penicilina em sistema de tratamento industrial de indústria farmacêutica, na China

Analito	Concentração (mg.L ⁻¹)		Remoção (%)			
	Ponto 1 Efluente Bruto	Ponto 5 Efluente final	Tratamento anaeróbio	Hidrólise alcalina e ácida	Dois tratamentos aeróbios	Total de remoção
PEN G	0,153	0,00168	26,1	41,5	92,7	96,8
Ácido Pencicilóico	8,49	10,70	-61,5	20,1	2,4	-25,9
Ácido Penilóico	389	44,5	32,2	36,3	22,9	67,0
Ácido Penicílico	23,5	5,49	17,8	0,1	17,8	32,5
Ácido Isopenílico	1,05	0,146	-49,6	61,4	30,9	60,9
Peniciloaldeido	75,3	6,77	6,5	8,9	69,4	74,0

Fonte: LI *et al.*, 2008, adaptado

O mecanismo proposto para a formação dos produtos de degradação no processo de tratamento adotado está mostrado na figura 5 (LI *et al.*, 2008). Pode-se observar que o anel aromático e o anel tiazolidínico permanecem nos intermediários identificados nas etapas de tratamento na ETEI, ocorrendo principalmente a quebra do anel β -lactâmico durante as diferentes etapas do tratamento (Figuras 2 e 3).

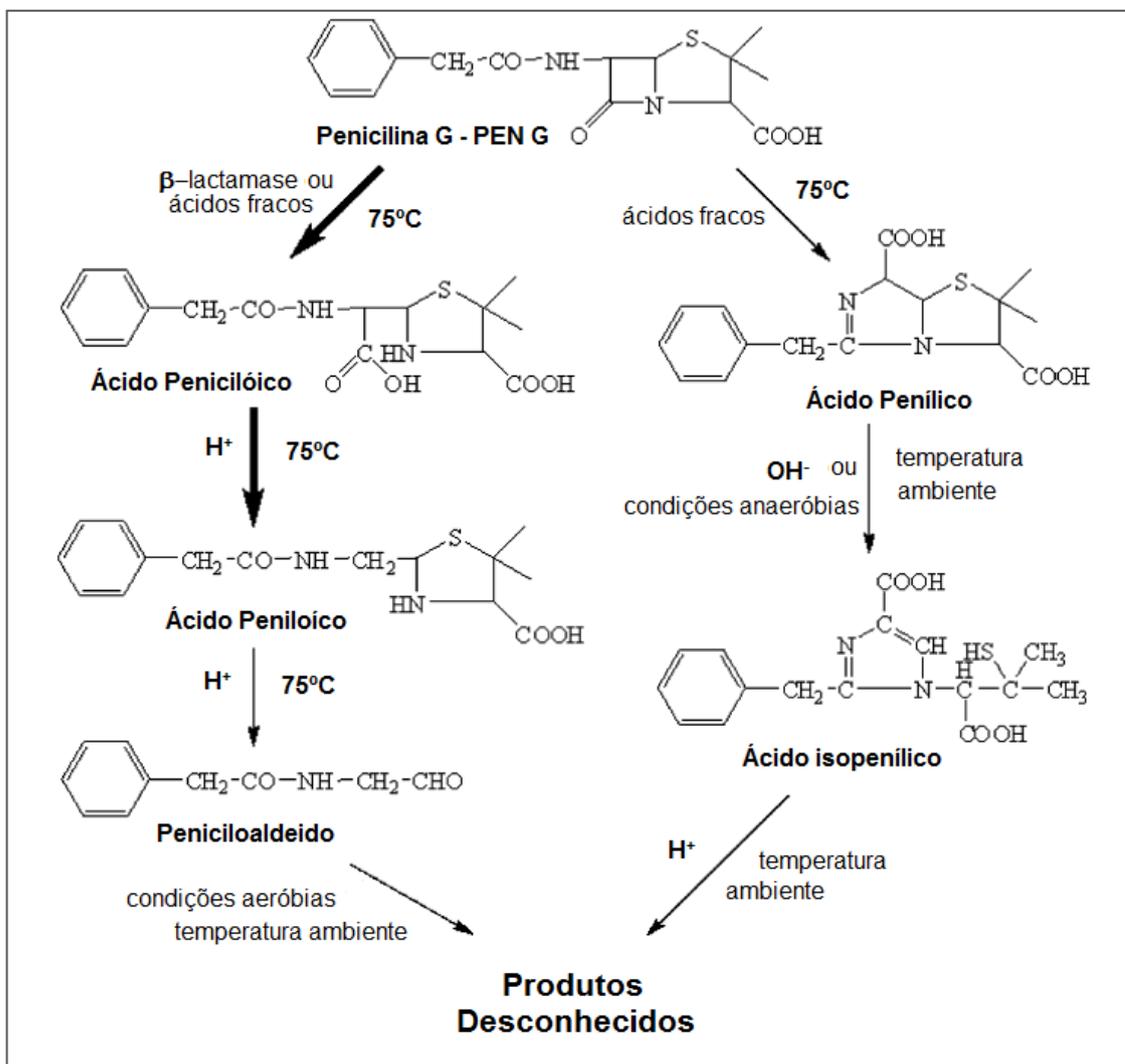


Figura 5: Mecanismo proposto para degradação de penicilina G em um efluente real, durante as etapas de tratamento da ETEI
 Fonte: (LI *et al*, 2008)

A concentração de PEN G decresce, gradativamente, com a distância de lançamento no rio, com concentração de PEN G = $0,31 \pm 0,04 \mu\text{g.L}^{-1}$ no ponto de descarga do efluente, e atingindo o limite de detecção PEN G $< 0,03\mu\text{g.L}^{-1}$ a 30 km do ponto de lançamento. Os produtos de degradação mostram-se persistentes, com valores de concentração na faixa de mg.L^{-1} . Analisando os compostos presentes no segmento do rio investigado, vê-se que ocorreu uma redução gradativa do composto PEN G, com um aumento na formação do ácido isopenicílico (Figura 6), tanto para a amostra coletada em dezembro/2004 com para a amostra coletada em abril/2005. Os riscos ambientais, para esses produtos de degradação formados, ainda não foram plenamente avaliados.

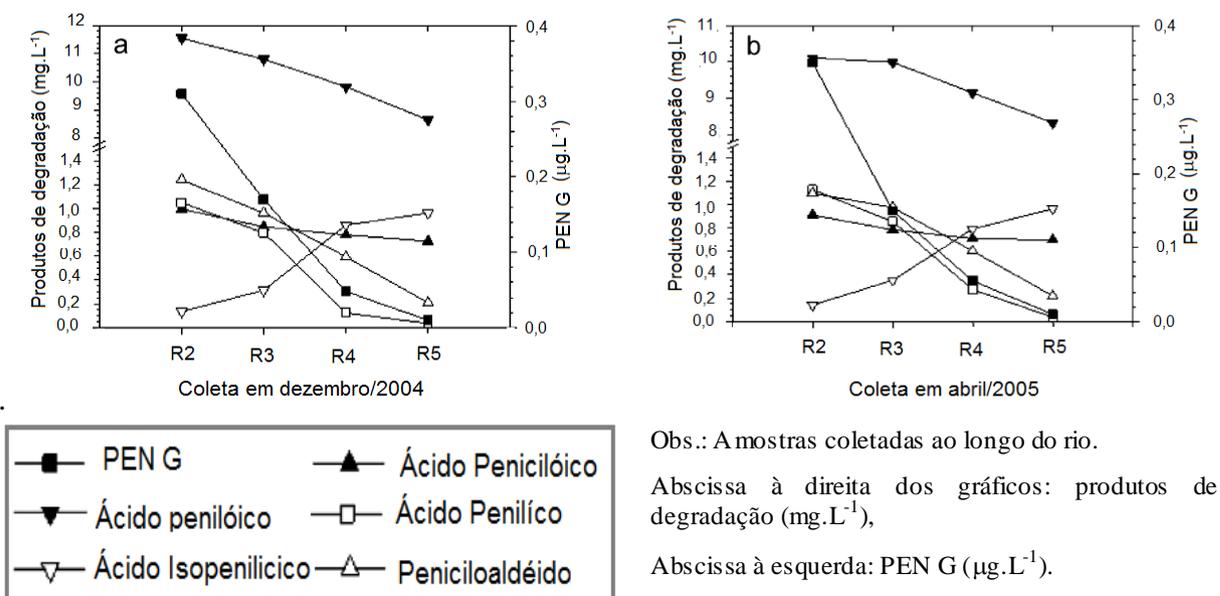


Figura 6: Produtos de degradação presentes nas águas do rio Wangyang, China, a partir da jusante do lançamento dos efluentes da indústria de fármacos até 30 km após esse lançamento
 Fonte: LI *et al*, 2008

A indústria farmacêutica gera efluentes que são o somatório dos resíduos dos princípios ativos farmacêuticos (PAF), excipientes, corantes e solventes, além dos intermediários de degradação, sendo que esses podem apresentar características refratárias e toxicidade ao meio ambiente.

O estudo da biodegradabilidade aeróbia de compostos procura caracterizar os riscos e estimar a persistência de poluentes persistentes no meio ambiente, tanto em rios e lagos, como em solos e sedimentos. Para informações preliminares da eficiência de tratamentos biológicos para efluentes podem-se utilizar os testes de biodegradabilidade inerente, como o teste de Zanh-Wellens. Esse teste procura imitar o comportamento de um composto químico, em uma planta de lodos ativados, por que simula as condições em que esse sistema opera (OECD – 302-B, 1992). (OECD, 1993; GUHL e STEBER, 2006). Os resultados desses testes podem ser considerados um indicativo suficiente da baixa biodegradabilidade, mas os resultados positivos não são necessariamente um prognóstico de biodegradabilidade sob as condições ambientais reais (OECD, 1993; GUHL e STEBER, 2006).

Deve-se ter o cuidado ao avaliar a biodegradação de amostras complexas, como efluentes farmacêuticos, quando a degradação dos compostos alvos pode ser mascarada pela degradação mais rápida dos solventes e excipientes, presentes em maior concentração (GARTISER, 2007; MASCOLO, 2010b). No caso dos efluentes oriundos de produção de

antibióticos, devido ao alto valor agregado da matéria prima, as indústrias farmacêuticas operam focando em uma mínima eliminação. Com isso as concentrações dos PAF nos efluentes são, geralmente, menores. Um exemplo disso é encontrado na pesquisa de Mascolo (2010), onde a concentração de aciclovir nos efluentes, da sua linha de produção, variou entre 170 mg.L⁻¹ e 2580 mg.L⁻¹, e a concentração de carbono orgânico total (COT) entre 10000 e 30000 mg.L⁻¹. No efluente do ácido nalidíxico foi encontrado 220 mg.L⁻¹ do seu princípio ativo, com COT em 3500 mg.L⁻¹. Para naproxeno encontrou-se o equivalente a 320 mg.L⁻¹ e COT de 35000 mg.L⁻¹. Contudo, a degradação dos PAF deve ser monitorada, para evitar o seu lançamento em corpos hídricos, cujos efeitos ambientais e tóxicos ainda não foram plenamente estabelecidos.

3.3.1 Biodegradabilidade aeróbia

Os fármacos possuem persistência química, resistência microbiana, e efeitos sinérgicos, levando às implicações toxicológicas. Apesar das baixas concentrações, os efeitos dos fármacos no ambiente ainda não estão plenamente estabelecidos, podendo levar a efeitos adversos para a biota aquática, e, conseqüentemente, causando danos tanto a saúde humana como a vida aquática (ONESIOS *et al*, 2009, SEIFRTOVÁ *et al*, 2009).

Em sua pesquisa, Hirsch e colaboradores (1999) não identificaram penicilina no meio aquático, atribuindo essa ausência devido à hidrólise dos anéis β-lactâmicos. A hidrólise da AMOX nas condições ambientais é dependente do pH, o que leva a quebra do anel β-lactâmico e, conseqüentemente, a perda sua atividade antibiótica (figura 7). Esses pesquisadores, no entanto, não analisaram os produtos de degradação formados após a quebra do anel β-lactâmico, como nas pesquisas conduzidas por Nägele e Moritz (2005); Li *et al* (2008) e Trovó *et al*, (2011) em que as frações geradas foram analisadas, após etapas de degradação, por técnicas cromatográficas e detecção por espectrometria de massas. Esses produtos de degradação podem possuir características refratárias aos processos de degradação, persistindo, então, no meio ambiente.

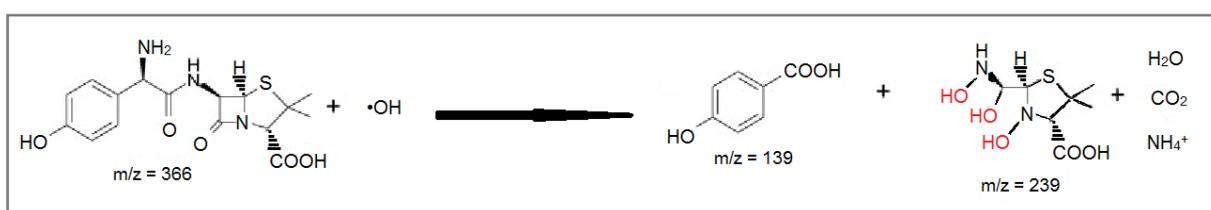


Figura 7: Hidrólise do anel β-lactâmico causado pela alteração do pH da solução

Para conhecer a degradação biológica de efluentes reais, utilizando os ensaios propostos por Zahn-Wellens (OCDE, 1992) Mascolo e colaboradores (2010) conduziram testes com cinco efluentes, sendo três procedentes da fabricação, em batelada, da droga antiviral aciclovir, apresentando características bem diferentes inerentes a esse tipo de produção. Os outros dois eram efluentes da produção de ácido nalidíxico e naproxeno. Os inóculos foram coletados na ETE local. Em paralelo, fez-se a avaliação da degradação dos PAF, visando comparar com a degradação dos respectivos efluentes. Monitorou-se a taxa de remoção de carga orgânica pela determinação de carbono orgânico dissolvido (COD). A degradação dos princípios ativos mostrou-se menos eficiente comparada com os seus respectivos efluentes. A figura 8 mostra as taxas de remoção dos efluentes e PAF. Para aciclovir (a), a degradação dos efluentes estabilizou-se a partir do 2º dia, e os reatores com PAF apresentaram maior refratariedade (\cong 50% de remoção de COT). A taxa de degradação do ácido nalidíxico (b) foi a menor entre os PAF estudados, mas seu efluente apresentou boa biodegradabilidade. Para o naproxeno (c) o comportamento foi diferente, com pequeno platô no início dos ensaios, e uma taxa de degradação em torno de 80% a partir do 15º dia, sendo que seu efluente obteve essa remoção desde o início do ensaio (MASCOLO *et al.*, 2010).

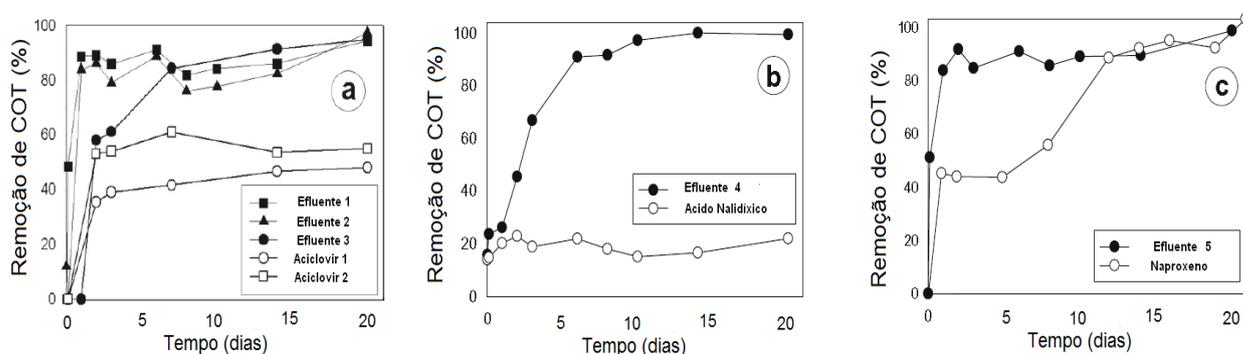


Figura 8: Biodegradação aeróbia de fármacos, utilizando os testes Zahn-Wellens, em efluentes reais e de seu princípio ativo em solução aquosa.

(a) aciclovir (b) ácido nalidíxico (c) naproxeno

Fonte: MASCOLO *et al.*, 2007

A determinação dos intermediários nas frações do teste de Zahn-Wellens indicou que a remoção de aciclovir (a), ácido nalidíxico (b) e naproxeno não são correspondentes à taxa de remoção de COT nos reatores, um indicativo da formação de produtos intermediários (figura 9). Utilizando HPLC-MS interfaceado por injeção por eletrospray, foi possível identificar a presença dos PAF e seus intermediários, nas frações do teste de Zahn-Wellens, para aciclovir, ácido nalidíxico e naproxeno. Isso é um indicativo que a quantificação da remoção dos

princípios ativos pode ter sido mascarada pelas altas concentrações de solventes orgânicos e compostos biodegradáveis presentes na matriz do efluente. Tanto o princípio ativo com o efluente do ácido nalidíxico não mostraram-se biodegradáveis ao teste de Zahn-Wellens realizado (MASCOLO *et al.*, 2010).

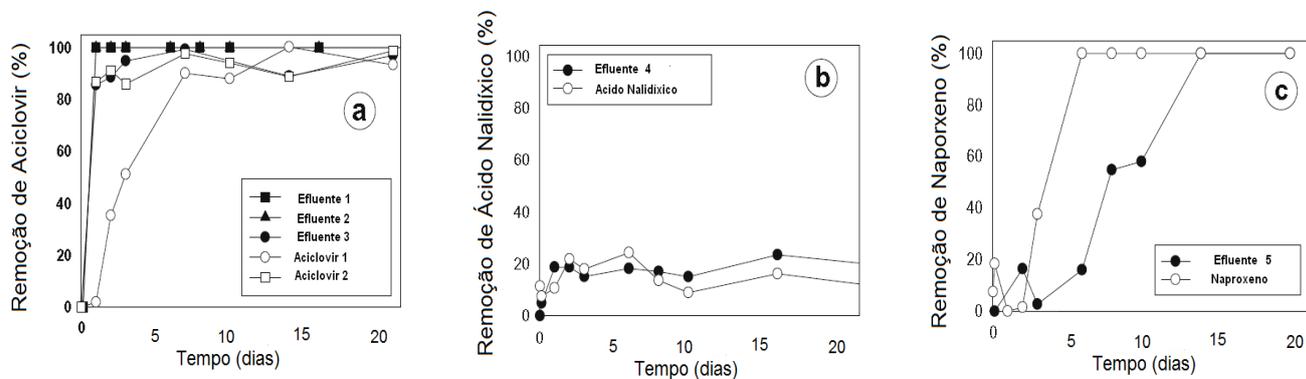


Figura 9: Evolução da remoção dos princípios ativos nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia por Zahn-Wellens com a remoção dos princípios ativos determinadas por HPLC-MS
Fonte: MASCOLO *et al.*, 2007

3.3.2 Biodegradabilidade da Amoxicilina

Em 1998 Christensen avaliou a biodegradabilidade da AMOX através do teste modificado de Sturm e obteve 50% de mineralização em 216 dias de ensaio. Concluiu que “amoxicilina é razoavelmente não persistente e não acumula-se no meio ambiente.” Avaliando o tempo e a taxa de biodegradação, tem-se que discordar desse pesquisador, uma vez que 216 dias e 50% de degradação é um tempo relativamente alto, podendo levar as bactérias presentes no ambiente a desenvolverem resistência à amoxicilina. Além disso, a entrada contínua do composto no ambiente contribui para aumentar sua persistência.

O pouco conhecimento do destino e efeitos dos antibióticos no meio ambiente motivou Alexy *et al.* (2004) a estudarem a degradação para diferentes classes de antibióticos, pelo procedimento proposto em OECD 301 D Test, em frasco fechado, sem adaptação dos inóculos. Para AMOX os testes indicaram 5% de $OD_{teórica}$ (demanda de oxigênio teórica), após 28 dias, classificando-a como não biodegradável.

Em 2007, Gartiser e colaboradores fizeram ensaios comparativos com 17 antibióticos, inclusive amoxicilina; através dos testes Zahn-Wellens (OECD 302 B, 1992) e modificado de Sturm de evolução de CO_2 (OCDE 301 B, 1992). Um inóculo, procedente de ETE municipal

com lodos ativados sem o aporte de efluentes hospitalares, foi utilizado nos ensaios, assumindo sua menor adaptabilidade aos antibióticos.

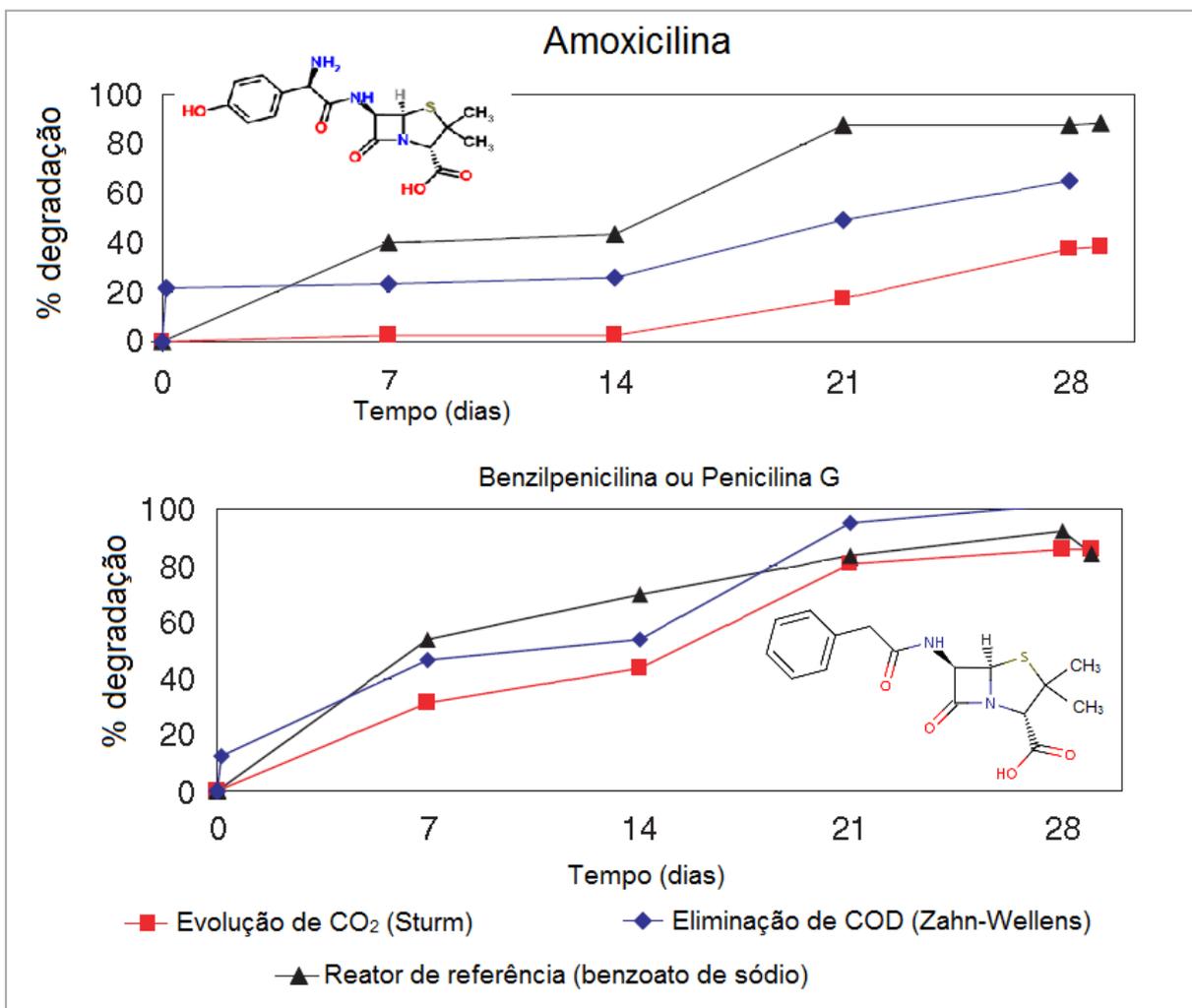


Figura 10: Taxa de degradação de Amoxicilina e Penicilina em ensaios de biodegradabilidade aeróbia, comparando os testes de Zahn-Wellens e Sturm
Fonte: GARTISER *et al*, 2007, adaptado

A degradação para AMOX por Zahn-Wellens ficou em torno de 60% e para Sturm em 40%. Analisando as curvas pode-se inferir que o processo ainda não havia estabilizado, devido à inclinação ascendente. Para PEN G, os dois testes obtiveram uma degradação na faixa de 78% a 87% (Figura 10). Comparando a degradação e a estrutura química dos dois PAF observa-se que a presença do radical OH ligado ao anel aromático pode ter contribuído para aumentar as características refratárias da amoxicilina. Os compostos de degradação não foram investigados (GARTISER *et al*, 2007). Nesse estudo AMOX mostrou-se menos biodegradável que a penicilina-G, com um platô de estabilidade de 20% de biodegradação para o teste de Zahn-Wellens e menor de 5% para o teste de Sturm, durante os primeiros 14 dias do teste.

3.4 Processos oxidativos avançados e sua aplicação na indústria farmacêutica

A indústria farmacêutica possui uma gama ampla de processos, como síntese química, extração, fermentação, e, mais comum na indústria brasileira, a formulação de produtos. Isso leva a geração de efluentes com carga muito variável e toxicidade e complexidade alta. Nas indústrias que operam na etapa de formulação dos medicamentos, os efluentes podem apresentar baixa biodegradabilidade, com maior toxicidade causada pelos ingredientes ativos. Nos efluentes da formulação de antibióticos, a presença de substâncias químicas refratárias em altas concentrações pode levar a inibição da biomassa dos tratamentos por lodos ativados, como também pode causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos nos corpos receptores. Isso leva a necessidade de implantação de processos de pré-tratamento químico, antes da descarga final nos corpos receptores ou em ETEs industriais ou de efluentes domésticos. (ARSLAN-ALATON e GURSES, 2004, MASCOLO *et al.*, 2007).

Os antibióticos β -lactâmicos, como a amoxicilina, objeto dessa pesquisa, tem sido amplamente estudados devido à alta taxa de vendas, tanto no Brasil, como na Europa e nos Estados Unidos. Algumas pesquisas, referentes ao comportamento desse composto, mostram resultados discordantes. Existem estudos indicando que esses antibióticos são muito biodegradáveis, ou podem permanecer inalterados ao passarem pelas estações de tratamento de efluentes (ALEXY *et al.*, 2004; ANDREOZZI *et al.*, 2005; GASTISER *et al.*, 2007, SONG *et al.*, 2008, AY e KARGI, 2010).

A estrutura da AMOX possui o anel aromático ligado uma hidroxila (hidroxifenol), uma estrutura de grande estabilidade, e refratária à oxidação, sob condições mais brandas. Além disso, os outros grupos que constituem a molécula, como a amida e tiazol indicam a necessidade de utilizar processos mais reativos para promover a degradação, como os radicais $\bullet\text{OH}$ ($E^0 = 2,72 \text{ V}$).

A utilização de processos oxidativos avançados para degradar poluentes orgânicos biorefratários ou tóxicos, presentes em efluentes industriais, tem sido aplicada em algumas indústrias, e existem muitas pesquisas avaliando os diferentes POA para fármacos, incluindo o reagente de Fenton. Muitos compostos farmacêuticos e seus metabólitos têm sido encontrados em águas superficiais e subterrâneas, indicando a ineficiência de remoção por tecnologias tradicionais de tratamento de efluentes. Os POAs estão baseados na geração do radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), que tem um poder oxidante alto e promove a degradação de vários

compostos poluentes de forma rápida, porém não-seletiva, levando à mineralização parcial ou completa do contaminante químico (ANDREOZZI *et al.*, 2005; SHARMA *et al.*, 2006, SONG *et al.*, 2008, TROVÓ *et al.*, 2008, AY e KARGI, 2010).

Tendo como foco a otimização industrial, o objetivo principal dos tratamentos oxidativos avançado não é a mineralização completa do poluente, mas sua transformação em subprodutos que sejam biodegradáveis aos processos de tratamento biológicos convencionais. Isto torna o processo mais atraente sob aspecto financeiro, pois reduz o consumo de insumos para o processo químico de degradação da molécula; e podendo associar um tratamento biológico convencional, para degradar as frações finais já degradadas por POA (ADAMS e KUZHIKANNIL, 2000).

Nesse trabalho será avaliada a degradação de fármacos por reagente de Fenton, o qual apresenta bons resultados de remoção de contaminantes refratários para diferentes matrizes estudadas, como mostram os trabalhos desenvolvidos no programa SMARH (LANGE *et al.*, 2006; ALVES, 2004, AMORIM, 2007, MORAVIA, 2007, AMORIM, 2010, MORAVIA, 2010).

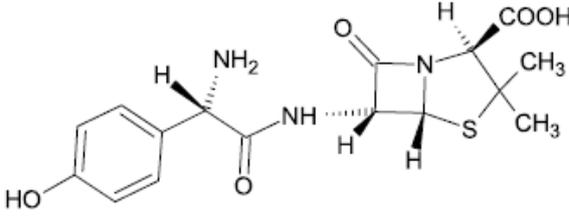
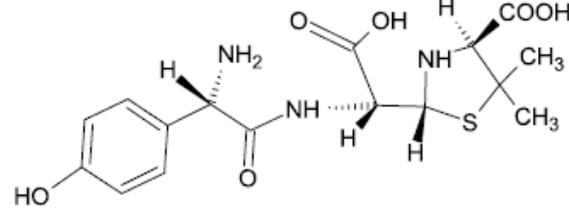
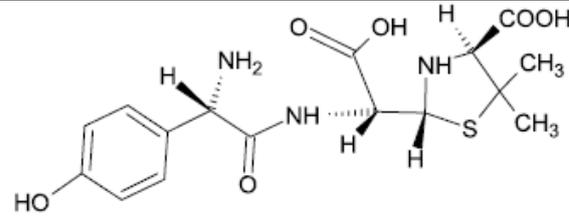
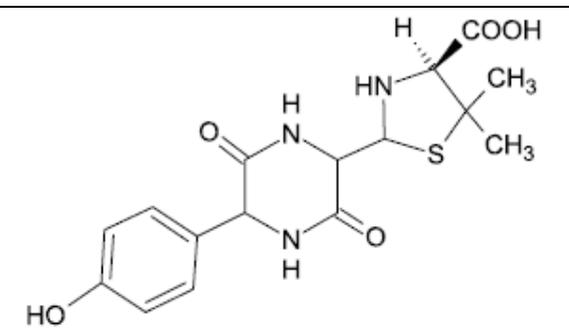
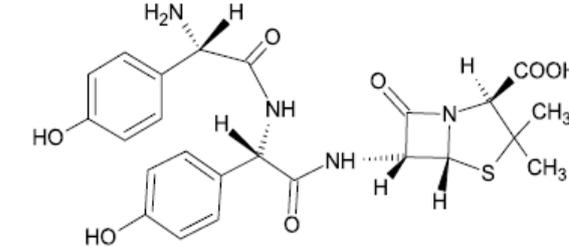
Outros estudos indicam que AMOX é hidrolisada no ambiente, pela abertura do anel β -lactâmico, estrutura instável e sensível a variações do pH, do calor e da ação das enzimas β -lactamases. Experimentos laboratoriais têm mostrado a hidrólise do anel β -lactâmico levando a formação de ácido penicilâmico intermediário, em soluções fracamente ácidas ou neutras; com posterior transformação ao ácido penicilóico, produto de degradação dos compostos β -lactâmicos em meio alcalino. Esse ácido penicilóico pode reagir formando ácido penicilínico sob condições ácidas (HIRSCH *et al.*, 1999; SACHER *et al.*, 2001; LI *et al.*, 2008).

Além do processo de degradação química, as enzimas β -lactamase liberadas por bactérias resistentes podem transformar os antibióticos penicilâmicos em ácido penicilóico. Esse último foi detectado em seres humanos, como metabólito formado após ingestão do fármaco, e tem sido correlacionada às reações alérgicas a penicilina, e a sua presença e influência no meio ambiente ainda continua pouco esclarecida (ARSLAN-ALATON e GURSES, 2004; LI *et al.* 2008).

As identificações dos produtos de degradação química da AMOX foram determinadas por Nägele e Moritz (2005), por espectrometria de massas, com detecção por *Ion Trap* (*Ion Trap*

MSⁿ and Accurate Mass Determination by ESI TOF), e os resultados encontrados são apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Amoxicilina e seus produtos de degradação, determinados por ESI-MS

Composto	Fórmula Química e nome	[M ⁺ H] ⁺ = m/z
	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S Amoxicilina	366,1124
	C ₁₆ H ₂₁ N ₃ O ₆ S Ácido penicílico amoxicilina	384,1229
	C ₁₅ H ₂₁ N ₃ O ₄ S Ácido penicílico amoxicilina I e II	340,1331
	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S Amoxicilina Diquetopiperazina	366,1124
	C ₂₄ H ₂₆ N ₄ O ₇ S 4-Hidroxifenilglicil amoxicilina	515,1600

Fonte: NÄGELE e MORITZ, (2005) adaptado.

Na degradação de AMOX com reagente de Fenton em pH < 4,0, pode-se considerar que o grupo amina (pK_{a2} = 7,49) e ácido carboxílico (pK_{a1} = 2,68) estão em condições de serem

desprotonados. Em processo oxidativo utilizando ozônio as reações podem ser realizadas em pH alcalinos, e as reações podem ocorrer pela rota (a), com O_3 atacando o anel aromático, ou através da rota (b), reagindo com o enxofre do anel tiazolidinico formando grupos de sulfóxidos ou reagindo com o grupo amina (Figura 11). A degradação do anel aromático ($pK_{a3} = 9,63$) pode apresentar menor efetividade à ação do radical $\bullet OH$, pelo pH operacional para condução da degradação com reagente de Fenton (Figura 12), (ANDREOZZI *et al.*, 2005).

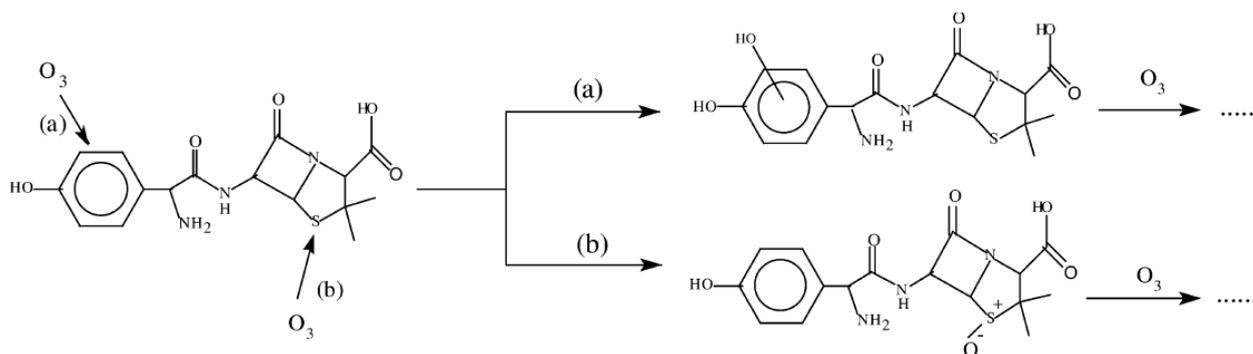


Figura 11: Sítios propostos para ataque de radicais oxidantes, em processo de oxidação por ozonólise
 Fonte: ANDREOZZI *et al.*, 2005, adaptado

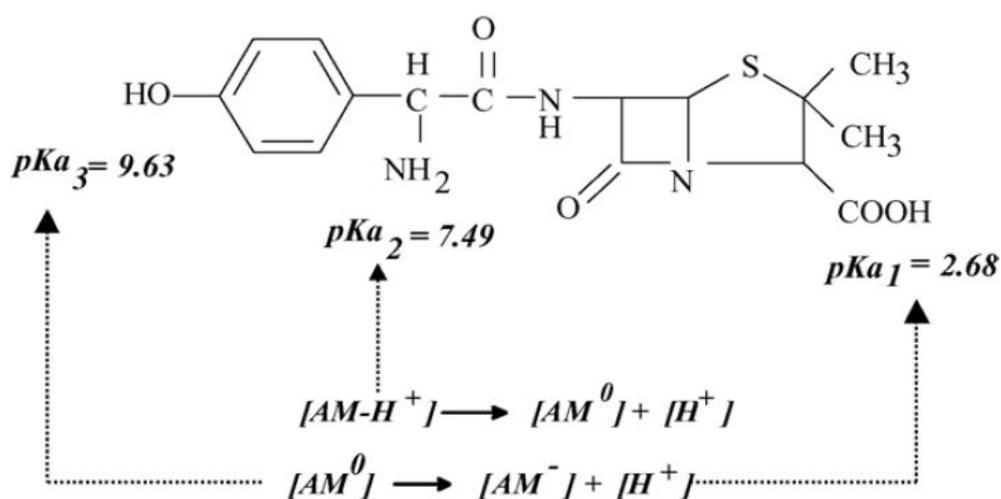


Figura 12: Estrutura química da amoxicilina, com indicação dos grupos ionizáveis e seus valores de pKa
 Fonte: Andreozzi *et al.*, 2005

No trabalho de Andreozzi e colaboradores (2005), a degradação de AMOX por ozonização, em $pH = 5,5$ levou a remoção de 90% de AMOX após 4 minutos de reação, entretanto a

remoção da carga orgânica, em COT ficou na faixa de 10%, um indicativo de formação de produtos de degradação (Figura 13). As frações geradas foram analisadas em HPLC-MS, detectando espécies intermediárias da degradação de AMOX.

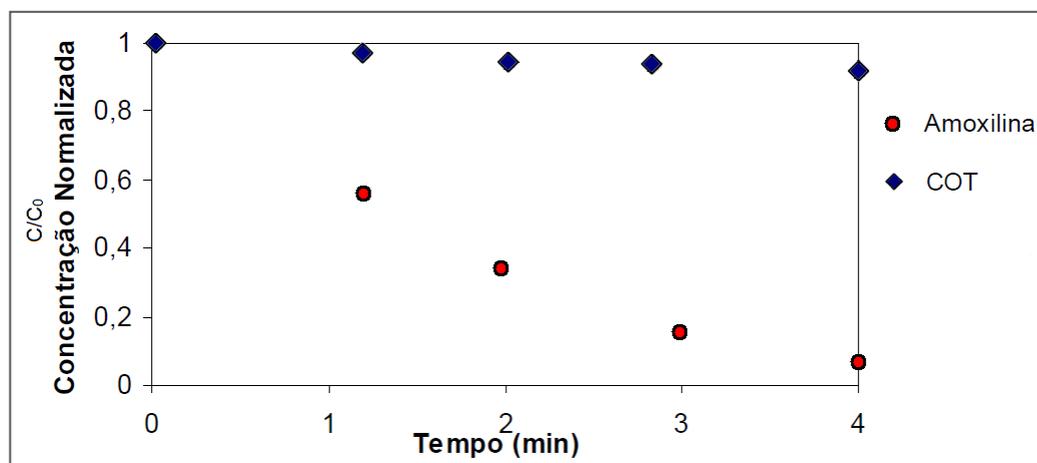


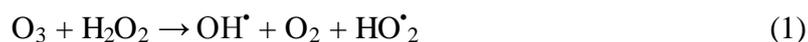
Figura 13: Relação da degradação de amoxicilina em água comparada com a taxa de remoção de COD.
Fonte: ANDREOZZI *et al.*, 2005, adaptado

3.4.1 Processos oxidativos com radical $\bullet\text{OH}$, aspectos teóricos

O radical $\bullet\text{OH}$ é uma das espécies oxidantes mais energéticas usadas em processos de tratamento de água e efluentes, para potencializar a oxidação do contaminante. Essas reações alteram a estrutura e as propriedades químicas das substâncias orgânicas, através do rompimento das moléculas por hidrólise, eliminação e oxidação (VENKATADRI e PETERS, 1993, ALVES, 2004; AMORIM, 2007, AMORIM, 2010). Pode-se qualificar a degradação através da redução do carbono orgânico. Monitorar as frações de degradação por Espectrometria de massas com injeção por eletrospray (ESI-MS), associados aos testes de toxicidade, permite determinar a formação de intermediários com características mais ou menos tóxicas (DAMÁZIO, 2007, TROVÓ *et al.*, 2011).

A oxidação por H_2O_2 sozinho não é efetiva para altas concentrações de contaminantes refratários, como compostos aromáticos, devido as suas baixas taxas de reação. A presença de sais de metais de transição (ferro, titânio, zinco, por exemplo), radiação ultravioleta, ou ozônio podem ativar a molécula de H_2O_2 para formar radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$), oxidantes mais enérgicos. Os radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) podem atacar moléculas orgânicas por abstração de um átomo de hidrogênio, adição de grupos hidroxilas ou transferência de elétrons. Reações envolvidas em processos oxidativos avançados (eq. 1 a 3):

- Ozônio e peróxido de hidrogênio



- Sais de ferro (II) e peróxido de hidrogênio – Reagente de Fenton



- Radiação ultravioleta e peróxido de hidrogênio



Os radicais hidroxilas (OH^\bullet) não possuem especificidade na oxidação de compostos orgânicos refratários, e tem um potencial de oxidação = 2,8V, e alta taxa de reação ($10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$).

Nessa pesquisa utilizou-se o POA com reagente de Fenton homogêneo, e as reações básicas que ocorrem nesse sistema são mostradas a seguir. O reagente de Fenton é uma mistura de H_2O_2 a sais de ferro (II), com formação de radicais hidroxilas, de acordo com a equação (4).



O íon ferroso (Fe^{2+}) inicia e catalisa a decomposição de H_2O_2 , resultando na geração de radicais hidroxilas (OH^\bullet). A geração dos radicais envolve uma sequência de reações complexas em soluções aquosas, resumidas nas equações 5 e 6

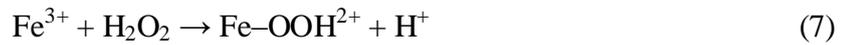


A equação 5 possui uma a constante de velocidade equivalente a $k_1 = 70 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$



Que apresenta constante de velocidade (equação 6) equivalente a $k_2 = 3,2 \times 10^8 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

Os íons férricos Fe^{3+} , formados na reação 6, agem como catalisador reagindo com H_2O_2 , decompondo-o em O_2 e H_2O ; etapa não desejada no POA, pois pode levar a geração de hidróxidos de ferro, como a goethita, removendo os íons Fe^{2+} , impossibilitando seu retorno ao processo de degradação. Íons ferrosos (Fe^{2+}) e radicais podem, também, ser formados nas reações, como mostrado nas equações 7 a 11.



Tendo a constante de velocidade (eq. 7) equivalente a $k_3 = 0,001$ a $0,01 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$



As equações 7 e 8 são denominadas de reações de Fenton Modificado.



A constante de velocidade da equação 9 é equivalente a $k_5 = 1,3 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$ em $\text{pH} = 3$.

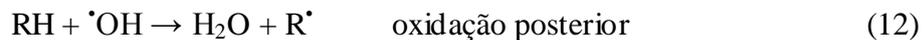


A equação possui a constante de velocidade: $k_6 = 1.2 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$ em $\text{pH} = 3$.



Tendo a constante de velocidade (eq. 11) equivalente a $k_7 = 3.3 \times 10^7 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$.

Os radicais hidroxila podem oxidar compostos orgânicos (RH) por abstração de prótons produzindo radicais orgânicos (R^\bullet), os quais são mais reativos e podem ser oxidados.



A manutenção de uma relação alta entre as concentrações de substrato orgânico e peróxido de hidrogênio $[\text{RH}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ torna-se desprezível as grandes diferenças entre as constantes de velocidade $k_7 = 10^7 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$ e $k_2 > 10^8 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$, devido.

Uma simplificação da reação de Fenton, incluindo a dissociação da água está apresentada na equação 13:



Indicando que a presença de H^+ é requerida na decomposição de H_2O_2 , pela necessidade de um ambiente ácido para produzir a quantidade máxima de radicais hidroxilas. Em presença de substratos orgânicos (RH) o excesso de íons ferrosos e em pH baixo (< 3) os radicais hidroxilas podem adicionar aos anéis aromáticos ou heterocíclicos, assim como às ligações insaturadas dos alcanos e alquenos.



Tendo a constante de velocidade (eq. 14) equivalente a $k_7 = 3.3 \times 10^7 \text{ mol.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$. O excesso de peróxido deve ser evitado por ser esse um agente sequestrante do radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$).

A equação 14 indica que o H_2O_2 pode reagir como um radical inativador bem como um iniciador de reações de oxidação.

Os radicais hidroxilas podem oxidar compostos orgânicos (RH) por abstração de prótons produzindo radicais orgânicos ($\text{R}\cdot$), os quais são mais reativos e podem ser oxidados.



As constantes de velocidade $k_7 = 10^7 \text{ mol.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$ e $k_2 > 10^8 \text{ mol.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$ possuem grandes diferenças, que se tornam desprezíveis, em decorrência da manutenção da alta relação entre $[\text{RH}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ (VENKATADRI e PETERS, 1993, AMORIM, 2007).

A reação do radical $\cdot\text{OH}$ com compostos orgânicos leva a formação de radicais centrados no carbono, com abstração do próton H^+ das ligações C-H, N-H ou O-H, adicionando-o ao C=C como também ao anel aromático, com produção de radicais orgânicos $\text{R}\cdot$. Para AMOX, espera-se que o produto final da degradação seja CO_2 e os ânions nitrato e sulfato, se ocorrer a degradação total da molécula (Figura 14).

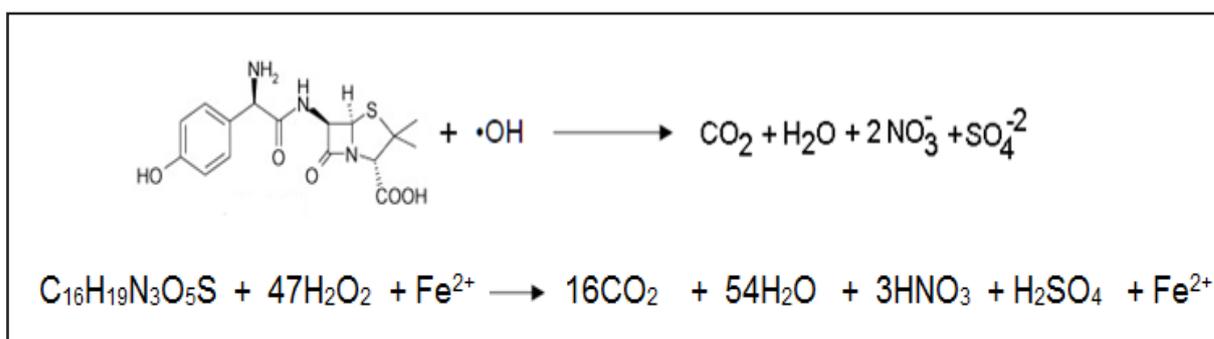


Figura 14: Reação ideal de degradação de amoxicilina

Entender a hidrólise da AMOX nos valores habituais de pH das águas superficiais (pH = 6,2) pode auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos na sua degradação. Na investigação de uma solução aquosa de AMOX (10 mg L^{-1}) por Nagele e Moritz (2005) foram identificados os produtos da hidrólise, realizada em pH = 2,5 e pH = 6,2 por cromatografia líquida com injeção por eletrospray, (LC-ESI-TOF-MS), em modo positivo (Agilent Series 1100). A reação está apresentada na figura 14. A hidrólise da AMOX inicia-se com a abertura

do anel β -lactâmico, formando o ácido penicilóico C_1 e C_2 ($m/z = 384 \text{ g mol}^{-1}$), que contém um grupo livre de ácido carboxílico. A descarboxilação deste grupo ocorre gerando dois intermediários C_3 e C_4 ($m/z = 340 \text{ g mol}^{-1}$). Esse processo leva a formação de compostos estereoisômeros, que apresentam a mesma fragmentação de íons em 2 tempos de retenção: (C_1 : $t \cong 5,56 \text{ min}$, C_2 : $t \cong 6,61 \text{ min}$). Para os segundos compostos estereoisômeros tem-se os tempos de retenção: C_3 : $t \cong 7,57 \text{ min}$ e C_4 : $t \cong 8,68 \text{ min}$. A formação destes estereoisômeros ocorre com a abertura do anel β -lactâmico de 4 membros, uma vez que o carbono entre o nitrogênio e o enxofre no anel tiazolidinico é quiral. Essa característica leva a formação de estereoisômeros durante a hidrólise, como os produtos $m/z 339$ [C_3 : ácido amoxilóico (5S) e C_4 : ácido amoxilóico (5R)] e os produtos $m/z 384$ [C_1 : ácido amoxicilóico (5S,6R) e C_2 : ácido amoxicilóico (5R,6R)]. (Figura 15, tabela 4) (NAGELE E MORITZ, 2005; KASPRYK-HORDEN, 2010; TROVÓ *et al*, 2011).

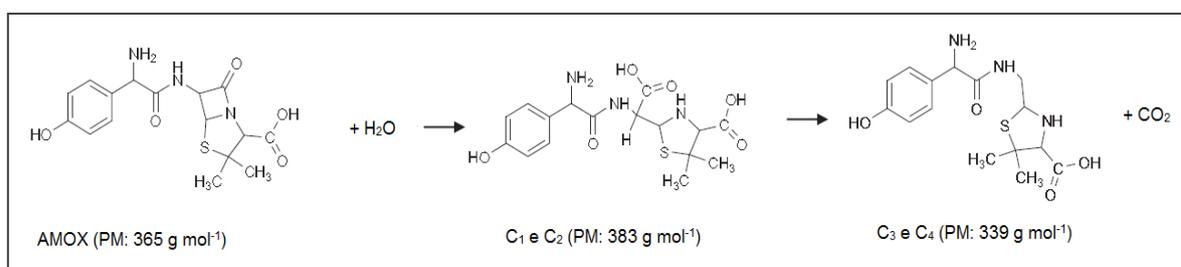


Figura 15: Reação de hidrólise da AMOX, e seus de produtos de transformação
 Fonte: NÄGELE e MORITZ (2005);TROVÓ *et al*, (2011)

3.4.2 Influência do pH na reação com reagente de Fenton

No sistema Fenton o pH do processo é importante porque a formação dos radicais $\bullet\text{OH}$ é catalisada por Fe^{2+} . A faixa de pH ótima para reação ocorre entre $3,0 \leq \text{pH} \leq 6,0$ (figura 16) (ALVES, 2004, US PEROXIDE, 2010), sendo que as variáveis dependentes do processo são o valor do pH e a concentração de Fe^{2+} .

A influência do pH na velocidade da reação definida pela constante K é função do $\text{Fe}(\text{OH})^{+2}$, que catalisa as reações de geração de radicais hidroxila. Analisando um diagrama de especiação dos íons ferro (figura 17) observa-se que em pH 3 predomina a espécie de $\text{Fe}(\text{OH})^{+2}$. Abaixo deste pH e acima de pH 5 ocorre um aumento da concentração de Fe^{3+} , que é desfavorável para a reação de Fenton. Essas espécies podem ser influenciadas pela presença de outros íons, e também pelo Eh da solução.

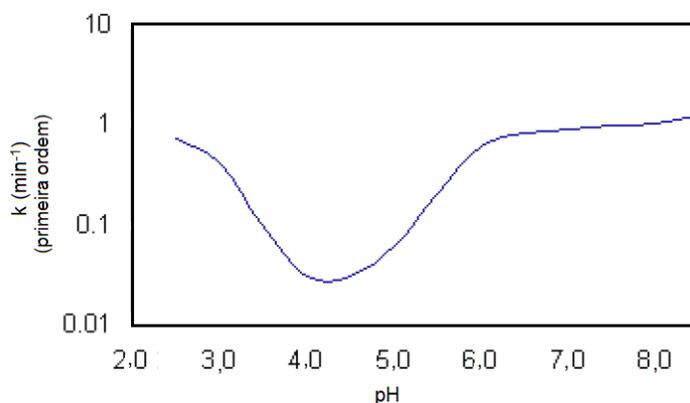


Figura 16: Efeito do pH na eficiência de remoção do reagente de Fenton
 Fonte: ALVES (2004) US Peroxide (2010)

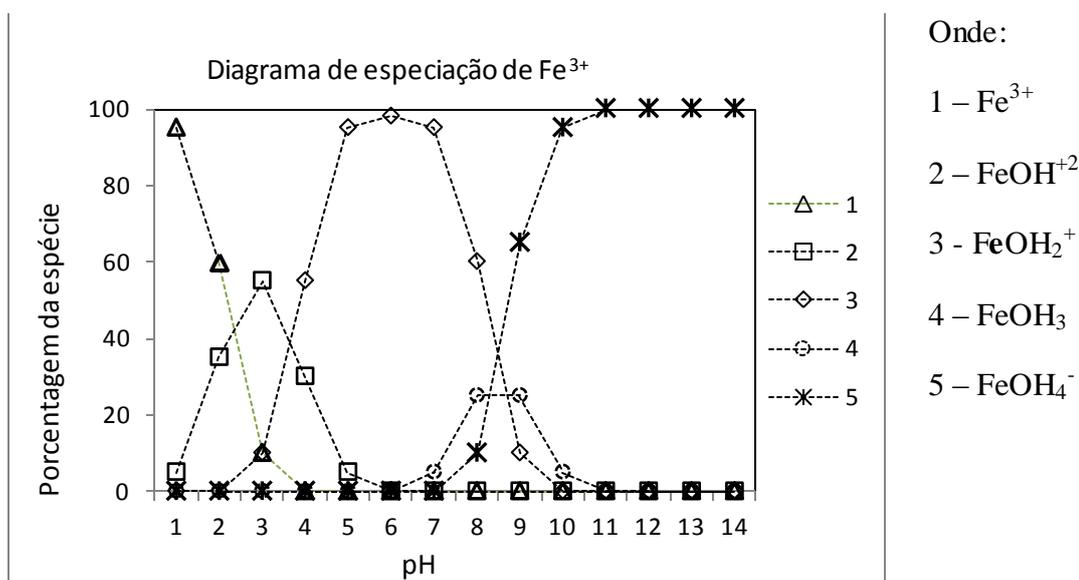


Figura 17: Diagrama de especiação de Fe^{3+}
 Fonte: KATSOYIANNIS e ZOUBOULIS, 2002

Isso é um fator limitante ao processo com Fenton, pela necessidade de ajustes no pH da solução em reação, para obter máxima eficiência do tratamento, e também a existência de uma etapa adicional de neutralização, após tratamento, e antes do descarte do efluente tratado. (SANZ, *et al.*, 2003, KATSOYIANNIS e ZOUBOULIS, 2002; NOGUEIRA *et al.*, 2007).

Os diagramas de Eh versus pH para Ferro em meio aquoso, (Figura 18) confirmam os dados do diagrama de especiação de ferro (figura 17). Os diferentes programas utilizados geraram diagramas, indicando formação de espécies de Fe^{+2} entre $2,5 \leq pH \leq 4,5$, faixa de maior eficiência, para realização dos ensaios com reagente de Fenton, o que corrobora com outras pesquisas (ALVES, 2004, AMORIM, 2007, ELMOLLA e CHAUDHURI, 2009; MORAVIA, 2010).

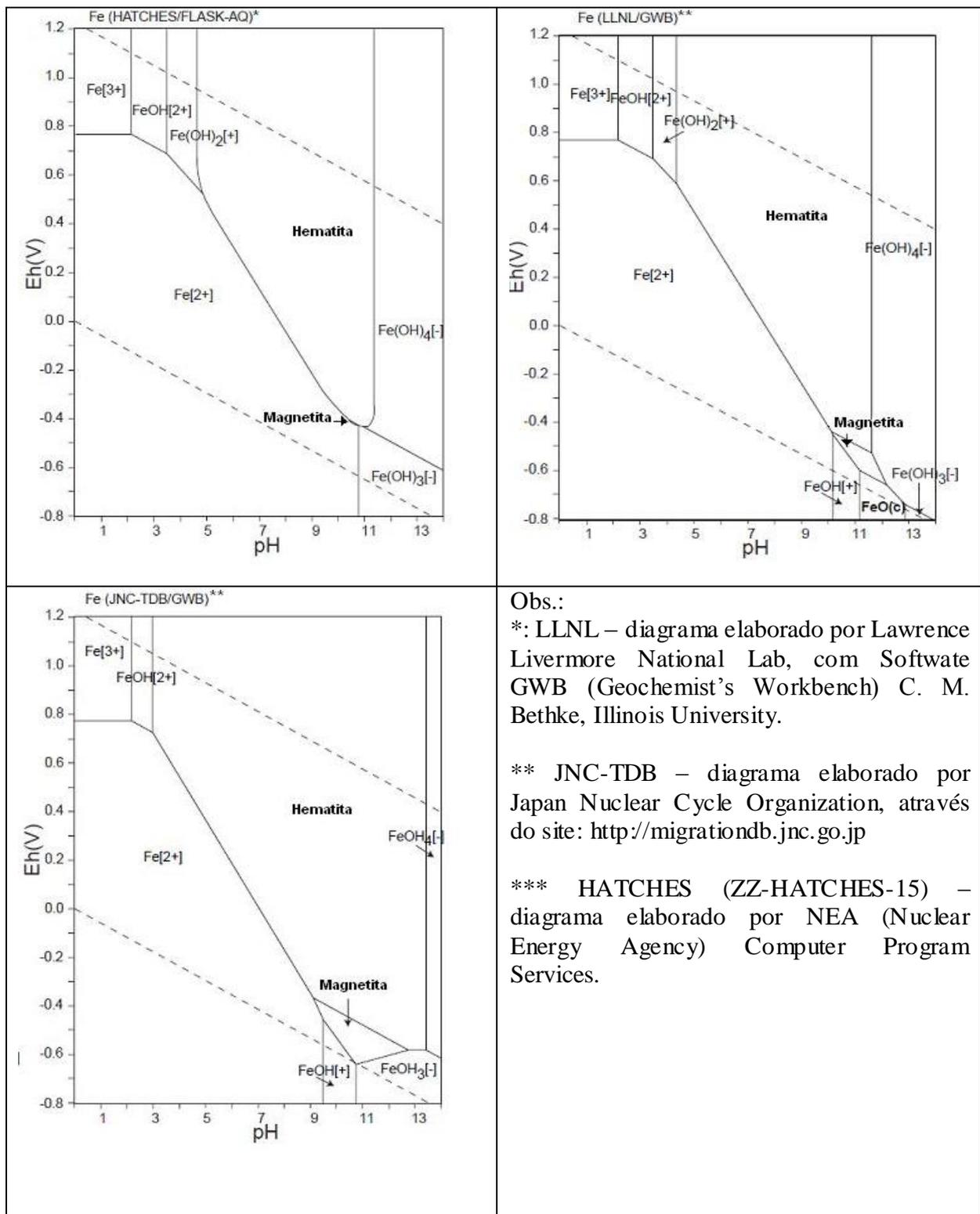


Figura 18 Diagrama Eh x pH de sistemas Fe-O-H
 Fonte: ATHAS of Eh-pH diagrams, 2005

3.4.3 Efeito da concentração de H₂O₂

A relação entre carga orgânica e concentração de peróxido de hidrogênio (C:H₂O₂) pode ser considerada crítica, porque é necessário uma degradação efetiva dos compostos orgânicos estudados, mas deve-se trabalhar buscando a operacionalidade do processo. O H₂O₂ é o insumo de maior valor nesse tipo de tratamento. A equação 16 mostra a relação estequiométrica entre matéria orgânica e o peróxido de hidrogênio, com os cálculos da relação mássica mostrada na equação 17:



$$12 \text{ mol g}^{-1} \quad 68 \text{ mol g}^{-1} \Rightarrow \text{relação: } 2H_2O_2 / C = \frac{68}{12} \approx 5,8 \quad (17)$$

Estudos realizados por Homem e colaboradores (2010) mostraram que a degradação de AMOX por reagente de Fenton foi ligeiramente melhorada com o aumento da dosagem de H₂O₂ de 0,60 mg.L⁻¹ para 2,35 mg.L⁻¹, para tratar 450 µg.L⁻¹ de AMOX (COT ≅ 200 µg.L⁻¹), a razão C/H₂O₂ utilizada teve um incremento de 3 para 12. Observou-se, também, que a performance da reação de oxidação avaliada não apresentou mudanças significativas, ao utilizar maiores concentrações de H₂O₂ (Figura 19).

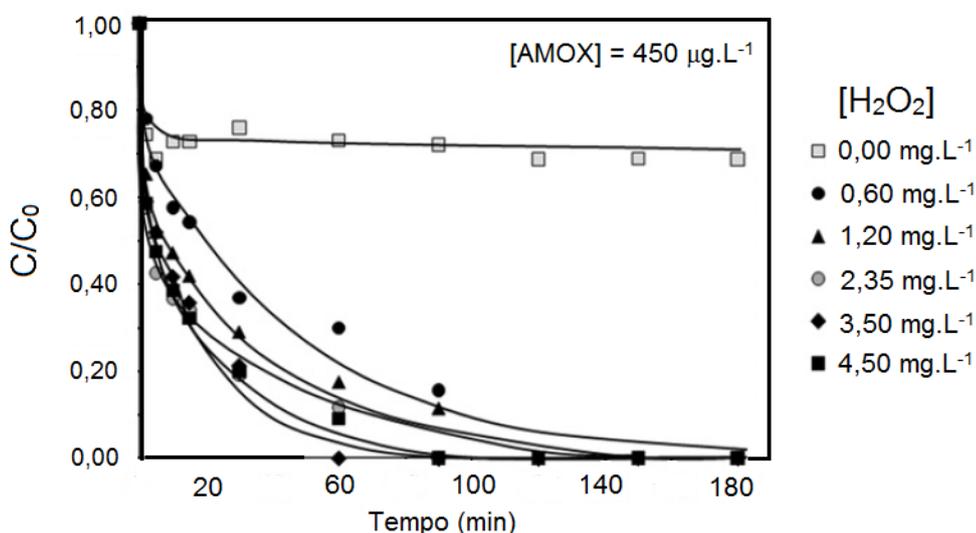


Figura 19: Influência da concentração de peróxido na degradação de AMOX, pH = 3,5, [AMOX] = 450 µg.L⁻¹, [Fe²⁺] = 95 µg.L⁻¹
Fonte: HOMEM *et al*, 2010, adaptado

3.4.4 Reagente de Fenton na degradação da Amoxicilina

Na figura 20 estão apresentadas equações que mostram adição de radicais hidroxilas ao anel heterocíclico β -lactâmico, e à amida, indicado pelos OH (em vermelho); em uma primeira rota proposta. Na segunda rota, a clivagem da molécula ocorre posteriormente à adição do radical hidroxila ao anel heterocíclico β -lactâmico (KLAUSON, 2010). Os resultados encontrados por esses pesquisadores não indicam adição ao anel aromático, podendo esse não ser degradado e permanecendo no efluente. As reações intermediárias, até obter os produtos finais, podem levar à formação de produtos de degradação tóxicos e podem possuir maior refratibilidade que o composto em estudo. (SHARMA *et al*, 2006, KLAUSON, 2010, TROVÓ, 2011).

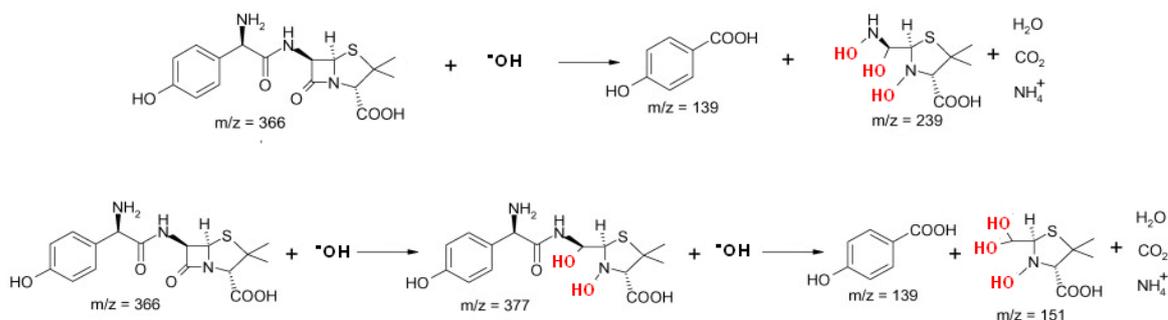


Figura 20: Reações de adição do radical OH à amoxicilina
Fonte: KLAUSON, 2010, modificado

As figuras 21 e 22 mostram o estudo de degradação de AMOX em solução aquosa, conduzido por Ay e Kargi (2010), onde investigaram as taxas de remoção para variações na relação entre oxidante e catalisador ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}:\text{COT}$). Pela análise da figura 21 verifica-se que, para a relação estequiométrica de 1:7 entre AMOX: H_2O_2 ($\text{COT}_{\text{teórico}}$ para AMOX = $27,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 192 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), obteve-se uma remoção de 30%, com a concentração de Fe^{2+} variando entre $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Avaliando-se a relação 1:14 de AMOX: H_2O_2 ($27,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AMOX: $358 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$) obteve-se uma remoção de 40%, que não pode ser considerado um aumento tão significativo, para justificar o dobro da quantidade no consumo de peróxido.

Na mesma pesquisa avaliou-se a remoção de AMOX em solução aquosa, com adição constante do catalisador ($\text{Fe}^{2+} = 40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e os resultados obtidos indicam que a melhor relação para a degradação situa-se próxima aos valores estequiométricos, com cerca de 35% de remoção de COT para a razão AMOX: H_2O_2 equivalente a 1:7 (Figura 22). Nesse mesmo estudo, a AMOX obteve valores próximos de 100% de degradação, determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Entretanto a remoção de COT ficou em

torno de 35%, indicando a formação de compostos orgânicos refratários não identificados (AY e KARGI, 2010).

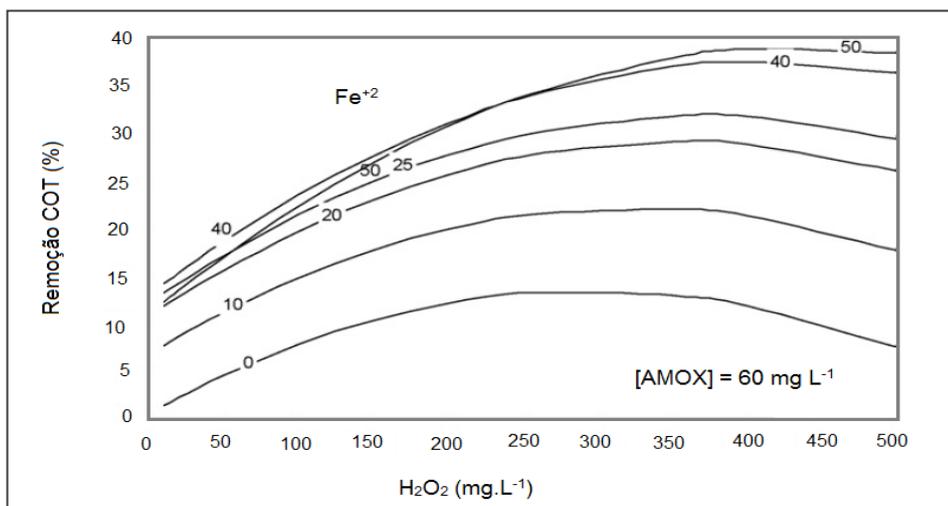


Figura 21: Degradação de Amoxicilina com Reagente de Fenton, carga orgânica e pH constante, e variações em H₂O₂ e Fe²⁺
Fonte: AY e KARGI, 2010

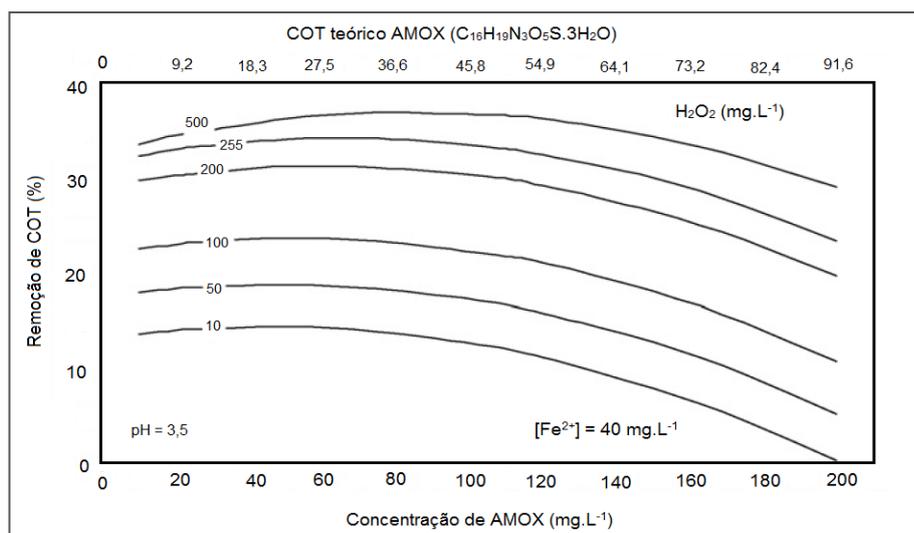


Figura 22: Taxa de remoção de AMOX, variando H₂O₂ adicionado e [Fe²⁺] constante
Fonte: AY e KARGI, 2010, adaptado

O reagente de Fenton pode ser usado para tratar efluentes de indústrias farmacêuticas assim como um micro poluição causada por resíduos de fármacos em águas superficiais. Várias pesquisas têm sido realizadas para avaliar as condições de remoção, como a realizada por Elmolla e Chaudhuri (2009) que mostrou resultados efetivos para o tratamento de solução aquosa contendo amoxicilina, ampicilina e clorocilina. A degradação completa dos antibióticos ocorreu com 2 min de reação, em pH = 3, com remoção de DQO (Demanda química de oxigênio) próxima de 81%, com 60 min de reação, e relação molar entre a carga orgânica, peróxido de hidrogênio e ferro ferroso de: DQO:H₂O₂:Fe⁺² = 1:3:0,30.

Para avaliar os efeitos de matriz de efluentes sanitários, Trovó e colaboradores (2008) coletaram amostras em uma ETE em Araraquara, SP, em outubro de 2006; e a enriqueceram com solução aquosa de AMOX e paracetamol, e concluíram que a matriz não interfere nos processos de foto-Fenton com irradiação de UV ou luz solar estudados (figura 23), obtendo coeficientes de remoção dos princípios ativos acima de 90% com 120 segundos de reação. A remoção de COT para AMOX foi de 67%, valores significativamente acima dos encontrados pelos pesquisadores Ay e Kargi (2010), que foi de 25% de remoção de COT.

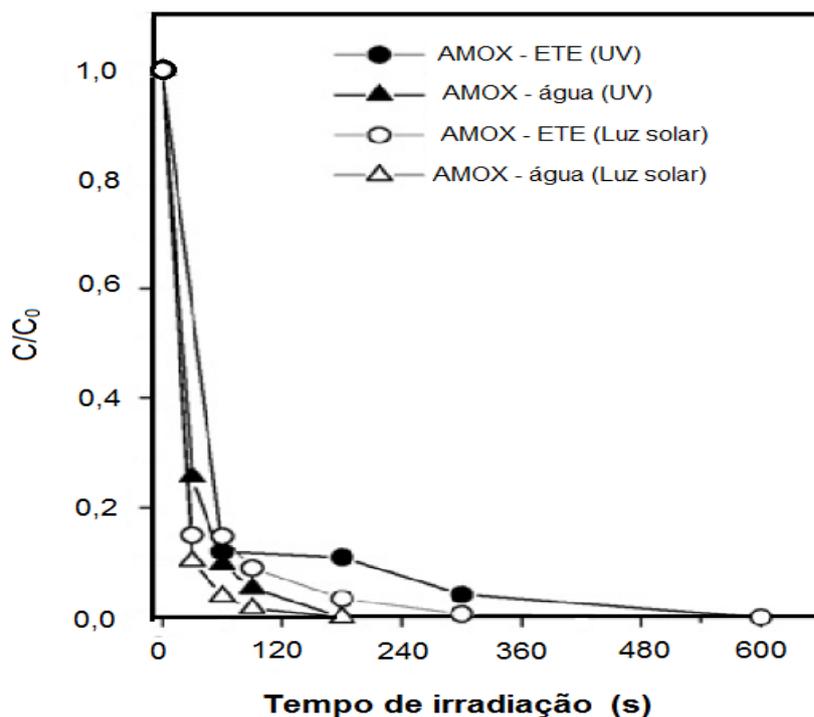


Figura 23: Influência do efeito de matriz na oxidação da Amoxicilina, por processo Foto-Fenton
Fonte: TROVÓ *et al*, 2008

Para Trovó e colaboradores (2008) os efeitos da matriz não influenciaram as reações de foto-Fenton para AMOX, apresentando eficiência de remoção semelhante tanto para AMOX em solução aquosa, como para amostras de efluente sanitário enriquecidas com AMOX (Figura 23).

A rota proposta por Trovó e colaboradores (2011) para a degradação de AMOX em solução aquosa, por foto-Fenton está apresentada na figura 24. A pesquisa não obteve mineralização completa da AMOX, obtendo 73% de remoção, quando utilizou-se, como fonte de Fe^{+2} , sulfato ferroso ($FeSO_4$). A identificação da AMOX e seus produtos de degradação foram realizadas por cromatografia líquida com injeção por eletrospray e detecção por espectrometria de massas por tempo de voo (LC-ESI-TOF-MS). Analisando a rota proposta

pode-se observar que a adição nucleofílica ou eletrofílica ao anel aromático é uma etapa bem complexa, e as reações propostas entre os reagentes oxidantes e os produtos de degradação formados indicam uma permanência no anel aromático na maioria dos compostos identificados (TROVÓ, *et al.*, 2011).

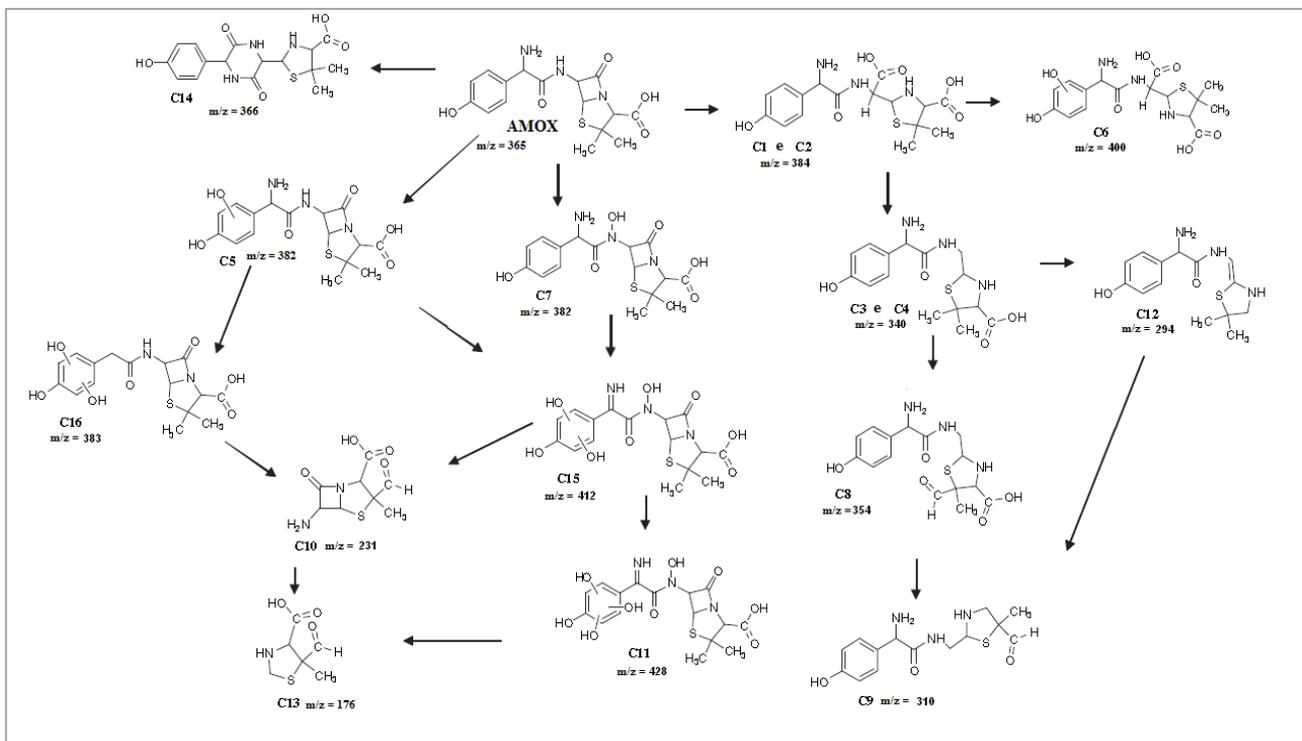


Figura 24: Mecanismo proposto para degradação de AMOX por Foto-Fenton, em pH 2,5-2,8
 Fonte: TROVÓ *et al.*, 2011

3.4.5 Investigação da sorção de amoxicilina nos hidróxidos de ferro gerados nos ensaios por POA/Fenton

A presença dos fármacos em águas é função de suas propriedades (Kow, pKa, e polaridade), que mostram tendências persistentes nas matrizes ambientais. Por causa dessas características, alguns fármacos e seus metabólitos são hábeis em passar através das ETE's, como as sulfonamidas, macrolídeos, carbamenzinas, e fenazonas. Suas baixas sorções no lodo ativado e solos podem causar contaminação das águas superficiais e subterrâneas. Entretanto, fármacos polares, como fluorquinolonas, hormônios, avermectinas, e tetraciclina podem adsorver, em lodos ou solos. Outras drogas podem biodegradar parcial ou totalmente, com a formação de metabólitos e produtos de degradação desconhecidos, que podem apresentar mais ou menos atividades que em sua forma inicial (BEAUSSE, 2004). Entretanto, fármacos básicos e com comportamento zwitteriônicos podem sorver, significativamente, no lodo, solos

ou sedimentos, como os antibióticos β -lactâmicos e fluoroquinolonas (FENT *et al.*, 2006, PETERSON *et al.*, 2009).

Entre os fatores que afetam a sorção, estão a estrutura molecular ou natureza do sorvente, a solubilidade do soluto, o pH do meio e a temperatura. A estrutura molecular ou a natureza do sorvente é particularmente importante para estabelecer o grau de sorção que pode ocorrer. O tipo e a localização dos grupos funcionais responsáveis pela sorção afetam sua adsorvibilidade. A solubilidade do soluto impede a atração para a superfície do adsorvente. Grupos polares têm uma alta afinidade com a água e isto geralmente diminui a sorção a partir de soluções aquosas. Baixos valores de pH favorecem a sorção de ácidos orgânicos enquanto que altos valores de pH favorecem a sorção de bases orgânicas (PERUZZO, 2003, VASQUES, 2008; Calgon Carbon, 2010).

Os hidróxidos de ferro possuem capacidade de sorção, que varia em função do pH. A amoxicilina possui 3 pKas ($pK_{a1} = 2,68$, $pK_{a2} = 7,49$, $pK_{a3} = 9,63$), como mostrado na figura 11. Seus pKas podem influir na sorção nos hidróxidos formados durante o processo de POA-Fenton (ANDREOZZI *et al.*, 2005; GARCIA-GALÁN, *et al.*, 2008). Torna-se necessário avaliar a sorção da AMOX e seus produtos de degradação nesses hidróxidos para elucidar os caminhos em que a degradação ocorreu.

3.4.5.1 Sorção de Fármacos

É crescente a preocupação com a presença de fármacos no ambiente. O desenvolvimento de novas drogas é ascendente, levando a um aumento das opções de tratamento humano e animal, o que conseqüentemente aumenta a presença desses no meio ambiente. Os fármacos, em suas formas originais ou metabolizadas, são eliminados parcialmente nas ETEs e ETEIs e entram nos diversos compartimentos ambientais. (BEAUSSE, 2004). A sorção é um mecanismo determinante da biodisponibilidade, reatividade e mobilidade dos compostos orgânicos no meio ambiente, tornando necessário compreender as interações dos fármacos com solos, sedimentos e partículas aquáticas para montar um prognóstico de sorção desses compostos. Sua sorção e mobilidade podem ser afetadas pela natureza dos solos e sedimentos (FIGUEROA, 2004)

Como a AMOX possui características zwitterônicas (por ter grupos funcionais tanto aniônicos como catiônicos), a pesquisa conduzida por Willians e colaboradores (2009), com diferentes solos e sedimentos, indicaram uma faixa de sorção entre 15 a 600 $g.kg^{-1}$. Essa característica

pode ser um importante fator para o alto grau de sorção encontrado. A AMOX pode adquirir cargas elétricas devido à ionização de grupos carboxila e amino, formando íons COO^- e NH_3^+ , respectivamente. A carga elétrica total, obtida em decorrência da ionização desses grupos, é depende do pH da solução. Essa ionização pode levar à sorção de AMOX nas lamelas decorrentes do processo de POA, assim como em solos e em biomassa ativa em estações de tratamento de efluentes, tanto industrial como doméstico.

Existem muitos estudos de adsorção para tetraciclina (TETRA), e como TETRA e AMOX possuem grupos funcionais e valores de pK_a semelhantes, fez-se um paralelo entre sorção de TETRA e a possibilidade de sorção de AMOX, em decorrência de suas características zwitterionicas. Os valores de pK_a para TETRA são: $\text{pK}_{a1} = 3,30$; $\text{pK}_{a2} = 7,68$; e $\text{pK}_{a3} = 9,69$ (Figura 25), semelhantes aos apresentados por AMOX: $\text{pK}_{a1} = 2,68$, $\text{pK}_{a2} = 7,49$, $\text{pK}_{a3} = 9,63$ (Figura 12). Os grupos funcionais NH_2 e OH estão presentes na estrutura molecular de ambos (Figura 26).

A química da TETRA sugere que a troca catiônica, com componentes dos solos e sedimentos argilosos, é um importante mecanismo de sorção desse antibiótico. Além disso, uma vez que encontram-se carregados, positivamente, em soluções fortemente ácidas, e, em condições alcalinas tornam-se aniônicos. As espécies catiônicas podem neutralizar sítios de cargas negativas sob condições ácidas (alta sorção), mas podem apresentar características de repulsão a superfícies argilosas em valores altos de pH (FIGUEROA, 2004; XU, 2010). Na pesquisa conduzida por Figueroa-Diva *et al* (2010) encontrou-se, para tetraciclina, fluoroquinolona, e sulfonamida, interação com os solos através da troca catiônica, complexação superficial, e interações de ligações de cátions, semelhantes ao comportamento de sorção.

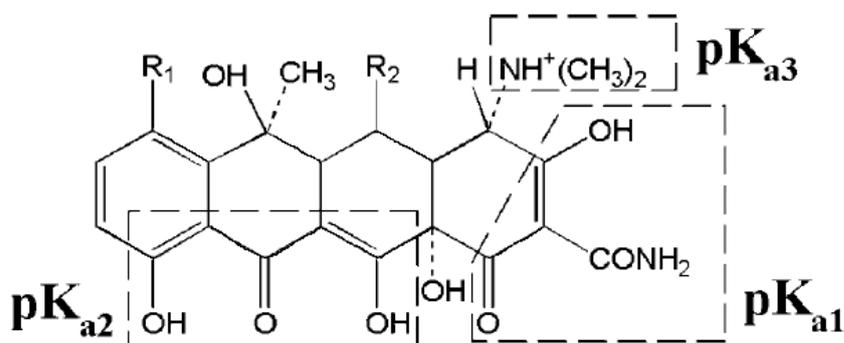


Figura 25: Estrutura química da família de tetracilinas, com os pK_a indicados.
 Fonte: Figueroa, 2004, Figueroa-Diva *et al*, 2010

Na figura 26 estão apresentadas as estruturas químicas da tetraciclina e amoxicilina, com seus grupos funcionais semelhantes assinalados.

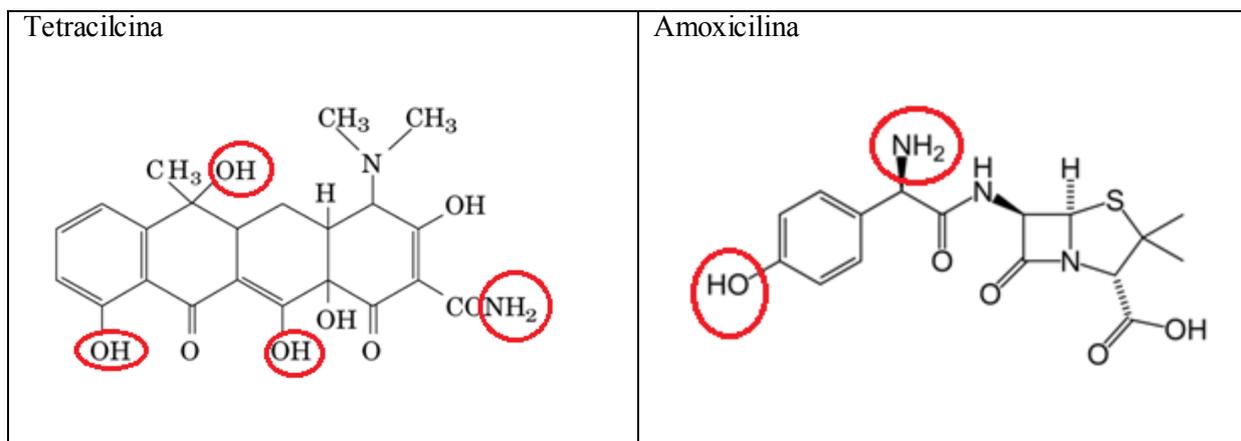


Figura 26: Estrutura química da amoxicilina e tetraciclina
Fonte: PubChem, 2010, adaptado

O mecanismo de sorção apresenta alta variabilidade em relação aos tipos de fármacos e aos tipos de solos ou sedimentos existentes. A natureza das forças iônicas e o pH podem afetar o mecanismos de sorção. As propriedades físico-químicas dos solos e sedimentos, assim como a fonte dos carbonos orgânicos e as características das cargas superficiais influem na sorção de compostos orgânicos. Um estudo de sorção de AMOX em lodo ativado esterilizado mostrou uma afinidade relativamente alta da AMOX com a fase sólida. A sorção de compostos zwitteriônicos possui maior número de variáveis, como as interações iônicas das espécies catiônicas e aniônicas, e a sorção da espécie zwitteriônica eletricamente neutra. As características zwitteriônica da AMOX podem ser um fator importante de seu alto grau de sorção, característica encontrada em outras drogas zwitteriônicas, como a norfloxicina, tetraciclina, fluoroquinolonas e cefapirina (PETERSON *et al.* 2009; WILLIAMS *et al.*, 2009).

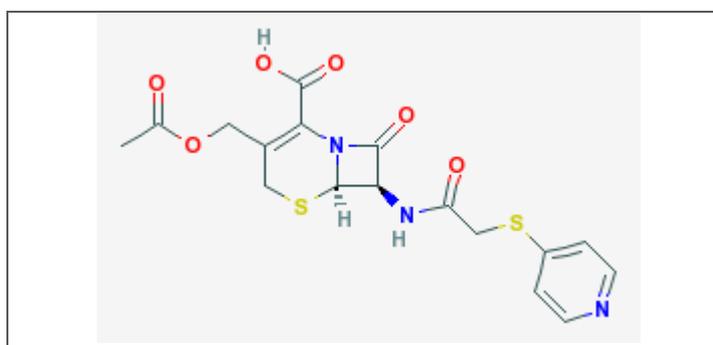


Figura 27: Estrutura química do antibiótico cefapirina
Fonte: PubChem, 2010, adaptado

A espectroscopia Raman identificou os mecanismos de sorção de cefapirina (Figura 27) em quartzo (SiO_2) e feldspato (KAlSi_3O_8). A cefapirina possui 2 pKas ($\text{pK}_{a1} = 2,15$ e $\text{pK}_{a2} = 5,44$), características zwitteriônicas, o que levam-na a sorver na superfície de minerais, como o quartzo pela atração eletrostática do grupo aniônico carboxilato (COO^-) em valores de pH baixos (PETERSON *et al.* 2009).

3.5 Metodologias analíticas

Para o acompanhamento dos processos investigados utilizou-se diferentes técnicas analíticas, e seus princípios analíticos estão apresentados a seguir.

3.5.1 Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray

A Espectrometria de Massas (MS – Mass Spectrometry) possibilita a identificação e também a quantificação de substâncias orgânicas ou inorgânicas. Tem sido muito utilizada para a elucidação de estruturas moleculares. É uma técnica analítica que apresenta especificidade, sensibilidade e limites de detecção bem baixos (SKOOG, HOLLER, e NIEMAN, 2002).

Com a adição de carga nas espécies em análise, formando íons, esta passa a ser afetada por campos elétricos, o que possibilita sua separação, pela razão massa/carga (m/z) de cada composto ou fragmento. A região onde a separação ocorre está contida em alto vácuo (10^{-6} a 10^{-11} Torr). Existem diferentes sistemas de detecção, como analisadores do tipo quadrupolos (Q), armadilha de íons (Ion Trap), tempo de voo (TOF – Time of Flight), setor elétrico (E) e setor magnético (B) e configurações híbridas (como Q-TOF).

- Processo Electrospray

A fonte de ionização é um dispositivo que permite a ocorrência do processo de ionização dos analitos da amostra, antes da sua entrada no detector de massas. A ionização do analito pode ocorrer por ejeção ou captura de elétrons, protonação, desprotonação, formação de adutos ou transferência de espécies carregadas da fase condensada para a fase gasosa.

O processo por eletrospray ESI (Electrospray Ionisation) ioniza as amostras não voláteis, formando uma névoa ionizada denominada eletrospray, antes da sua determinação por MS. Essa ionização é obtida aplicando um campo elétrico intenso ao líquido de interesse, que é bombeado através de um tubo capilar (fluxo entre 1 e 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$), em pressão atmosférica, através de uma diferença de potencial de 3 a 6 kV entre o capilar com a amostra e um contra-eletrodo. Aplicando-se potencial positivo no tubo capilar, os íons positivos tenderão a se

afastar para uma região menos positiva, isto é, em direção ao contra-eletródo (negativo), formando uma gota enriquecida de íons positivos. Ao aumentar a densidade de carga na gota, o campo elétrico formado entre o capilar e o contra-eletródo provoca a deformação da gota, formando um cone, denominado de cone de Taylor (Figura 28). Esse cone conserva-se junto ao capilar até que a repulsão entre os íons de mesma carga supere a tensão superficial do líquido, levando a liberação de pequenas gotas com alta densidade de carga. As gotas desprendidas da ponta do capilar passam por um processo de dessolvatação, na medida em que atravessam a região de gradiente de pressão em direção ao espectrômetro de massas. Esta evaporação é facilitada pela energia térmica do ambiente (capilar aquecido) ou pelo uso de um gás inerte secante (N_2). Durante este percurso, entre a ponta do capilar e o analisador de massas, ocorre a transferência dos íons positivos da fase condensada para a fase gasosa, gerando assim os íons gasosos (DÁMAZIO, 2007).

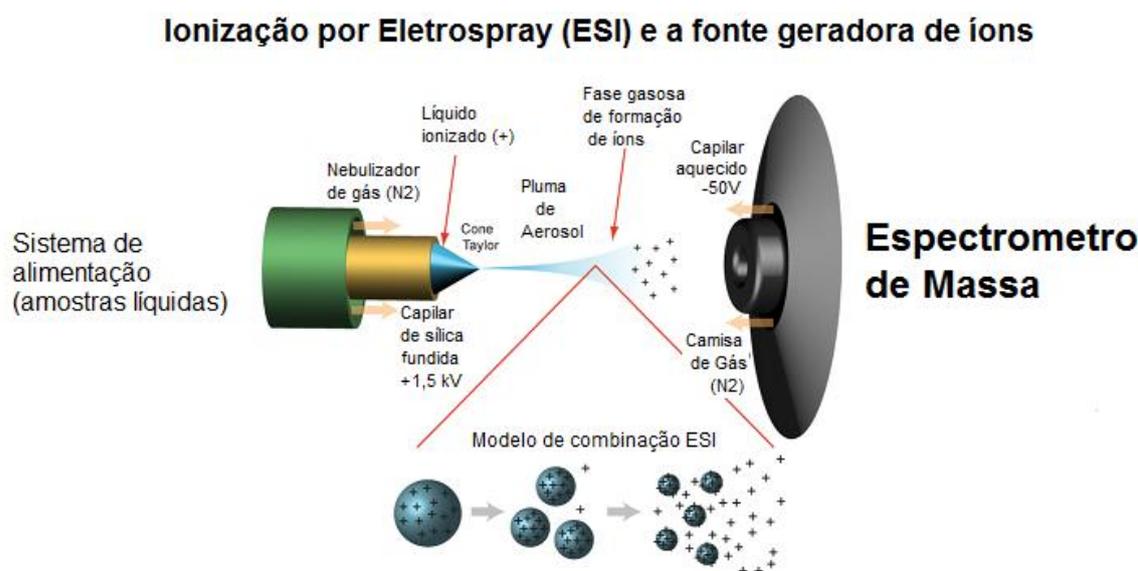


Figura 28 Esquema do Cone de Taylor, responsável pela introdução das amostras no MS
Fonte: Lamondlab, 2011, adaptado

O processo electrospray possui a habilidade em produzir íons multiplamente carregados a partir de grandes moléculas com vários sítios ionizáveis. Isso resulta na transferência do analito, geralmente ionizado na fase condensada, para a fase gasosa. As espécies iônicas observadas podem ser protonadas $[M+nH]^{n+}$, desprotonadas $[M-nH]^{n-}$, cationizadas, como $[M+Na]^+$, ou anionizadas, como $[M+Cl]^-$, além de possíveis *clusters* com moléculas do solvente, por exemplo $[M+nMeOH+H]^+$. Os líquidos de arraste devem ser iônicos, como metanol (CH_3OH) (DÁMAZIO, 2007).

3.5.2 Carbono Orgânico Total e Nitrogênio Total

O carbono orgânico em efluentes é constituído de uma ampla gama de compostos orgânicos com estados de oxidação diversos. Os métodos de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO) podem ser usados para caracterizar as frações dos compostos de carbono passíveis de oxidação por processos biológicos ou químicos. COT é independente do estado de oxidação dos compostos orgânicos, não medindo outros compostos passíveis de serem oxidados, como os compostos de nitrogênio, enxofre, ferro, e manganês, os quais podem contribuir para a demanda de oxigênio nas determinações de DBO e DQO. Esse determina a quantidade de carbono total (CT) e inorgânico (CI_{inorg}) existente numa amostra líquida, sem separar a matéria biodegradável da não-biodegradável.

O carbono orgânico total (COT) é obtido pela diferença entre o CT e o CI. O CT é determinado após a injeção de uma microporção homogeneizada de amostra em um forno (680 °C) contendo um catalisador. A água é vaporizada e o carbono da amostra é oxidado a CO_2 , sendo quantificado por absorção no infravermelho não-dispersivo. Para a determinação de CI_{inorg} (ΣCO_3^{2-} , HCO_3^- , CO) é adicionado ácido fosfórico (H_3PO_4) à amostra para converter os carbonos inorgânicos a CO_2 , sendo esse analisado da mesma forma descrita anteriormente. Para determinar a quantidade de carbono organicamente ligado, as moléculas orgânicas devem ser quebradas e convertidas à forma molecular simples que pode ser medida quantitativamente. O método utilizado para a determinação de COT trabalha em altas temperaturas, com catalisadores no processo e fluxo de oxigênio. O CO_2 gerado é purgado da amostra, seco e carregado com um gás de arraste até um analisador (APHA-AWWA, 2005).

3.5.3 Espectroscopia por Raman

A espectroscopia micro-Raman caracteriza e identifica os minerais e compostos através do espalhamento de luz. A luz de um laser incide na amostra e a luz espalhada é analisada por uma rede de difração, que detecta a presença de fótons de outro comprimento de onda (diferente do laser incidente). A diferença de energia do fóton incidente e espalhado está relacionada aos modos normais da vibração de moléculas ou da rede cristalina do material. O espectro Raman fornece informações sobre os modos de vibração de um material; como diferentes materiais apresentam estruturas atômicas diferentes, e como cada material apresenta um conjunto de modos de vibração específico (SKOOG, HOLLER, e NIEMAN, 2002).

Os espectros Raman podem auxiliar na identificação de AMOX ou fragmentos da molécula adsorvidas na superfície dos hidróxidos de ferro formados. A investigação da ocorrência de adsorção durante a condução do POA possibilita entender os caminhos da degradação, além de indicar destinação ambiental correta a essa lama.

A figura 29 traz uma estrutura molecular da AMOX com os átomos numerados para identificação das vibrações promovidas pela incidência de luz Laser sobre a amostra, para auxiliar na identificação das bandas de absorção pela espectroscopia Raman.

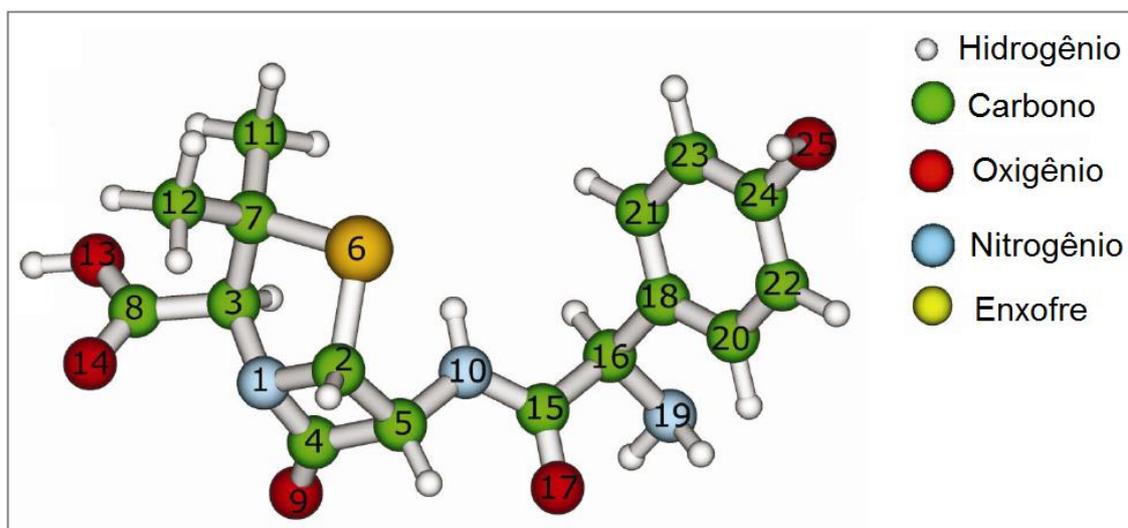


Figura 29: Molécula de AMOX com átomos numerados, para identificação das bandas de absorção na espectroscopia Raman
Fonte: BEBU *et al.*, 2010

4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste item estão descritos os procedimentos para os ensaios de degradação por POA com reagente de Fenton, bem como os utilizados na biodegradabilidade aeróbia. Os materiais e métodos analíticos não especificados no item 4.1, foram descritos junto a etapa dos processos investigados.

A parte experimental deste projeto foi desenvolvida durante os anos de 2010 e 2011 nos Laboratórios do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) EEUFMG. As determinações analíticas foram realizadas em Laboratórios pertencentes aos Departamentos de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA); Engenharia Metalúrgica e de Materiais (DEMET) e Química (DQ) do Instituto de Ciências Exatas da UFMG.

Os efluentes foram coletados e identificados pela equipe de Meio Ambiente da indústria geradora, transportados sob refrigeração, e entregues nos Laboratórios do DESA, onde foram armazenados em Câmara Fria, $T \cong 3,5^{\circ}\text{C}$.

Teve-se, como meta, reduzir ao máximo a geração de resíduos, buscando trabalhar com racionalização no consumo dos reagentes, além de substituição de reagentes muito tóxicos, por reagentes com menor toxicidade. Os ensaios foram realizados em menor escala, visando a redução do consumo de reagentes. Todos os resíduos gerados foram segregados, para destinação adequada, ao final da pesquisa.

4.1 *Materiais e reagentes utilizados na pesquisa*

- Água ultrapura, gerada por osmose reversa, com o equipamento Purificador de Água de Osmose Reversa Biothec, modelo BT 701CO; condutividade elétrica = $0,02 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$;
- Aspirador cirúrgico, modelo MA 156, Fanen, potência 550W;
- Balança analítica, modelo AY 220, Shimadzu, com capacidade máxima 220g
- Banho-Maria, modelo MA 156, Marconi;
- Espectrofotômetro UV/VIS Lambda KLS Perkin Elmer, equipado com célula de quartzo (10 mm de caminho ótico);
- Condutivímetro medidor portátil de EC/TDS/NaCl/ $^{\circ}\text{C}$, modelo HI9835, Hanna Instruments;
- Cromatógrafo Líquido ICS1000 Dionex, coluna IonPac AS 22, 2 mm x 250 mm, com separação via troca iônica e detecção condutimétrica com supressão iônica. Eluição

isocrática (fluxo = 0,25 mL.min.L⁻¹), eluente: solução de NaHCO₃ 0,8 mmol.L⁻¹ e Na₂CO₃ 4,5 mmol.L⁻¹;

- Filtro analítico AP40 em microfibras de vidro, isento de resina, diâmetro 47 mm (porosidade 0,45 µm), Millipore;
- Medidor de Potencial Redox, Metrohm, modelo 713 pHmeter, com eletrodo de EH PT/- faixa de temperatura para trabalho: T = 5° a 80°C em solução de KCl 3 mol.L⁻¹;
- Sistema de *Jar Test*, modelo: FlocControl II, PoliControl;
- Ultrassom, Super RK 103H, Bandelim Sonoplex;
- Unidade Filtrante descartável, PVDF, com porosidade 0,45 µm, diâmetro 33 mm, estéril, Millipore;
- Vidrarias usuais de laboratório.

Os equipamentos específicos, utilizados no controle dos processos investigados, caracterização dos efluentes e determinação da amoxicilina estão especificados no junto aos processos.

Na tabela 5 estão listados os reagentes utilizados na pesquisa, seus fornecedores e grau de pureza.

4.2 Caracterização do efluente industrial e do princípio ativo amoxicilina, preparo das soluções aquosas de amoxicilina

4.2.1 Caracterização do efluente industrial:

Os efluentes foram coletados após a produção em batelada do medicamento amoxicilina, no sistema de tratamento da empresa representado pelo fluxograma da figura 30, onde os pontos assinalados indicam os locais de coleta. O ponto P1 é o efluente bruto, P2 indica o efluente após hidrólise alcalina, e P3 é gerado após acidificação com HCl. Os ensaios de POA foram realizados com os efluentes de P1 e P3, e os reatores da biodegradabilidade foram alimentados com P1, porque é o efluente bruto, antes de ser submetido a processos físico-químicos de tratamento. Não foram realizados ensaios com P2 porque esse não é descartado do processo de tratamento. As coletas foram realizadas pela empresa, nas datas especificadas, recebendo as seguintes denominações:

- Efluente 1: E1, em julho de 2010
- Efluente 2: E2, em setembro de 2010
- Efluente 3: E3, em outubro de 2010

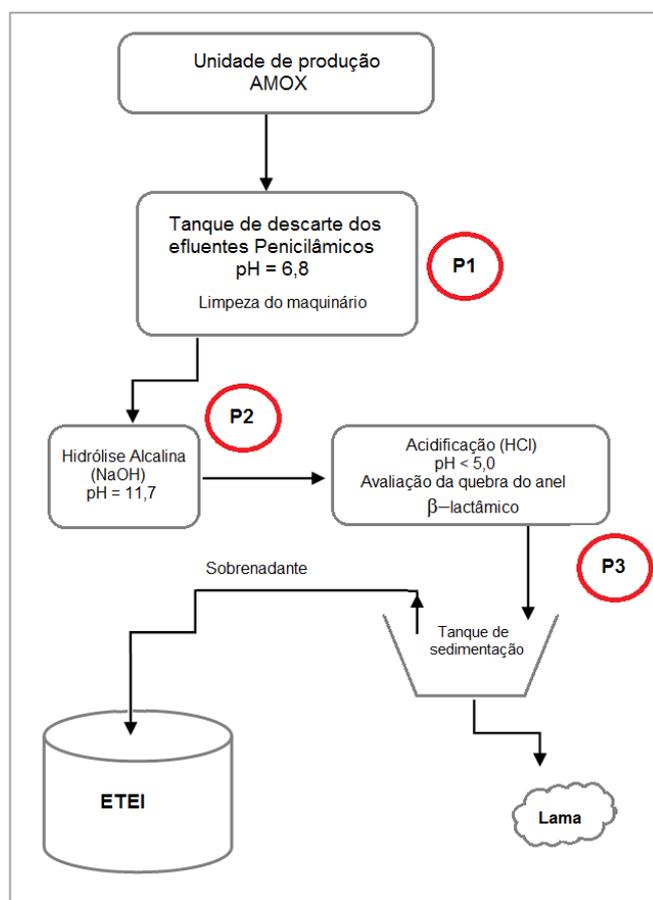


Figura 30: Fluxograma do processo de tratamento, com os pontos de coleta das amostras

A empresa farmacêutica estudada, localizada na grande BH, MG possui uma linha de produção exclusiva para esse medicamento, tornando possível a coleta de amostras contendo apenas o princípio ativo da AMOX. Essa indústria trata os efluentes gerados na linha de produção de penicilâmicos por processos físico-químicos, alterando bruscamente o pH. Isso leva à hidrólise do anel β -lactâmico, que é um indicativo da perda da atividade microbiana. É um processo sequencial, realizado em batelada, com o tratamento de todo o efluente em cada etapa do processo. Os pontos de coleta, identificados na figura 30, receberam a seguinte denominação (Tabela 6):

Tabela 5: Identificação dos pontos de coleta dos efluentes

Ponto de Coleta	Efluente E
Ponto 1 – P1	Etapa 1 - Penicilato não tratado
Ponto 2 – P2	Etapa 2 - Penicilato + NaOH
Ponto 3 – P3	Etapa 3 - Penicilato + HCl
Ponto 4 – P4	Etapa 4 - Após quebra do anel

O ponto 4 é o efluente final, onde identifica-se a presença ou ausência do anel β -lactâmico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com limite de detecção de $1,00 \text{ mg.L}^{-1}$ para AMOX, antes do lançamento do efluente na ETEI, para posterior lançamento no curso d'água, próximo à indústria.

Tabela 6: Reagentes utilizados na pesquisa

Reagente	Fórmula Química	Fabricante	Teor mínimo
Ácido Clorídrico p.a	HCl	Quimex	37%
Ácido Nítrico p.a.	HNO ₃	Quimex	65%
Ácido Sulfúrico p.a.	H ₂ SO ₄	Quimex	98%
Ácido Sulfúrico p.a.	H ₂ SO ₄	Merck	98%
Amido solúvel p.a.		Merck	99,6%
Amoxil	Fármaco a base de amoxicilina	GlaxoSmithKline de México S.A	
Bicarbonato de sódio p.a.	NaHCO ₃	Nascalai	99,5%
Bicarbonato de sódio p.a.	NaHCO ₃	Merck	99,5%
Carbonato de sódio p.a.	Na ₂ CO ₃	Nascalai	99,9%
Carbonato de sódio p.a.	Na ₂ CO ₃	Merck	99,9%
Catalase bovina	Albumin Bovine Serum	Sigma Aldrich	
Cloreto de amônio p. a	NH ₄ Cl	Vetec	99,5%
Cloreto de cálcio p. a	CaCl ₂	Vetec	96%
Cloreto de ferro hexahidratado p.a.,	FeCl ₃ .6H ₂ O	Synth	97%
Clorofórmio grau HPLC	CHCl ₃	JT Baker	99%
Dicromato de potássio p. a.,	K ₂ Cr ₂ O ₂	Synth	99%
Di-hidrogênio Fosfato de potássio p. a.	KHPO ₄	QM	98%
Glicose D(+) anidra p. a.		Vetec	
Hidrogênio Fosfato de potássio p. a.	K ₂ HPO ₄	Nuclear	99,5%
Hidrogênio Fosfato de sódio p. a.	Na ₂ HPO ₄	Nuclear	98%
Hidrogenofteralato de potássio p. a.	C ₆ H ₄ (COOK)(COOH)	Nascalai	
Hidróxido de sódio, p.a	NaOH	QM	97%
Iodeto de potássio p.a	KI	Nuclear	99%
Metanol grau HPLC	CH ₃ OH	JT Baker	100%
Nitrato de potássio p. a.	KNO ₃	Wako	99%
Peróxido de hidrogênio p. a	H ₂ O ₂	Vetec	30%
Sulfato de manganês p. a	MnSO ₄	Vetec	98%
Sulfito de sódio p.a.	Na ₂ SO ₃	QM	95%
Tiosulfato de sódio p. a.	Na ₂ S ₂ O ₃	Nuclear	99,5%

A determinação de pH, potencial redox, condutividade, alcalinidade, COT (carbono orgânico total), COD (carbono orgânico total dissolvido), CT (carbono total), NT (nitrogênio total) NTD (nitrogênio total dissolvido), nitrogênio amoniacal, nitrato, nitrito e sulfato foram realizadas pelas metodologias estabelecidas pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

4.2.2 Preparo da solução aquosa de Amoxicilina

A amostra do princípio ativo amoxicilina (AMOX), grau farmacêutico, foi dissolvida em água ultra-pura e em solução de HCl (pH \cong 3,0), sob agitação manual, em temperatura ambiente, nas concentrações de 1,0 g.L⁻¹ e 0,5 g.L⁻¹. As faixas de concentrações foram escolhidas acima dos valores encontrados nos efluentes da indústria estudada para possibilitar a quantificação da degradação por COT, evitando assim determinações analíticas na faixa limite das curvas calibração analíticas. Essas soluções foram utilizadas nos os ensaios por POA com reagente de Fenton; nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia da AMOX e para enriquecer o efluente E2, investigado nas 2 (duas) baterias dos testes de biodegradabilidade.

4.2.3 Caracterização do princípio ativo amoxicilina (AMOX)

A amoxicilina (AMOX) é o princípio ativo farmacêutico (PAF) utilizado para a formulação de antibióticos. A empresa farmacêutica estudada, localizada na grande BH, MG possui uma linha de produção exclusiva para esse medicamento, e utiliza AMOX fabricado por ZHUHAI United Laboratories Co. LTD. (certificado nº 190417009 de 15/04/2009), com identificação por espectrometria de Infravermelho, apresentando hidratação de 13,1%. Para ter a garantia que o reagente utilizado era amoxicilina, caracterizou-o, fazendo a determinação elementar por CHN – carbono, hidrogênio e nitrogênio. Para verificar a estrutura química, fez-se a determinação de RMN – Ressonância Magnética Nuclear. A utilização de uma única metodologia não é suficiente para garantir a identificação de compostos orgânicos, por essa razão utilizou-se essas duas técnicas.

- **Análise elementar por CHN**

Ensaio realizado em Analisador CHN Perkin-Elmer, no Laboratório de Análise Elementar, DQ/UFMG. Com essa metodologia foram determinadas as concentrações de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) na amostra sólida de AMOX utilizada na pesquisa, e comparado com os valores estequiométricos teóricos.

- Espectrometria RMN - Ressonância Magnética Nuclear. Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear, fabricante: Bruker. Modelo DRX - 400 (400MHz) e DPX - 200 (200 MHz) utilizando D₂O (água deuterada como solvente). Correlacionando os valores dos picos do espectro de RMN ¹H padrão para amoxicilina com os valores obtidos para a amostra, podem-se identificar similaridades, e assim, confirmar a estrutura do reagente.

4.3 Determinação da biodegradabilidade aeróbia

O teste de biodegradabilidade, dos efluentes da unidade de penicilâmico e da solução aquosa de amoxicilina, foram conduzidos com inóculos oriundos de duas fontes: ETEI (Estação de Tratamento de Efluentes Industriais) e ETE (Estação de Tratamento de Esgotos). Os inóculos não passaram pelo processo de adaptação com o efluente ou solução de AMOX, porque esse estudo procurou avaliar as condições de lançamento em condições reais, onde os inóculos não são submetidos a etapas de adaptação a todos os compostos, como na pesquisa conduzida por Alexy e colaboradores (2004).

Os ensaios seguiram o procedimento descrito por Zahn-Wellens (Diretiva 67/548/CE, OCDE, 1998; EPA 712-C-98-084). É um método padronizado, para avaliar a biodegradabilidade de contaminantes não voláteis, solúveis em água, quando expostos a uma concentração relativamente alta de microrganismos (AMARAL, 2009; MASCOLO *et al.*, 2010).

Os ensaios foram realizados sequencialmente, entre out/2010 a jan/2011. Na primeira bateria de ensaios adicionou o inóculo de origem industrial, sendo denominada 1º Bio, e os ensaios com o inóculo da ETE recebeu o código de 2º Bio.

4.3.1 Origem do inóculo (lodo biológico)

- **Fonte 1:** ETEI de uma indústria farmacêutica (oeste de MG), coletada em 12/10/2010, e mantida em banho de gelo até sua utilização, em 13/10/2010. Essa empresa trata todo o efluente gerado nas várias linhas de produção por processo físico-químico, seguido de tratamento por lodos ativados. Esse inóculo processa uma diversidade de fármacos, com carga orgânica diversificada e grande variabilidade, apesar de não produzir antibióticos penicilâmicos.
- **Fonte 2:** ETE de tratamento de efluente sanitário, em Belo Horizonte, MG (coletado em 24/11/2010), que utiliza tratamento por lodos ativados. Esse inóculo não possui aclimação

com cargas expressivas de fármacos, por processar efluente sanitário doméstico. Entretanto recebe, constantemente, um aporte de diferentes princípios ativos de medicamentos utilizados pela população em geral; e lançados na rede coletora de efluentes sanitários.

Como os antibióticos são sintetizados com o objetivo de causarem efeitos adversos aos microrganismos, é um fator importante para o teste de biodegradabilidade o impacto dessas substâncias à população bacteriana presente nos inóculos (ALEXY *et al.*, 2004).

4.3.1.1 Procedimento de coleta e processamento dos 2 inóculos

O ponto de coleta foi na descarga do tanque de tratamento por lodos ativados nas duas ETE's, após abertura do sistema e liberação do material retido na tubulação. Os inóculos foram lavados com água ultra-pura, para remoção da matéria orgânica aderida, deixados em repouso para sedimentação. Dessa fração concentrada foram retiradas alíquotas para adicionar aos reatores dos testes de biodegradabilidade aeróbia. A determinação de Sólidos Suspensos Totais (SST) e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) foi realizada de acordo metodologia 2540, do *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*, 21st, (AWWA, APHA, 2005), para estabelecer a quantidade de inóculo adicionado aos reatores.

4.3.2 Preparo da solução de nutrientes minerais

O preparo da solução de nutrientes foi realizado de acordo com Diretiva 67/548/CE, OCDE, 1998; EPA 712-C-98-084 (Zahn-Wellens Test), com detalhamento na tabela 7.

Preparação do meio mineral:

Misturar 10 mL da solução (A) com 800 mL de água ultra-pura, e adicionar 1 mL das soluções (B), (C), e (D), em um balão volumétrico de 1000 mL (Tabela 7). Completar o volume e homogeneizar.

Tabela 7: Solução estoque do meio mineral

Reagentes	Fórmula Química	Massa
Solução A		
Di-hidrogênio Fosfato de potássio	KH_2PO_4	8,5 g
Hidrogênio Fosfato de potássio	K_2HPO_4	21,75 g
Hidrogênio Fosfato de sódio hidratado	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	34,4 g
Cloreto de amônio	NH_4Cl	0,5 g
Preparo:		
Dissolver em água ultra-pura, e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume e homogeneizar. Ajustar o pH para 7,4		
Solução B		
Cloreto de cálcio anidro	CaCl_2	21,5 g
ou		
Cloreto de cálcio hidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	36,4 g
Preparo:		
Dissolver em água ultra-pura, e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume e homogeneizar.		
Sulfato de Magnésio heptahidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22,5 g
Preparo:		
Dissolver em água ultra-pura, e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume e homogeneizar.		
Solução D		
Cloreto de ferro hexahidratado	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25 g
Preparo:		
Dissolver em água ultra-pura, e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume e homogeneizar.		
Obs.: Utilizar esta solução imediatamente após o preparo. Se formar precipitados, substituir imediatamente a solução.		

Fonte: Diretiva 67/548/CE, OCDE, 1998;

4.3.3 Definição das amostras submetidas à biodegradação

Os efluentes das indústrias farmacêuticas apresentam grande variabilidade na concentração e características em termo carga orgânica. Para avaliar se a matriz dos efluentes, que contém altas concentrações de solventes orgânicos e compostos biodegradáveis, poderia mascarar a remoção dos princípios ativos farmacêuticos (PAF), alimentou-se os reatores dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia com efluente da linha de penicilâmicos, os mesmo efluentes enriquecidos com AMOX e solução aquosa de AMOX (MASCOLO *et al*, 2010, TROVÓ *et al*, 2011).

4.3.4 Controle do processo de biodegradabilidade

- Reatores utilizados: frascos erlenmeyer, em vidro borossilicato, de capacidade de 2000 mL,
- Sistema de aeração de aquários individuais, utilizando ponta porosa como dispersor de ar;
- Volume do teste de biodegradabilidade: 1000 mL;
- Volume de todos os reatores foi completado com solução de nutrientes (item 4.3.2);
- Adição de inóculo igual para todos os reatores de cada bateria de ensaios;
- Ajuste do pH entre 6,5 a 8,0, adicionando NaOH ou H₂SO₄ a 0,1 mol L⁻¹;
- Sistema com aeração permanente, através de aerador de aquário, com redução na incidência de luz, envolvendo todos os frascos com papel alumínio;
- Controle da biodegradação através da determinação de COD;
- Coleta das Amostras utilizando seringas acopladas a tubos de polipropileno individuais, volume coletado de 20 mL e filtradas em membranas de fibra de vidro, com porosidade de 0,45 µm, diretamente nos frascos analíticos do injetor ASI-V;
- Temperatura ambiente, entre 25°C a 30°C (out/2010 a jan/2011).
- Intervalo entre as coletas das amostras: ≅ 48 horas;
- Reposição das perdas por evaporação antes da retiradas das alíquotas para análise durante todo o teste, mantendo o volume em 1000 mL;

4.3.5 Preparo das amostras dos ensaios de Biodegradabilidade aeróbia

Os reatores, em duplicata, com as amostras em estudo, foram alimentados com as seguintes amostras:

- AMOX, em solução aquosa na concentração de 0,4 mg.L⁻¹;
- Efluente farmacêutico E2, com COD = 486 mg L⁻¹, in natura, diluído 4 vezes;
- Efluente farmacêutico E2, com COD = 486 mg L⁻¹, diluído 4 vezes e enriquecido com AMOX;
- Efluente farmacêutico E2, com COD = 486 mg L⁻¹, diluído 4 vezes e enriquecido com AMOXIL;

Foi utilizado o princípio ativo de amoxicilina (AMOX) utilizado na formulação de cápsulas e suspensão e o medicamento já formulado (AMOXIL) para avaliar se a presença dos excipientes interferiria na biodegradabilidade da amoxicilina.

Preparou-se 1000 mL dessas soluções e foi completado o volume com solução de nutrientes (item 4.3.2).

Foram preparados os reatores Branco, contendo o inóculo utilizado e nutrientes; e reatores de Controle da atividade microbiana, contendo o inóculo utilizado, nutrientes e solução de glicose, como descrito a seguir:

- R1 – reator Branco: solução de nutrientes;
- R2 – solução de controle: glicose ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) com solução de nutrientes;
- R3 e R4 – Solução aquosa de amoxicilina $0,5 \text{ g L}^{-1}$ (1ºBio) e $0,4 \text{ g L}^{-1}$ (2º Bio) em $\text{pH} \cong 3,2$, ajustado com HCl a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$;
- R5 e R6 – Efluente farmacêutico 2 in natura (E2) diluído 4x;
- R7 e R8 – Efluente farmacêutico 2 (E2) diluído 4x; enriquecido com $0,125 \text{ g L}^{-1}$ de AMOX (1ºBio), e $0,2 \text{ g L}^{-1}$ de AMOX (2ºBio),
- R9 e R10 – Efluente farmacêutico 2 (E2) diluído 4x; enriquecido com $0,2 \text{ g}$ de AMOXIL (pó para suspensão oral – 500 mg/5 mL) (1ºBio), e $0,5 \text{ g}$ de AMOXIL (2º Bio). O medicamento AMOXIL possui o princípio ativo amoxicilina e os excipientes utilizados na formulação, além de ser o primeiro fármaco comercializado no Brasil com esse princípio ativo.

A tabela 8 apresenta dados das condições iniciais do 1º e 2º ensaios de biodegradabilidade, sendo que as concentrações de COT inicial foram determinadas nas amostras antes da adição do inóculo. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Tabela 8: Condições iniciais do ensaio de biodegradabilidade aeróbia

Reatores	Amostra	COT inicial (mg L ⁻¹)	Volume final (mL)	Massa de inóculo (g.L ⁻¹)	
				ETEI	ETE
R1	Branco	5,7	1000	520	660
R2	Glicose – Controle	250	1000	520	660
R3 e R4	Amoxicilina – AMOX	220	1000	520	660
R5 e R6	Efluente 2	130	1000	520	660
R7 e R8	Efluente 2 + AMOX	160	1000	520	660
R9 e R10	Efluente 2 + AMOXIL	50	1000	520	660

Os aparatos utilizados para a aeração foram fixados aos reatores. Na figura 31 são mostrados detalhes das coletas e filtração das amostras para determinação de COD. As fotos dos reatores da bateria de ensaios do 1º Bio são mostradas na figura 32.

**Figura 31** Fotos do sistema utilizado na biodegradabilidade aeróbia



Figura 32: Reatores de 1º Bio, a esquerda com redução na incidência luminosa

4.3.6 Controle analítico da biodegradabilidade

4.3.6.1 Determinação de Carbono Orgânico Total Dissolvido (COD) e Nitrogênio Total dissolvido (NT_{dissol})

Esta análise foi realizada segundo metodologia padrão da APHA/AWWA/WEF (2005) seção 5310 B – Método de combustão à alta temperatura, utilizando o equipamento Analisador de Carbono Orgânico Total – Shimadzu modelo TOC-VCPH e equipado com a unidade de medição TNM-1 e injetor automático ASI-V. A determinação do COT ou COD baseia-se em oxidação via combustão catalítica ($680^{\circ}C$) com detecção por infravermelho não dispersivo (NDIR), no Laboratório de Análises Instrumentais, DESA/UFMG.

As curvas de calibração foram verificadas semanalmente, com solução padrão de biftalato de potássio ($C_8H_5KO_4$). Entre um grupo de 5 amostras foi inserido 01 frasco com água ultra-pura para minimizar contaminações cruzadas. Os resultados foram expressos em $mg L^{-1}$.

O COD e NT_{dissol} referem-se às determinações nas amostras previamente filtradas em membranas PVDE (fabricante Millipore), imediatamente após sua coleta nos reatores, visando a remoção do lodo biológico coletado com as amostras dos testes 1º Bio e 2º Bio. Foram mantidas sob refrigeração até sua determinação analítica.

Os frascos utilizados no injetor automático ASI-V foram, sistematicamente, lavados em ultrassom, com 3 enxágües de água ultra-pura, sem utilização de produtos orgânicos de limpeza, na temperatura ambiente.

4.3.6.2 Preparo das amostras para análise por ESI-MS

A investigação preliminar da presença de AMOX ou dos produtos de degradação, por ESI-MS foram realizadas nas frações sobrenadantes coletadas para controle do processo dos ensaios de biodegradação de AMOX, e as amostras foram filtradas em unidades filtrantes descartáveis, PVDE (GARTISER, *et al*, 2007, MASCOLO *et al*, 2010), utilizando espectrometria de massas com fonte de ionização electrospray (ESI-MS). Como essas amostras possuem uma matriz com menor concentração de íons, adotou-se o procedimento de diluição direta em metanol (CH₃OH) grau HPLC. Para injetar as amostras no equipamento, o solvente deve ser um composto orgânico iônico (CH₃OH), para favorecer a separação e ionização (Figura 28).

i. Diluição com solvente orgânico

Para as amostras geradas nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia e para os efluentes da indústria farmacêutica:

- Pipetou com pipeta volumétrica 100 µL da amostra e transferiu para balão volumétrico de 10,00 mL
- Completou o volume com metanol grau HPLC e homogeneizou.

4.3.7 Cálculo da biodegradabilidade

A porcentagem de degradação pode ser determinada pela seguinte equação:

$$Biodeg (\%)_t = \left[1 - \frac{C_t - C_B}{C_A - C_{BA}} \right] \times 100$$

Onde:

Biodeg_t = degradação no tempo t, em%

C_A = concentração de COD (mg.L⁻¹) da solução teste, analisado após 3h±30 min do início da incubação;

C_t = concentração de COD (mg.L⁻¹) da solução teste, no tempo t (dias);

C_{BA} = concentração de COD (mg.L⁻¹) do teste em branco, analisado após 3h±30 min do início da incubação;

C_B = concentração de COD (mg.L⁻¹) do teste em branco, no tempo t (dias);

O volume dos testes foi mantido constante, e fixo em 1000 mL, completando-o para a reposição das perdas por evaporação e o volume coletada das alíquotas para análise. Os

valores de COD e NT, em cada tempo de degradação, foram corrigidos pelo fator de diluição do processo do teste.

4.3.8 Descarte do inoculo após teste de biodegradabilidade

Para o descarte correto da biomassa utilizada nos ensaios de biodegradabilidade aeróbia essa pesquisa adotou o procedimento de secagem de todo o líquido e biomassa, de acordo com o procedimento de Sólidos Totais (AWPA, 2005), acrescentando a etapa de calcinação a 700°C em forno elétrico, para garantir a completa eliminação das bactérias alimentadas com amoxicilina. As fotos das etapas do processo são mostradas na figura 33.



Figura 33: Descomissionamento de biomassa utilizada nos ensaios de biodegradação aeróbia

4.4 Processo Oxidativo Avançado utilizando reagente de Fenton

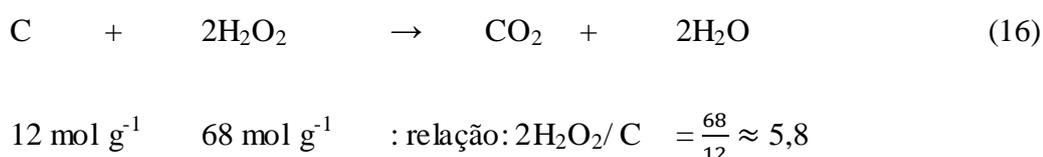
Os testes oxidativos avançados utilizando reagente de Fenton foram conduzidos nas soluções aquosas de AMOX, e nos efluentes E1, E2 e E3. Buscou-se, nesse estudo, estabelecer parâmetros de contorno, sem o aprofundamento na cinética das reações. Parâmetros otimizados em outras pesquisas semelhantes foram utilizados para estabelecer um diagnóstico preliminar da degradação de AMOX e seus efluentes utilizando processos oxidativos avançados com reagente de Fenton. Os ensaios foram realizados em triplicata, e apresentou-se os valores da média.

Na condução dessa pesquisa adotou-se parâmetros de controle otimizados pelos pesquisadores Ay e Kargi (2010) e Homem e colaboradores (2010) que estudaram a degradação de AMOX em solução aquosa utilizando POA com reagente de Fenton, para as relações entre carga

orgânica e H₂O₂, H₂O₂ e concentração de Fe²⁺. Os ensaios foram conduzidos na temperatura ambiente, com agitação constante.

Os valores de pH reportados para degradação de AMOX ficaram entre 3,5 - 4,5 (AY e KARGI, 2010, HOMEM *et al.*, 2010). Optou-se por trabalhar em pH = 3,5 que é uma faixa ótima do Fenton (figura 15) associado com análises dos diagramas de Eh x pH (Figura 16 e figura 17).

Para estabelecer a relação entre carga orgânica, em COD, e o H₂O₂ necessário para a reação, utilizou a equação 16, que estabelecem a quantidade estequiométrica entre H₂O₂ e C.



A relação obtida da reação descrita pela equação (16) estabelece que, estequiometricamente, para cada mol de C são necessários 5,8 mols de H₂O₂. Para os ensaios desenvolvidos adotou-se, como relação inicial estequiométrica, 1,0 mol de C para 7,0 mols de H₂O₂, trabalhando com 20% de excesso de peróxido, porque o H₂O₂ reage formando compostos intermediários mais refratários a oxidação, como também inativando a ação dos radicais •OH, como mostrado nas equações 6 e 7 (MELERO *et al.*, 2009).

Para amoxicilina pura (C₁₆H₁₉N₃O₅S – 365,4 g.mol⁻¹) tem-se 52,5% de COT teórico. Como a AMOX utilizada possui três águas de hidratação (C₁₆H₁₉N₃O₅S.3H₂O – 419,4 g.mol⁻¹), o valor teórico de COT reduz para 45,7%.

As relações entre peróxido, carga orgânica e íons ferrosos estabelecidas para os ensaios de degradação estão apresentadas na tabela 8.

Tabela 9: Relação entre carga orgânica/peróxido de hidrogênio/ Fe²⁺

Carga orgânica em COD (mg L ⁻¹)	H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	Relação COD/H ₂ O ₂	Fe ²⁺ (mg L ⁻¹)	Relação Fe ²⁺ /H ₂ O ₂
100	700	1:7	70	1:10
100	1000	1:10	100	1:10
100	1400	1:14	140	1:10

4.4.1 Metodologia para os cálculos da taxa de remoção de Carbono orgânico dissolvido

Para os cálculos de remoção de COD e consumo de peróxido de hidrogênio nos ensaios de degradação com reagente de Fenton utilizou-se as seguintes equações:

Conversão de COD - %COD:

$$\%COD = \frac{[COD]_i - [COD]_t}{[COD]_i} \times 100$$

Onde:

$[COD]_i$ é a concentração de carbono orgânico dissolvido na alimentação dos ensaios;

$[COD]_t$ é a concentração de carbono orgânico dissolvido no tempo t;

Consumo de peróxido de hidrogênio: % : H_2O_2

$$H_2O_2 = \frac{[H_2O_2]_i - [H_2O_2]_t}{[H_2O_2]_i} \times 100$$

Onde:

$[H_2O_2]_i$ é a concentração do H_2O_2 adicionado ao ensaio, para reagir com COD;

$[H_2O_2]_t$ é a concentração do H_2O_2 residual, no tempo t.

4.4.2 Bateria de Ensaios de degradação com reagente de Fenton realizados

- Solução aquosa de Amoxicilina

As soluções aquosas de AMOX foram preparadas com água ultra-pura, tendo sido utilizado as concentrações de 1,0 g.L⁻¹, 0,5 g.L⁻¹ (AY e KARGI, 2010, HOMEM *et al.*, 2010).

- Efluente industrial

Os efluentes industriais E1, E2 e E3 foram utilizados in natura, sem filtração prévia. Os valores de COT de cada efluente balizaram os parâmetros dos ensaios, como a relação entre a carga orgânica, peróxido de hidrogênio e fonte de íons de ferro ferroso. Essa pesquisa buscou

a minimização de geração de resíduos, por essa razão o E1, que apresentou maior valor para COT, foi diluído antes da reação com Fenton.

4.4.3 Preparo e padronização de soluções

- Peróxido de Hidrogênio:

As soluções de H_2O_2 foram preparadas por diluição a partir do reagente a 30%, com água ultra-pura. Em todas as soluções foi determinada a concentração de peróxido real através da metodologia iodométrica (SKOOG, 2006, VOGEL, 2008) (Anexo 2).

- Determinação do peróxido residual:

Foram coletadas alíquotas em intervalos de tempo previamente estabelecidos, e determinado a concentração de H_2O_2 pelo método iodométrico (Anexo 2).

4.4.4 Equipamentos utilizados

Para os ensaios de degradação por reagente de Fenton utilizou-se um equipamento *Jar Test*, de 6 provas, modelo: FlocControl II, PoliControl. A velocidade de mistura foi fixada em 150 rpm, e mantida durante as reações. Como cuba de reação usou-se bequeres de 1000 mL e 2000 mL. Os béqueres foram lavados, entre cada bateria de ensaio, com HCl a 5%, para remoção dos hidróxidos de ferro aderidos às suas paredes.

4.4.5 Ensaios de degradação da AMOX e efluente com reagente de Fenton

As baterias de ensaios de degradação consistiram do preparo das soluções de AMOX ou diluição dos efluentes, adição de sulfato ferroso amoniacal sólido, com o sistema de agitação ligado, na concentração pré-estabelecida para cada bateria de ensaios (Tabela 9). Os ajustes do pH foram feitos com solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$ após adição de Fe^{2+} .

Avaliou-se a adição fracionada de peróxido, visando reduzir o consumo, pelas perdas de sua degradação natural, assim como aumentar a degradação da AMOX ou do efluente. Os ensaios foram conduzidos a temperatura ambiente, em diferentes tempos de reação, mantendo a velocidade de agitação constante (NOGUEIRA *et al.*, 2007; AMORIM, 2010; MORAVIA, 2010, TROVÓ *et al.*, 2011).

As alíquotas para controle da degradação foram coletadas em intervalos de tempo previamente estabelecidos, para a determinação do peróxido residual por iodometria (Anexo

2), e nas alíquotas para determinação de COT foram adicionadas solução de catalase para cessar a reação de H_2O_2 , e filtradas em unidades filtrantes descartáveis. Para sua preservação as amostras foram mantidas sob refrigeração, $T \leq 4^\circ\text{C}$ até a determinação do COT.

4.4.6 Controle analítico dos ensaios de degradação

4.4.6.1 Determinação do Carbono Orgânico Dissolvido - COD

Para estabelecer as curvas de degradação foi determinado COD (carbono orgânico dissolvido). Retiraram-se alíquotas, em intervalos de tempo pré-estabelecidos, e o teor de H_2O_2 residual foi quantificado por iodometria (Anexo 2).

Nas alíquotas para a determinação de COD fez-se o ajuste do pH para 7, com adição de NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, e adicionou a enzima catalase para cessar a reação do peróxido de hidrogênio. As alíquotas foram filtradas, em unidades filtrantes descartáveis (porosidade $0,45\mu\text{m}$), e mantidas sob refrigeração a $T \leq 4^\circ \text{C}$. A determinação de COD foi realizada pela metodologia descrita no item 4.3.6.1. Para estimar a contribuição de COT da enzima catalase adicionada às alíquotas dos testes, determinou-se a concentração de COD nas amostras branco contendo apenas solução da enzima catalase.

Para os cálculos de remoção de COD considerou-se o processo de concentração dos reatores, com a retirada das alíquotas para análise.

4.4.6.2 Espectrometria de massa com ionização por eletrospray

Para o preparo das amostras para investigação dos compostos e fragmentos por ESI-MS fez-se extração líquido-líquido com clorofórmio (CHCl_3) grau HPLC, densidade $\rho = 1,135 \text{ g cm}^{-3}$.

Preparo das amostras para MS-ESI por Extração Líquido-Líquido

- Pipetou 10,00 mL da amostra e transferiu para funil de separação;
- Adicionou 20,0 mL, de clorofórmio ao funil;
- Agitou as frações no funil, por 5 min, suavemente, para evitar a formação de emulsão;
- Liberou os gases formados, separou das fases e recolhendo-as;
- Repetiu-se todo o procedimento 2 vezes, adicionando clorofórmio à fase aquosa já extraída;
- Juntou-se as 3 fases orgânicas, e levou para evaporação em banho-maria, entre 50°C a 55°C , para eliminar todo o solvente clorofórmio (ponto de ebulição: $\text{CHCl}_3 \cong 61^\circ\text{C}$), lentamente, evitando arrastes de compostos orgânicos extraídos;

- Ressolubilizou a fração extraída com metanol, grau HPLC;
- Transferiu para balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com metanol, e realizou a determinação analítica (SKOOG, 2006; VOGEL, 2008).

4.4.7 Investigação da sorção de amoxicilina na lama formada

Durante o processo oxidativos com reagente de Fenton observou-se a formação de um precipitado, já esperado. Após o término dos ensaios esse material sedimentava-se, antes da etapa de neutralização. Essa formação de precipitados durante o processo de degradação despertou o interesse em identificá-lo, em relação à estrutura física e mineralógica, além de investigar a ocorrência de sorção de matéria orgânica.

O material foi recolhido de uma bateria de ensaios com reagente de Fenton, denominado POA/AMOX-4, alimentado com solução aquosa de AMOX a $1,0 \text{ g.L}^{-1}$, com tempo de reação de 60 min.

4.4.7.1 Preparo das amostras para caracterização física e mineralógica

As soluções finais dos reatores dos ensaios de POA foram sedimentadas, sem ajuste do pH. Retirou-se sobrenadante, e o precipitado foi centrifugado. As lamas obtidas (POA/AMOX-4) foram secadas sob vácuo, em dessecador com sílica gel, na temperatura ambiente. As amostras foram, posteriormente, desagregadas manualmente e analisadas.

4.4.7.2 Determinação de Carbono orgânico Total (COT) na lama

Para essa análise utilizou a unidade SSM 5000A acoplado ao Analisador de Carbono Orgânico Total modelo TOC-VCPH, Shimadzu, no Laboratório de Análises Instrumentais, DESA/UFMG.

4.4.7.3 Determinação da Distribuição granulométrica

As amostras em suspensão foram transferidas para cuba do aparelho, sob ultra-som, para a determinação da distribuição granulométrica. Um raio laser incide sob a amostra dispersa em água, e por comparação com valores padrões de tamanhos de partículas previamente aferidos, obtém a curva granulométrica. O conhecimento da distribuição granulométrica desse material pode auxiliar nos processos de tratabilidade dos efluentes pós-degradação, antes do descarte.

A distribuição granulométrica da lama POA/AMOX-4 foi determinada por difração laser em analisador de distribuição granulométrica, marca CILAS 1064 (França); faixa operacional: entre $0,05 \mu\text{m}$ e $500 \mu\text{m}$. Frações da lama foram previamente dispersadas em cerca de 15 mL

de água deionizada, e submetidas a um banho de ultra-som por 120 s, no Laboratório de Hidrometalurgia, DEMET/UFMG.

4.4.7.4 Área superficial específica (ASE)

Para a determinação da Área Superficial Específica (ASE) do lodo utilizou o modelo de adsorção do tipo BET, proposto pelos pesquisadores Brunauer, Emmett e Teller, que desenvolveram esse método, no início do século XX, por adsorção de N₂ a 77 K. O cálculo da área é feito com base no volume de nitrogênio introduzido na amostra e na área ocupada pelas moléculas de N₂. A determinação da área superficial nesse material objetivou conhecer sua possível capacidade de adsorção, para então investigar rotas de remoção por adsorção nessa lama.

O equipamento utilizado para medir a área superficial e a distribuição de tamanhos de poros através de adsorção de gás N₂ foi o Autosorb-1 modelo Nova Station A NOVA-1000, marca QUANTACHROME, utilizando N₂ como agente adsorbato, na temperatura $T = 77,350\text{K}$ e $\rho = 0,808\text{ g cm}^{-3}$. Densidade da amostra: $\rho = 4,8\text{ g cm}^{-3}$ no Laboratório de Hidrometalurgia, DEMET/UFMG.

4.4.7.5 Análise por difração de Raios X

A difração da lama identificou os minerais presentes, mas pelas características do processo de formação, parte do material tinha características amorfas, tornando necessária a utilização de outras técnicas para sua identificação. A difração de raios X proporciona informações sobre a cristalografia da amostra de lama, com identificação de fases, tamanho de moléculas e medidas de distâncias intermoleculares. A técnica utiliza um feixe de elétrons acelerado em direção a um alvo metálico com diferença de potencial em torno de 100kV. Após a colisão, parte da energia do feixe de elétrons é convertida em raios X, formando um feixe. Quando esse feixe de raios X passa por uma fina camada do material em análise, diminui sua intensidade devido à absorção e ao retroespalhamento do feixe. Quando esse retroespalhamento acontece no interior de um cristal bem ordenado em que as distâncias entre os centros de retroespalhamento (distâncias interplanares) são da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da radiação X, ocorrem interferências nos planos do cristal, resultando na difração de raios X (SKOOG, HOLLER, e NIEMAN, 2002).

As amostras de lama foram submetidas à análise de difração de raios X em um Difrátômetro da marca PHILIPS (Holanda), modelo PW1710, utilizando radiação CuK α (tubo de anodo de

cobre), corrente de 20mA, tensão de 40kV, varredura ao passo de $0,06^{\circ}2\theta/s$, tempo de contagem de $1s^{-1}$, varredura de 4° a $90^{\circ}2\theta$, no Laboratório de Raios-X, DEMET/UFMG.

4.4.7.6 Espalhamento de luz Raman

As análises por Raman informaram o mineral formado, e a presença de picos associados a ligações orgânicas, caracterizando adsorção de AMOX na lama. A espectroscopia Raman possibilita analisar pequenas quantidades de antibióticos adsorvidos em superfícies (SKOOG, HOLLER, e NIEMAN, 2002; PETERSON, *et al.*, 2009). Para a análise utilizou um Espectrômetro Raman LABRAM-HR 800, Horiba/Jobin Yvon, com Laser HeNe (632,8nm). A potência de 6 mW incide na amostra através de um microscópio Olympus BX-41 (objetivas 100x), e um filtro reduz esse potência em 100 X. O tempo de aquisição variou entre 10 e 30s e para aumentar a razão sinal/ruído o número de aquisições foi de 10 vezes. Esse equipamento pertence ao Laboratório de Espectroscopia Raman, DEMET/UFMG.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do efluente industrial

Os efluentes industriais foram coletados em julho/2010–E1, setembro/2010–E2 e outubro/2010–E3. Esses apresentaram características distintas, confirmando a sazonalidade nas etapas produtivas.

A determinação do COD dos efluentes E1, E2 e E3 nas diferentes etapas estão apresentadas na tabela 10. Analisando os dados apresentados na tabela 10, as taxas de remoção, entre os pontos do tratamento utilizado pela empresa em sua ETEI, mostraram-se bastante variável entre os efluentes (taxa de remoção: $E1 < E3 < E2$), caracterizando a variabilidade do processo de geração do efluente e do tratamento utilizado, como nos efluentes da linha de produção de aciclovir, estudados por Mascolo e colaboradores (2010), que apresentaram COT entre 10000 mg.L^{-1} a 30000 mg.L^{-1} .

Avaliando os dados de E1 observou-se que a redução da carga orgânica entre as etapas de tratamento não foi significativa. A fração removida de COD entre P1 e P2 ficou em 5,7%, e entre as etapas P1 e P3 obteve-se uma remoção de 6,6%. Após a quebra do anel penicilâmico (ponto 4) a remoção foi mais significativa, em torno de 42% da carga orgânica. Para os efluentes E2 o processo de tratamento mostrou-se eficiente, com remoção de 97% da carga orgânica entre os pontos P1 e P2. Para o efluente E3 a remoção foi menos significativa, com remoção de 13% entre os pontos P1 e P2 (Tabela 10).

A remoção do nitrogênio nos três efluentes estudados mostrou-se bem baixa, entre os pontos P1 e P2 (Tabela 10), o que pode indicar a presença da molécula ou fragmentos da molécula de AMOX no efluente. Os nitrogênios na molécula de AMOX estão ligados entre o anel β -lactâmico e o anel tiazolidínico, e aos grupamentos aminos. Esses grupamentos mostraram-se presentes nos produtos de degradação do mecanismo proposto por Trovó e colaboradores (2011), mostrados na Figura 24. Isso pode indicar que o tratamento utilizado pode quebrar o anel β -lactâmico, mas os produtos de degradação da AMOX permanecem nos efluentes.

Tabela 10: Valores para COD, CT, Ci e NT nas diferentes etapas de tratamento na ETEI

Efluente E1 – jul/2010	COD	CT	CI_{Inorg}	NT
	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)
Ponto 1 – P1	1484	1496	12,23	15,14
Ponto 2 – P2	1400	1409	8,57	16,73
Ponto 3 – P3	1386	1392	5,07	13,23
Ponto 4 – P3	862	871	9,00	17,56
Efluente E2 – set/2010	COD	CT	CI_{Inorg}	NT
	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)
Ponto 1 – P1	486,4	490,8	4,408	24,55
Ponto 2 – P2	14,36	25,71	40,07	23,52
Ponto 3 – P3	14,03	50,6	36,57	4,114
Efluente E3 – out/2010	COD	CT	CI_{Inorg}	NT
	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)	(mg L⁻¹)
Ponto 1 – P1	770,6	773,2	2,619	26,3
Ponto 2 – P2	669,6	688,2	114,48	26,06
Ponto 3 – P3	502,1	513,1	11,01	27,83

Obs.: Ponto 4 não foi enviado nas coletas efetuadas em set/2010 e out/2010.

COD: Carbono orgânico dissolvido

CI_{Inorg}: Carbono inorgânico

NT: nitrogênio total

Os resultados da caracterização físico-química dos efluentes coletados (Tabela 11) mostram uma variabilidade em suas características, indicando que o processo de formulação em batelada apresenta diferenças significativas, o que pode influir na sua tratabilidade, que corroboram com o estudo de Mascolo e colaboradores, 2010.

O NO₂⁻ encontra-se abaixo do limite de detecção, justificável pelo valor do potencial redox das amostras. As amostras apresentam valores baixos de condutividade, devido às baixas concentrações dos íons em solução. O teor de Cl⁻ é considerado baixo, o que minimiza as possíveis interferências desse como competidor pelo radical •OH no tratamento com reagente de Fenton (ARSLAN-ALATON e GURSES, 2004).

Tabela 11: Caracterização do Efluente E1, E2, E3, antes da etapa de hidrólise (P1)

Parâmetro	E1–jul/2010	E2–set/2010	E3–out/2010
COT (mgL ⁻¹)	1484	486	770
N total (mgL ⁻¹)	15,14	24,55	26,3
Condutividade (µS)	15,1	24,6	26,3
Potencial redox (mV)	770	521	510
Cloretos Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	15,62	23,91	1,10
Sulfatos SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	6,98	1,81	0,94
Nitrato NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	1,19	1,67	1,23
Nitrito NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Obs.: NO₂⁻ < 0,05 mg L⁻¹ : Limite de detecção para a metodologia utilizada

5.1.1 Espectros de ESI-MS – Espectrometria de massa com ionização por eletrospray

Buscando identificar produtos de degradação presentes nos efluentes, fez-se análises exploratórias dos 3 efluentes, por ESI-MS. Os espectros obtidos para os efluentes E1, E2 e E3, coletado no ponto 1 (P1) são apresentados nas figuras 34, 35 e 36. Esses resultados podem ser comparados ao estudo com efluente farmacêutico real, na China, que mostrou as transformações de um antibiótico β -lactâmico (PEN G) em seus produtos de degradação (LI *et al.*, 2008), após as etapas de tratamento semelhante à utilizada pela indústria mineira. O sistema de tratamento da indústria chinesa é composto por 4 etapas: tratamento anaeróbio, hidrólise e acidificação, tratamento aeróbio primário e tratamento aeróbio secundário. Os resultados entre os efluentes chinês e brasileiro podem ser comparados, porque os dois antibióticos são da família das penicilinas, e possuem estrutura química muito semelhante, sendo que a AMOX possui uma amina ligada ao carbono 6 e um radical OH no carbono 1 (Figura 3 e 4).

No efluente chinês foram quantificados os produtos de degradação durante todas as etapas, indicando as prováveis rotas de transformações ocorridas durante o tratamento. Na tabela 3 são apresentados os gradientes de remoção em cada etapa, incluindo os produtos de degradação. O anel β -lactâmico é quebrado, mas permanecem os anéis tiazolidínicos (Figura

2 e 3) e anéis aromáticos nos produtos de degradação formados, como mostrados na rota proposta de degradação (Figura 5).

A hidrólise da amoxicilina leva a formação de ácido penicilóico amoxicilina, em que ocorre uma adição de OH ao anel β -lactâmico. Essa hidrólise pode ter ocorrido naturalmente no frasco de armazenagem, devido a baixa estabilidade do anel β -lactâmico (NÄGELE e MORITZ, 2005; KLAUSIN *et al.*, 2010; TROVÓ *et al.*, 2011).

Para E1, coletado antes da etapa de hidrólise (P1), a presença da AMOX ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) pode ser atribuída ao pico $m/z = 365,24$ no espectro MS-ESI (Figura 34). Outros picos com maior intensidade e maior razão m/z não foram investigados, porque o interesse dessa pesquisa foi investigar a degradação da AMOX. As amostras foram injetadas após diluição em CH_3OH , grau HPLC.

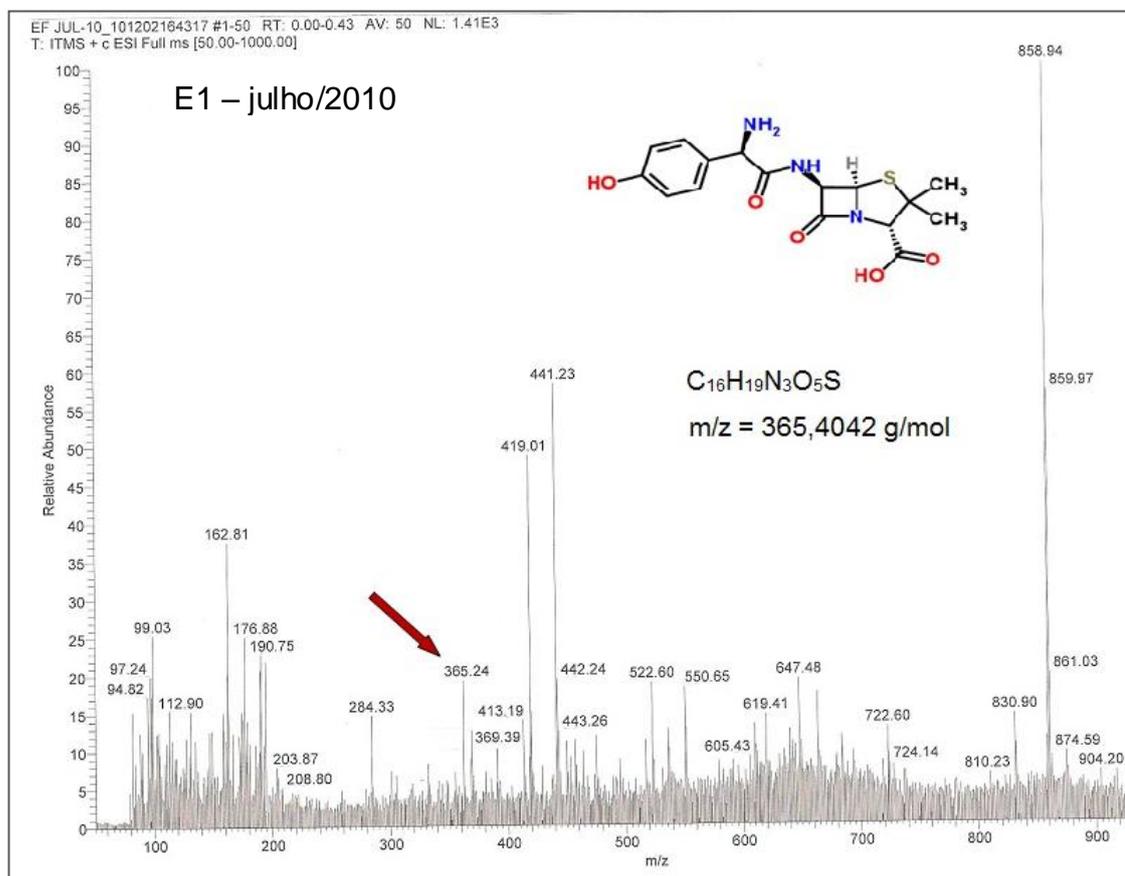


Figura 34: Espectro de ESI-MS obtidos para o efluente E1, coletado em P1, com o pico m/z 365,24 atribuído a amoxicilina

No espectro ESI-MS realizado para o E2, coletado antes da etapa de hidrólise (P1), o pico $m/z = 383,06$ foi atribuído ao ácido penicilóico amoxicilina ($C_{16}H_{21}N_3O_6S$), identificado por

Nägele e Moritz (2005), para AMOX em solução aquosa. A presença de outros picos ($m/z=858,99, 874,49, 639,49, 722,85$) para valores maiores da relação m/z e alguns com maior intensidade podem indicar a presença de compostos provenientes dos excipientes, corantes e aromatizantes utilizados nas formulações dos medicamentos (Figura 35).

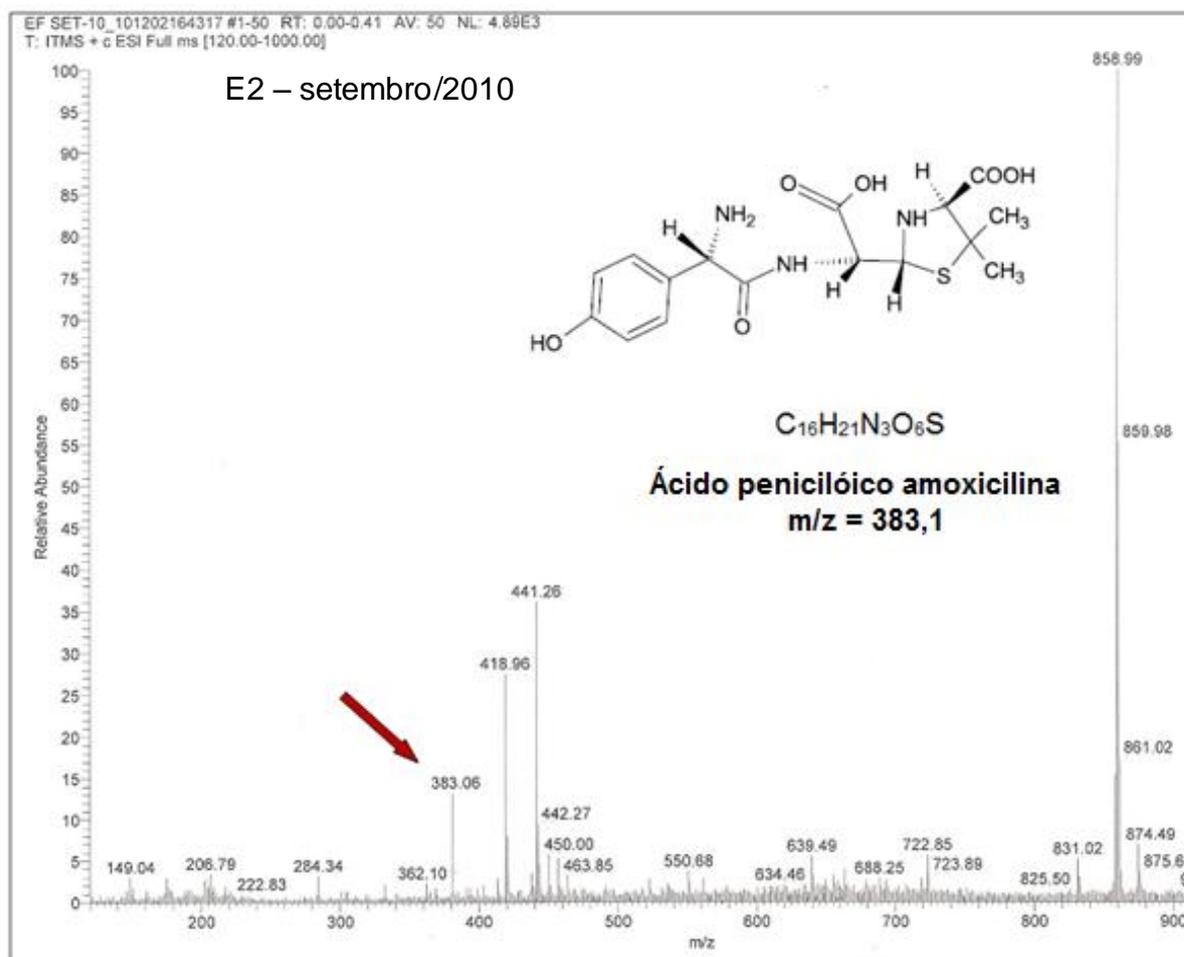


Figura 35: Espectro de efluente E2 coletado em P1, por ESI-MS, com o pico m/z 383,1 atribuído ao ácido penicilóico amoxicilina, produto da hidrólise da AMOX

Na análise do espectro ESI-MS do efluente E3, amostrado em P1, antes da etapa de hidrólise, o pico $m/z = 383,06$ pode ser atribuído ao ácido penicilóico amoxicilina ($C_{16}H_{21}N_3O_6S$), dados concordantes com o estudo de hidrólise de AMOX em solução aquosa desenvolvidos por Nägele e Moritz (2005) (Figura 36). Os outros picos, com maior intensidade não foram investigados, e podem ser atribuídos aos excipientes e corantes.

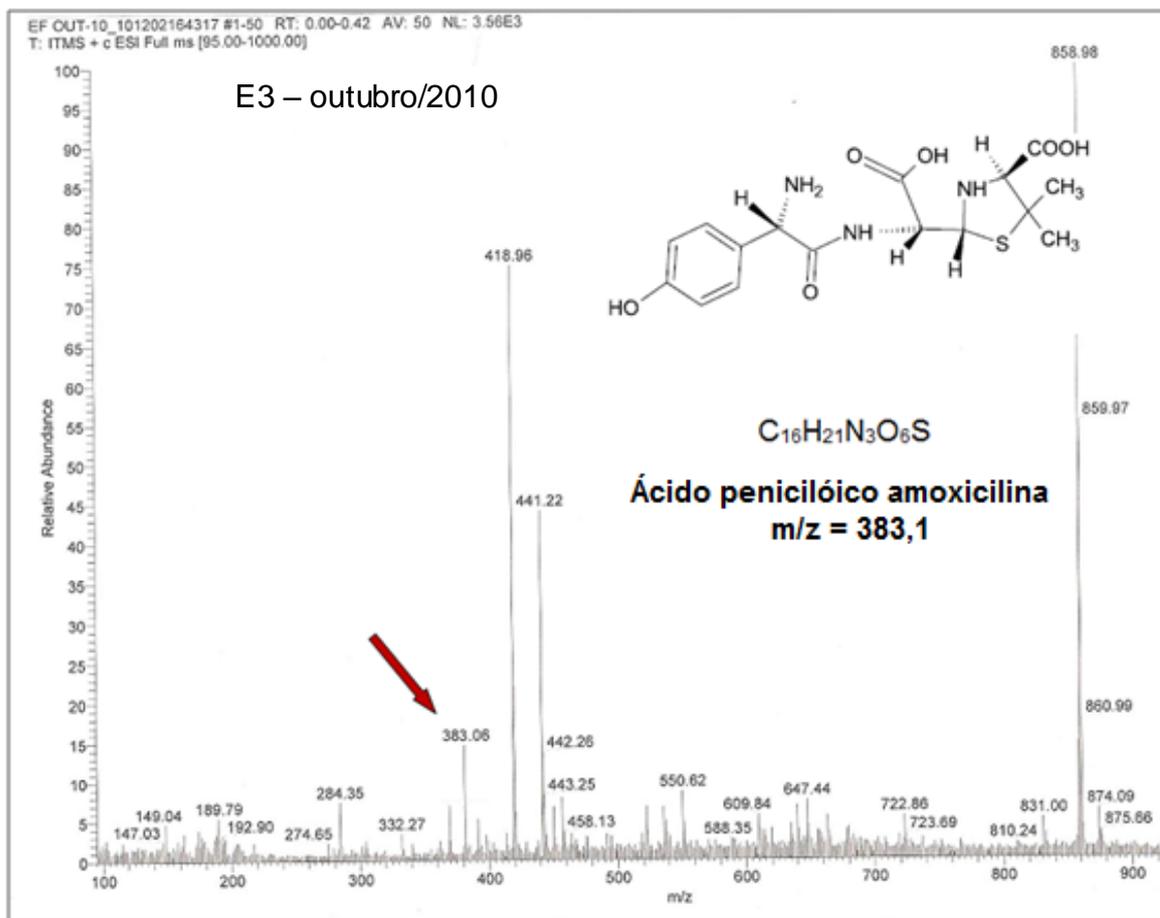


Figura 36: Espectro ESI-MS para E3, amostrado em P1, antes da hidrólise com o pico m/z 384,1 atribuído ao ácido penicilóico amoxicilina, produto da hidrólise da AMOX com identificação do produto de hidrólise da AMOX

Nos espectros obtidos através de ESI-MS para os três efluentes estudados foram identificados a presença de AMOX, ou um de seus produtos de degradação, o ácido penicilóico amoxicilina, que possui, em sua estrutura química o anel fenólico.

5.2 Caracterização do reagente utilizado – amoxicilina

Como o reagente utilizado para os ensaios não é um padrão analítico, e sim um reagente utilizado para formulação de medicamentos, essa etapa de identificação foi necessária.

5.2.1 Determinação elementar por CHN (carbono, hidrogênio e nitrogênio)

A determinação por CHN possibilita quantificar as frações dos principais elementos que formam as moléculas orgânicas, no caso Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio. Os valores obtidos para AMOX estão próximos à composição estequiométrica teórica, para a fórmula química: $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, como mostrado na tabela 12, em determinação em duplicata (ensaio

1 e 2). Esses resultados devem ser comparados com outras técnicas analíticas para confirmação da estrutura química do composto.

Tabela 12: Valores teóricos e encontrados na determinação por CHN

	Composto	C (%)	H (%)	N (%)
Ensaio 1	Amoxicilina tri-hidratada	43,08	5,15	9,54
Ensaio 2	Amoxicilina tri-hidratada	46,37	5,52	10,12
Valor estequiométrico	Amoxicilina	46,04	4,8	10,07

5.2.2 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear - RMN

O espectro RMN ^1H obtido para AMOX corresponde ao espectro padrão da AMOX, mostrado na figura 37 e nos deslocamentos $\delta^1\text{H}$ (m) da amoxicilina padrão, apresentados na tabela 13. Sob os picos tem-se os valores das áreas, e os pontos característicos estão representados pela intensidade do sinal dos hidrogênios correspondentes.

Tabela 13: Deslocamento químico δ^1 (ppm) RMN ^1H AMOX_{REAGENTE} e AMOX_{PADRÃO}

	Posição	$\delta^1\text{H}$ (m) AMOX Reagente	$\delta^1\text{H}$ (m) AMOX Padrão
1	OH	---*	
2	CH	6,94**	6,98
3	CH	7,34***	7,39
4	CH	6,90**	
5	CH	7,29***	
6	CH	5,10	5,12
7	NH	---*	
8	CH	5,45	
9	CH	5,45	
10	CH ₃	1,37	
11	CH ₃	1,37	
12	CH	4,10	4,15
13	COOH	---*	
14	NH ₂	---*	

Obs.: * Hidrogênio não identificados no espectro de RMN devido a possíveis interações existentes entre a água presente no meio.

** e *** Podem estar trocados entre si.

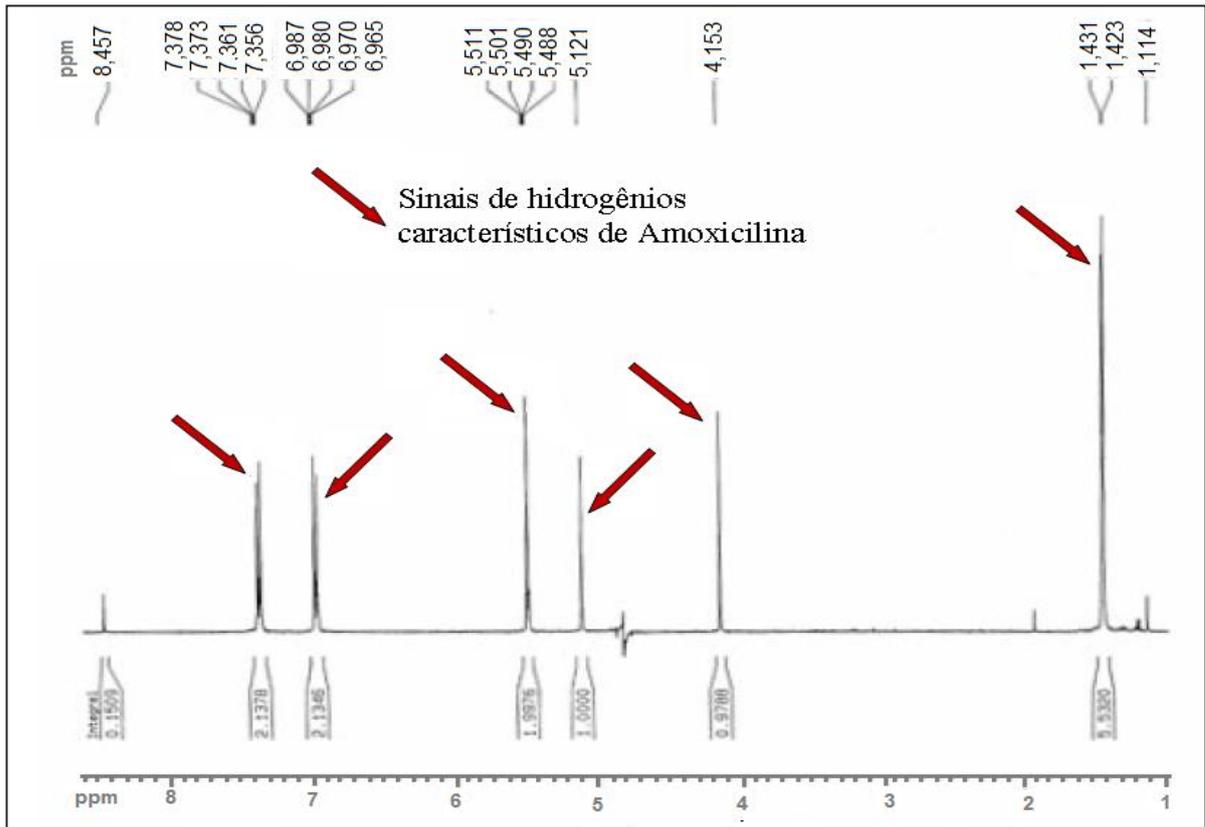


Figura 37: Espectro padrão de RMN ^1H para amoxicilina pura

Fonte: HIRATA, 2008, adaptado

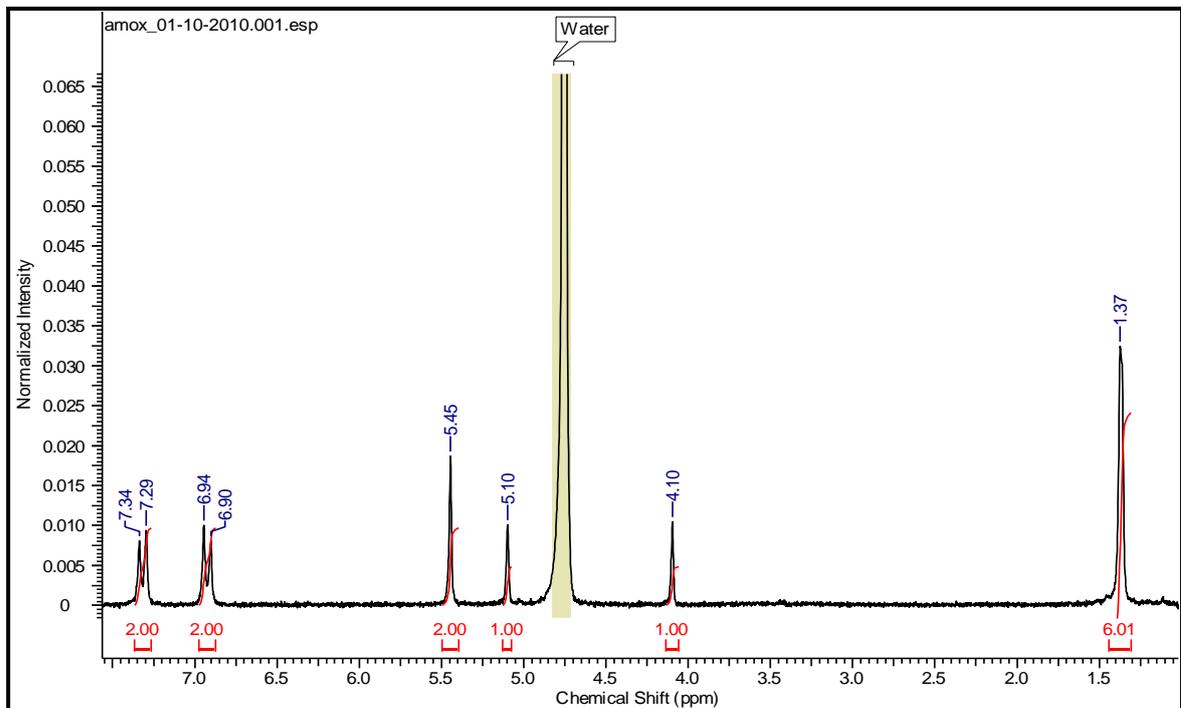


Figura 38: Espectro de RMN ^1H completo da AMOX estudada

Na tabela 13 estão os valores tabelados de deslocamento químico para os hidrogênios ligados aos diferentes grupos funcionais. Na identificação da AMOX alguns hidrogênios não foram identificados, devido a possíveis interações existentes entre a água utilizada como solvente, como relatado no trabalho de Hirata (2008). Correlacionando os valores dos picos do espectro de RMN ^1H padrão para amoxicilina (Figura 37) como os valores obtidos para o reagente AMOX utilizado nessa pesquisa (Figura 38) podem-se identificar similaridades, caracterizando-o como amoxicilina.

A associação entre os resultados obtidos através da análise de CHN e o espectro RMN confirmam que o reagente utilizado na pesquisa era Amoxicilina.

5.3 Determinação da biodegradabilidade aeróbia

Os ensaios realizados possibilitaram correlacionar informações sobre a biodegradabilidade da amoxicilina em solução aquosa, do efluente industrial e do efluente enriquecido com AMOX, comparando os processos alimentados com inóculos de duas origens.

5.3.1 Caracterização dos Sólidos nos inóculos

A caracterização dos Sólidos Suspensos Totais (SST) e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) nos inóculos foi necessária para estabelecer a quantidade de biomassa a ser adicionada aos reatores. Os inóculos foram utilizados após sedimentação, corrigindo os valores de SST e SSV com a concentração obtida e os valores para SST e SSV encontrados para os lodos utilizados são apresentados na tabela 14, assim como a concentração utilizada nos testes de biodegradação aeróbia.

Tabela 14: Caracterização dos SST e SSV, após lavagem e sedimentação dos inóculos e a concentração adicionada aos reatores dos testes de biodegradabilidade

Sólidos	Inóculo ETEI (g.L^{-1})	Inóculo ETE (g.L^{-1})
SST	10,2	29,1
SSV	8,7	26,5
Massa adicionado aos reatores	Inóculo ETEI (g.L^{-1})	Inóculo ETE (g.L^{-1})
SST	610	725
SSV	520	660

5.3.2 Resultados dos ensaios de biodegradação

Os ensaios de biodegradabilidade aeróbia foram realizados em períodos distintos para os 2 inóculos. O 1º ensaio de biodegradabilidade (1º Bio) teve a duração de 37 dias, atingindo o patamar de estabilidade para glicose a partir do 5º dia. O 2º ensaio de biodegradabilidade (2º Bio) foi conduzido por 56 dias, com estabilização da glicose a partir do 5º dia.

5.3.2.1 Biodegração de AMOX em solução aquosa

A solução de amoxicilina em água, para 1º Bio apresentou biodegradabilidade em torno de 55%, o que pode caracterizar alguma refratariedade e persistência ambiental, para o inóculo utilizado (figura 39). Esse era oriundo de uma estação de tratamento de efluentes industrial (ETEI) de uma indústria farmacêutica, que não produzem antibióticos β -lactâmicos, e correspondeu à mesma taxa de degradação obtida por Gartiser e colaboradores (2007) em ensaios de degradação de AMOX por Zahn-Wellens (Figura 10). As concentrações iniciais e finais de COD dos reatores do 1º e 2º ensaios de biodegradabilidade bem como a taxa de remoção de COD estão apresentadas a seguir:

AMOX 1º Bio:

- Reator de Controle: solução de glicose
- Inóculo ETEI
- $COD_{inicial} = 222,0 \text{ mg.L}^{-1}$
- $COD_{final} = 133,6 \text{ mg.L}^{-1}$
- Taxa de remoção de COD = 39,8%

AMOX 2º Bio:

- Reator de Controle: solução de glicose
- Inóculo ETE
- $COD_{inicial} = 297,3 \text{ mg.L}^{-1}$
- $COD_{final} = 60,6 \text{ mg.L}^{-1}$
- Taxa de remoção de COD = 79,6%

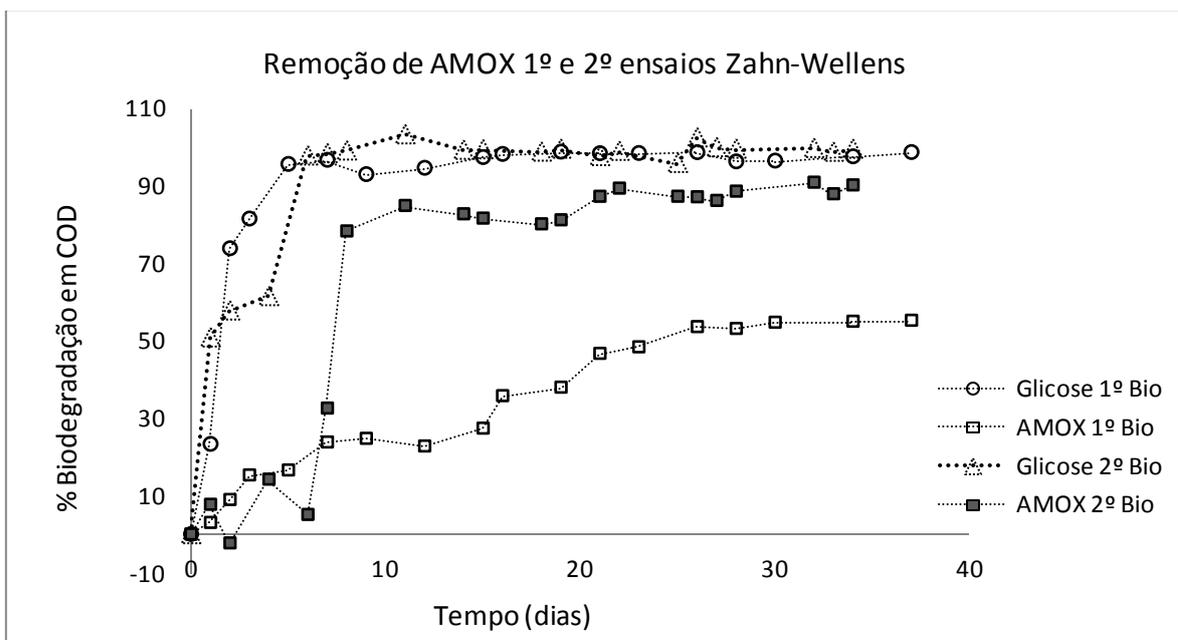


Figura 39: Biodegradabilidade aeróbia por teste de Zahn-Wellens da solução de AMOX com inóculos de ETEI (1º Bio) e ETE (2º Bio), e glicose no reator de controle

Para o inóculo oriundo da ETE (figura 39) a degradação da AMOX 2º Bio encontra-se acima de 70%, a partir do 10º dia do ensaio. Esta eficiência na degradação da AMOX com o inóculo procedente de uma ETE urbana pode estar relacionada, provavelmente, ao aporte constante de amoxicilina aos reatores, através do lançamento desse fármaco pela população em geral, visto que esse é o antibiótico com maior venda no Brasil. Isto pode ter levado ao desenvolvimento de cepas de bactérias aptas a degradá-lo, no sistema de lodos ativados da ETE, apesar de não ser um inóculo adaptado.

A degradação de nitrogênio seguiu a mesma tendência da degradação de carbono orgânico, podendo indicar que o nitrogênio presente na estrutura molecular da AMOX (figura 3) serviu de nutrientes para os microorganismos presentes nos inóculos utilizados. Os valores apresentados são a média entre os reatores R3 e R4 tanto para 1º e 2º Bio (figura 40).

As concentrações iniciais e finais de NT dos reatores do 1º e 2º ensaios de biodegradabilidade bem como a taxa de remoção de NT estão apresentadas a seguir:

NT_{AMOX 1º Bio}:

- NT_{inicial} = 53,5 mg.L⁻¹
- NT_{final} = 39,5 mg.L⁻¹
- Taxa de remoção de NT = 26,2%

NT_{AMOX} 2º Bio:

- NT_{inicial} = 42,7 mg.L⁻¹
- NT_{final} = 9,8 mg.L⁻¹
- Taxa de remoção de NT = 77,0%

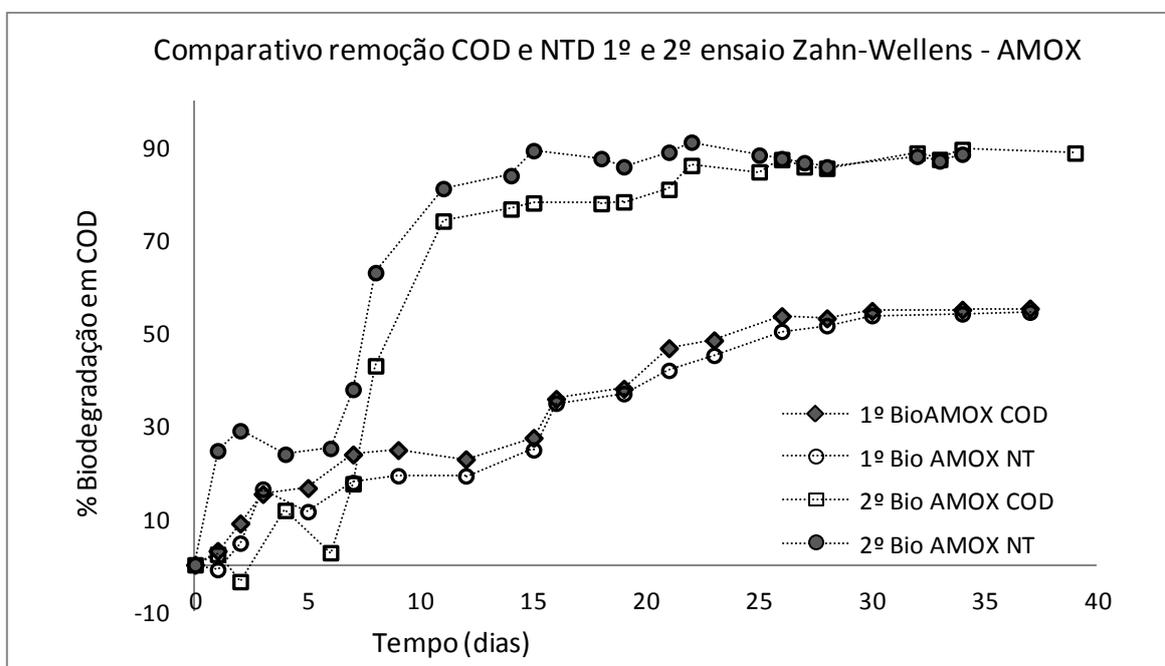


Figura 40: Comparativo da remoção entre COD e NT_{dissolvido}, 1º e 2º ensaios de Biodegradabilidade aeróbia para solução aquosa de AMOX realizados com inóculos de ETEI (1º Bio) e ETE (2º Bio), e glicose no reator de controle

5.3.2.2 Investigação dos compostos presentes nas frações do reator 3, AMOX

Foram analisadas, por ESI-MS, amostras coletadas durante o ensaio de biodegradabilidade aeróbia, do reator 3 (R3), alimentado com solução aquosa de amoxicilina. Nas figuras 41, 42 e 43 são apresentados os espectros para a fração inicial antes da adição do inóculo, e após adição do inóculo, bem como a fração referente ao quinto dia do ensaio de degradação.

A complexidade dos espectros ESI-MS gerados não possibilitou a identificação dos produtos de degradação da amoxicilina. As interações entre compostos orgânicos oriundos do inóculo, juntamente com os produtos do metabolismo da microbiota contribuíram para tal complexidade.

Optou-se em não apresentar os resultados das frações R3 geradas no teste 2º Bio, porque apresentaram espectros de ESI-MS semelhante aos R3 para o 1º Bio.

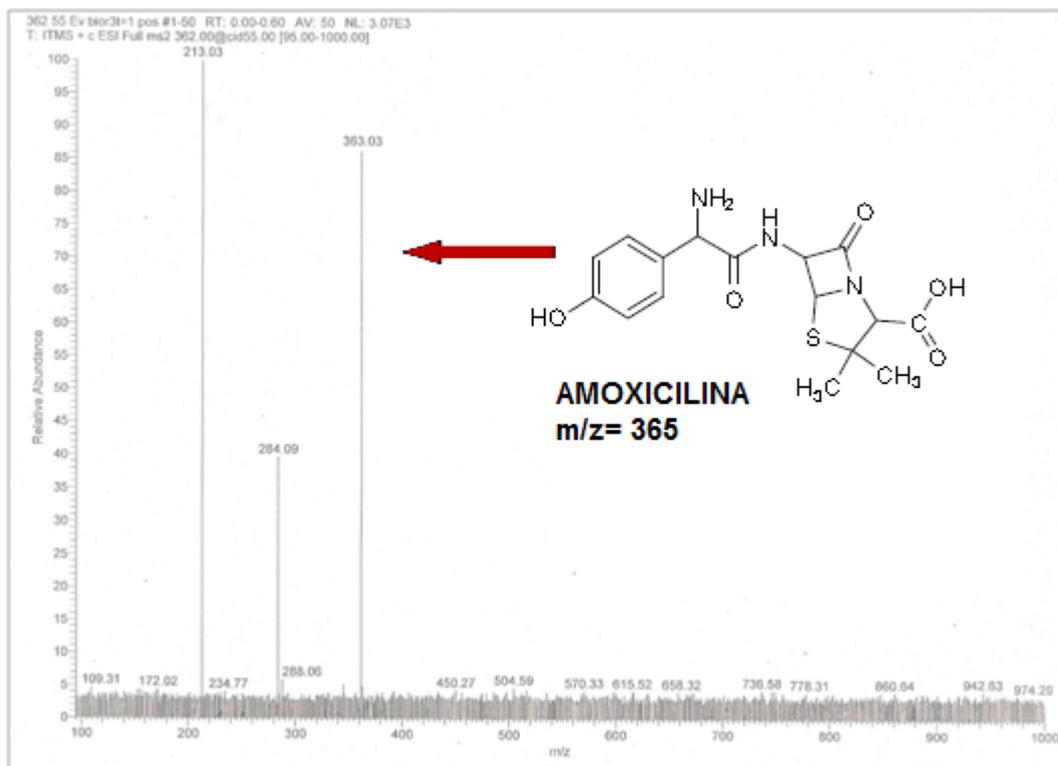


Figura 41: Espectro ESI-MS da alíquota do R3, ensaio 1º Bio - fração inicial com o pico m/z 365,06 atribuído a amoxicilina

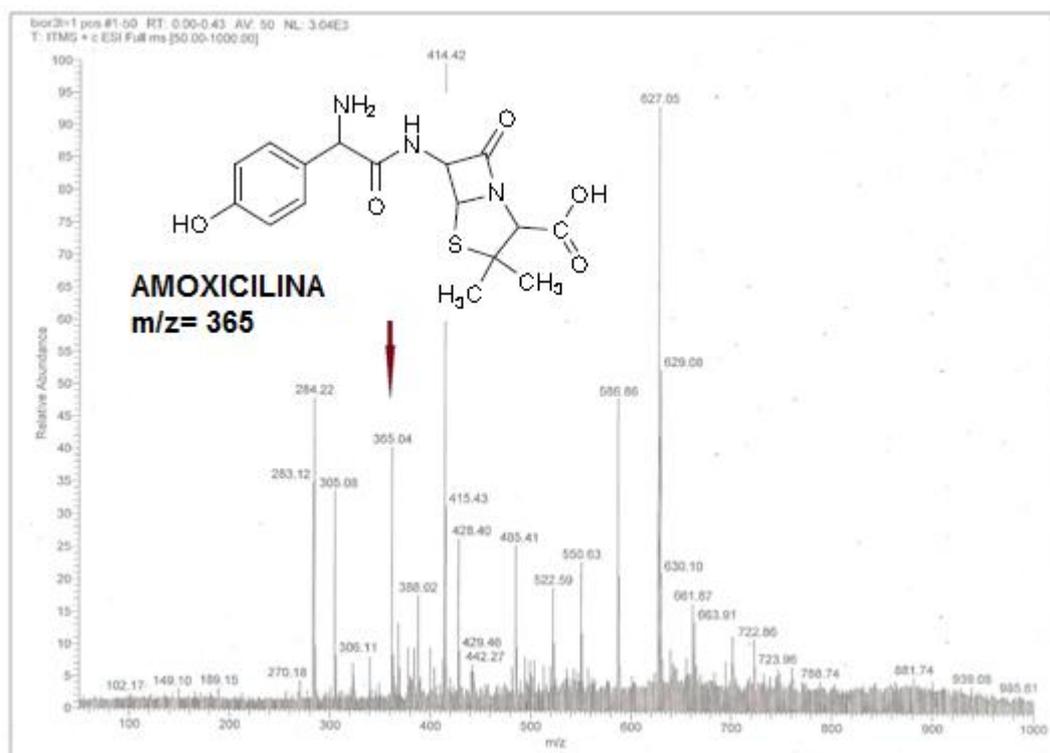


Figura 42: Espectro ESI-MS da alíquota do R3, ensaio 1º Bio, fração inicial, após adição do inóculo com o pico m/z 365,06 atribuído a amoxicilina.

Comparando os espectros ESI-MS (Figuras 41 e 42) observou um acréscimo de picos, na figura 42, mais adensado na região de massa/carga (m/z) maior, que pode ser atribuída aos compostos orgânicos carregados juntos com o inóculo, levando a conclusão de que o procedimento adotado para lavagem do inóculo não removeu, com eficiência, os compostos presentes, em maiores concentração, e passíveis de ionização pelo sistema de eletrospray e detectáveis por espectrometria de massas.

Fez-se uma tentativa de identificação de produtos de degradação, para a fração 1° bio, coletada após 5 dias de ensaio. O pico $m/z = 310$ pode ser atribuído ao composto $C_{14}H_{20}N_3O_3S$ e o pico $m/z = 176$ ao composto $C_6H_{10}NO_3S$, como apresentado no mecanismo de degradação, proposto por Trovó e colaboradores (2011), para AMOX, apresentado na figura 24. Essa é uma identificação preliminar, sem os devidos aprofundamentos analíticos, que inclui a fragmentação dos picos identificados e análise por cromatografia líquida com detecção com espectrometria de massas. (Figura 43).

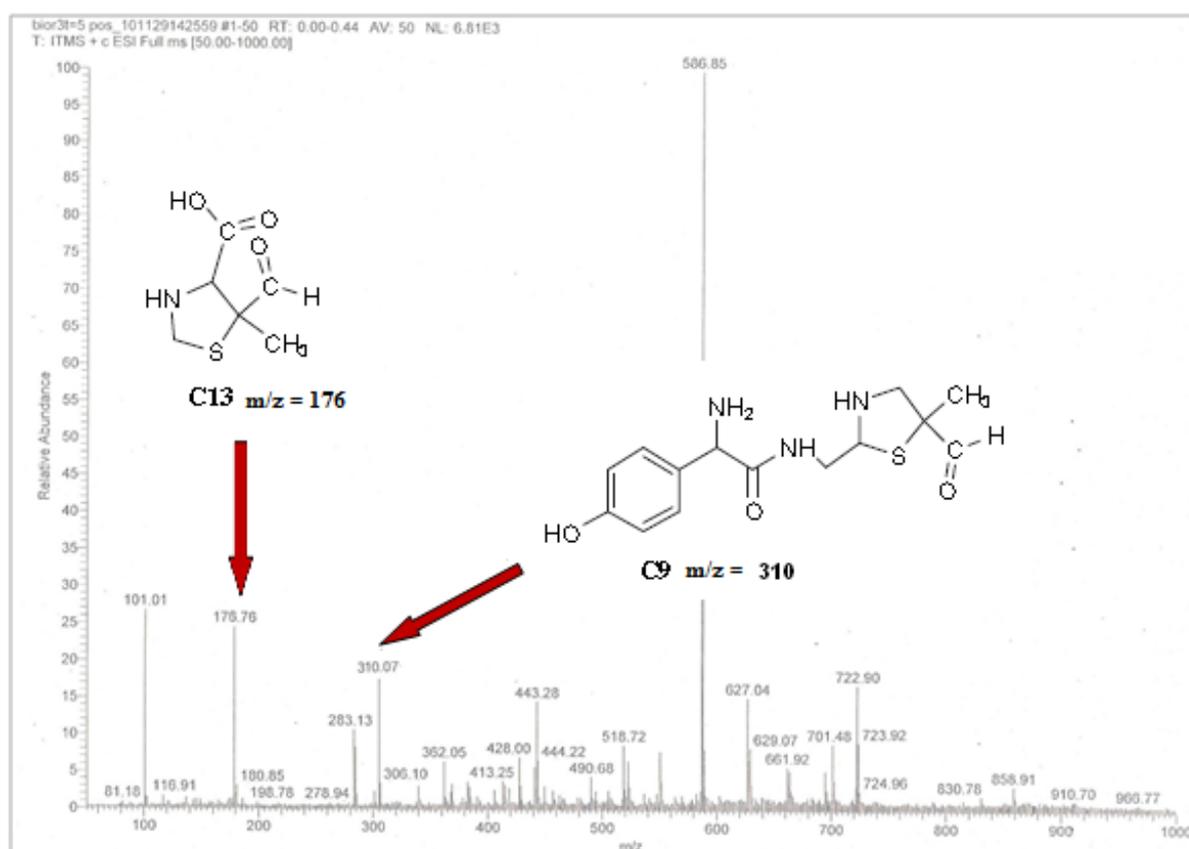


Figura 43: Espectro ESI-MS da alíquota do reator R3 AMOX, ensaios 1° Bio, fração após 5 dias de degradação com identificações de picos atribuídos a produtos de degradação da amoxicilina.

5.3.2.3 Degradação do efluente real

Para o efluente 2 (E2) oriundo da planta de amoxicilina, os ensaios de biodegradabilidade aeróbia estão apresentados na figura 44. O 1º Bio (inóculo ETEI) atingiu taxa de degradação de 90% a partir do 3º dia, indicando que o inóculo oriundo da ETEI estava bem adaptado às características de carga orgânica de efluentes de indústria farmacêutica, como excipientes, corantes e solventes utilizados nos processos industriais. A curva de biodegradação aeróbia obtida com o inóculo 2 (2º Bio – inóculo ETE) apresenta-se um comportamento muito diferente, com oscilações bruscas entre $t = 0$ e $t = 25$ dias de teste. A degradação começou a estabilizar em $t = 35$ dias, com mudança na inclinação da curva, e atingindo 70% de degradação em $t = 45$ dias. Pode-se explicar esse comportamento pelo fato que o microbiota utilizada, procedente da ETE não encontrava-se adaptada às características das cargas orgânicas de efluentes procedentes de uma indústria de fármacos. As concentrações iniciais e finais de COD dos reatores com E2 (coletado no ponto P1) do 1º e 2º ensaios de biodegradabilidade bem como a taxa de remoção de COD estão apresentadas a seguir, com o reator de controle alimentado com solução de glicose

Efluente E2 1º Bio, para 28 dias de teste de biodegradação:

- Inóculo ETEI
- $COD_{inicial} = 135,3 \text{ mg.L}^{-1}$
- $COD_{final} = 8,2 \text{ mg.L}^{-1}$
- Taxa de remoção de COD = 93,9%

Efluente E2 2º Bio, para 28 dias de teste de biodegradação:

- Inóculo ETE
- $COD_{inicial} = 125,5 \text{ mg.L}^{-1}$
- $COD_{final} = 23,5 \text{ mg.L}^{-1}$
- Taxa de remoção de COD = 81,3%

O perfil de biodegradação do E1-1º Bio, com a formação do patamar de estabilidade desde o 2º dia do início dos ensaios, pode ser explicado pela presença de carga orgânica biodegradável, procedente dos excipientes utilizados na formulação, teores do princípio ativo AMOX bem baixos. Os processos de produção são bem otimizados, visando minimizar o descarte da matéria prima, item de maior custo no processo industrial. Como o inóculo de 1º Bio é oriundo de uma ETEI, a biodegradabilidade encontrada pode também indicar uma boa

adaptabilidade deste inóculo para esse tipo de efluente, que contém uma alta carga de excipientes e corantes (Figura 44).

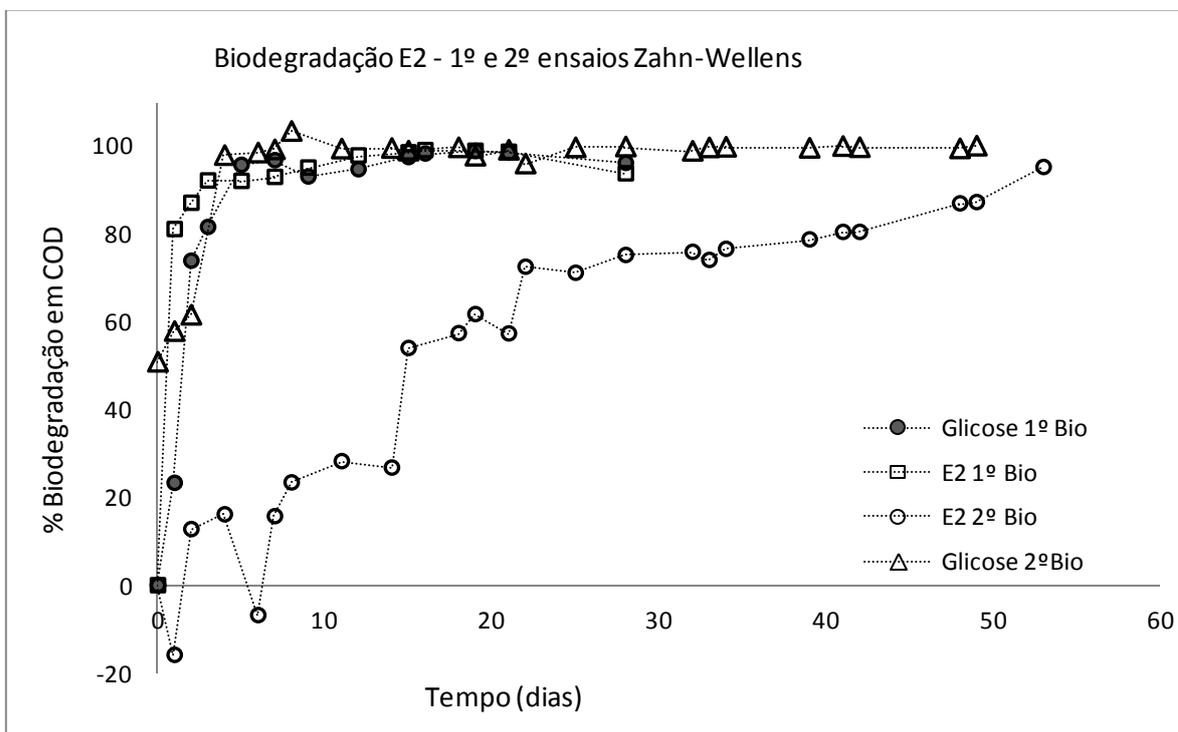


Figura 44: Biodegradabilidade aeróbia do efluente E2 com 2 inóculos procedentes da ETEI e ETE utilizados na alimentação dos reatores para os ensaios Zahn-Wellens

O comportamento, frente à biodegradação aeróbia da solução aquosa da AMOX (Figura 39) e dos efluentes E2 (Figura 44), apresenta semelhanças aos encontrados por Mascolo e colaboradores (2010) para os princípios ativos de aciclovir, naproxeno e ácido nalidixico e os efluentes das suas respectivas linhas de produção. Nas duas pesquisas a degradação dos princípios ativos mostrou-se mais refratária, isto é, menos eficiente que a degradação ocorrida com seus respectivos efluentes. Em sua pesquisa Mascolo e colaboradores (2010) alimentaram os reatores com inóculo de ETE local, e os resultados para os efluentes industriais apresentaram comportamento semelhante, obtendo taxas de remoção de COT maiores que 80% a partir do 1º dia, com exceção do efluente procedente do ácido nalixílico, que atingiu esse patamar a partir do 6º dia (Figura 8).

5.3.2.4 Degradação dos efluentes enriquecidos com amoxicilina

As figuras 45 e 46 apresentam as curvas de biodegradação para o E2 enriquecido com AMOX e AMOXICIL, para os dois inóculos utilizados, sendo que os ensaios 1º Bio utilizaram inóculo da ETEI e os ensaios 2º Bio foram alimentados com inóculo da ETE.

Para os ensaios E2+AMOX a degradação estabilizou-se a partir do 10º dia, um indicativo do teste Zanh-Wellens de sua biodegradabilidade. Mas, como abordado por Mascolo e colaboradores (2010), existe a possibilidade de que a degradação dos solventes orgânicos e compostos biodegradáveis presentes na matriz do efluente mascare a remoção do princípio ativo da amoxicilina (Figura 45).

Os valores obtidos para a biodegradação podem indicar que os efluentes são passíveis de tratamento biológico. O que deve ser considerado, nesse caso, é a possibilidade de desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes a AMOX, que podem ser liberadas para o meio ambiente.

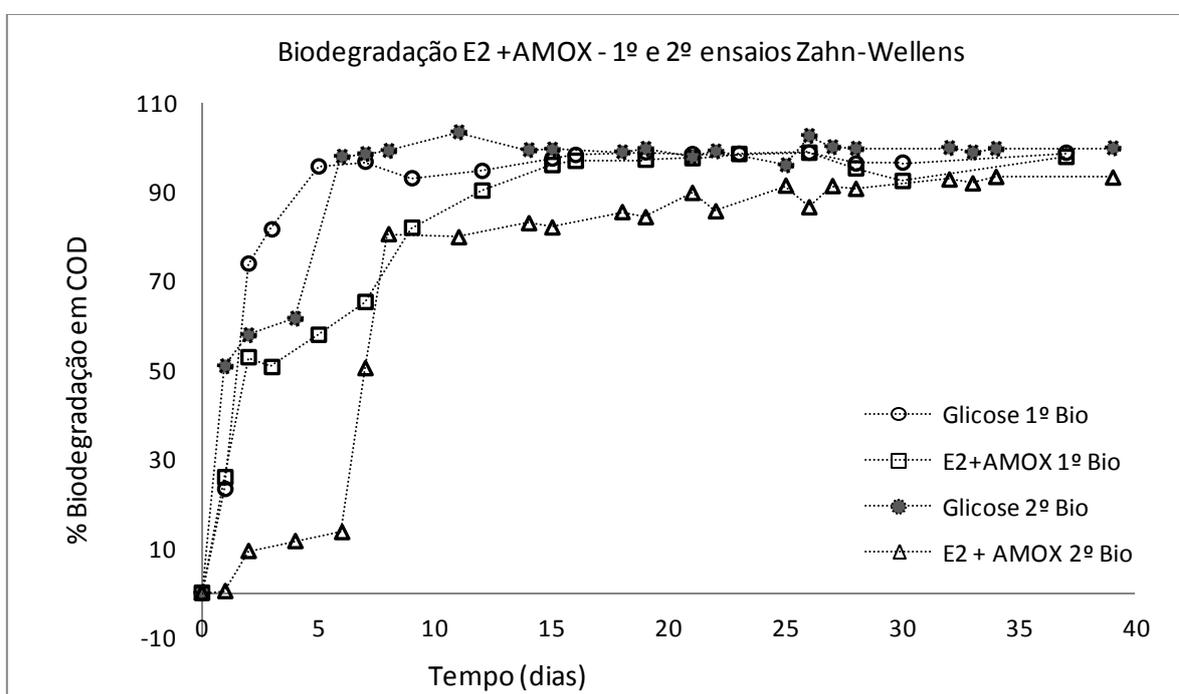


Figura 45: Biodegradabilidade aeróbia do efluente E2 enriquecido com AMOX, com os dois inóculos avaliados: 1º Bio (ETE I) e 2º Bio (ETE), ensaio Zahn-Wellens, utilizando glicose no reator de controle.

O perfil de degradação, para E2+AMOXICIL, apresentou diferenças entre os inóculos ETEI e ETE, como encontrado para a degradação de AMOX e E2+AMOX. A presença do princípio ativo da amoxicilina pode ter levado a um aumento da refratibilidade do efluente à biodegradação, especialmente para o inóculo da ETEI (figura 46).

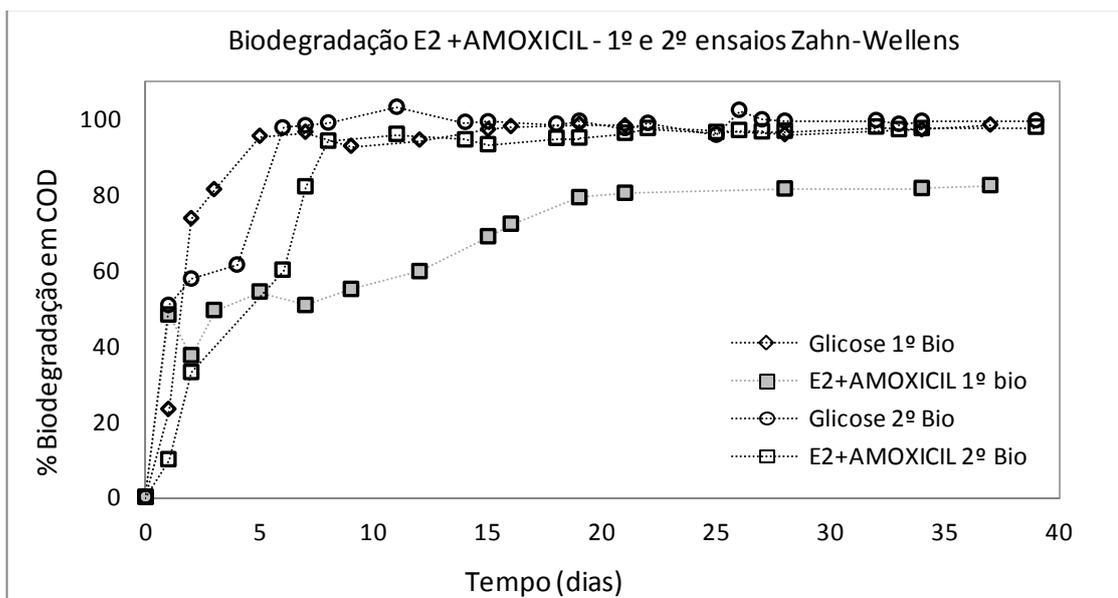


Figura 46: Biodegradação aeróbia Efluente 2 enriquecido com AMOXICIL, com os dois inóculos avaliados: 1º Bio (ETE I) e 2º Bio (ETE), ensaio Zahn-Wellens, utilizando glicose no reator de controle

A figura 47 apresenta as curvas de degradação de AMOX e E2+AMOX. Para 1º bio (inóculo ETEI) o comportamento da AMOX e do efluente mostrou-se semelhante os indicados pelas figuras 8 e 9 (MASCOLO *et al.*, 2007). Nessas figuras pode-se observar que a remoção dos princípios ativos, em ensaios de biodegradabilidade, não apresenta o mesmo perfil de curva para remoção de COT e remoção do princípio ativo. A remoção do COT para solução de aciclovir foi de 50%, e o monitoramento de remoção do princípio ativo, por HPLC-MS indicou, praticamente, remoção total (Figura 8a e 9a). Isso permite inferir que as frações facilmente biodegradáveis podem mascarar a remoção dos compostos mais refratários, e esses serem lançados nos corpos receptores, como os produtos intermediários de penicilina G identificados nas águas do rio Wangyang, na China, (LI *et al.*, 2008).

Os resultados obtidos, através dos ensaios de biodegradabilidade, podem indicar que a adoção de tratamento biológico para efluentes de indústrias farmacêuticas seria mais apropriada. Mas a análise dos resultados de biodegradação para AMOX, e para os efluentes enriquecidos (E2+AMOX, e E2+AMOXICIL) podem mostrar que a presença de uma fração refratária correspondente ao princípio ativo do fármaco em efluentes reais, mesmo em baixas concentrações, pode contribuir para o desenvolvimento de bactérias super resistentes, durante o tratamento biológico e, também, após o lançamento desse efluente nos corpos receptores (Figura 47).

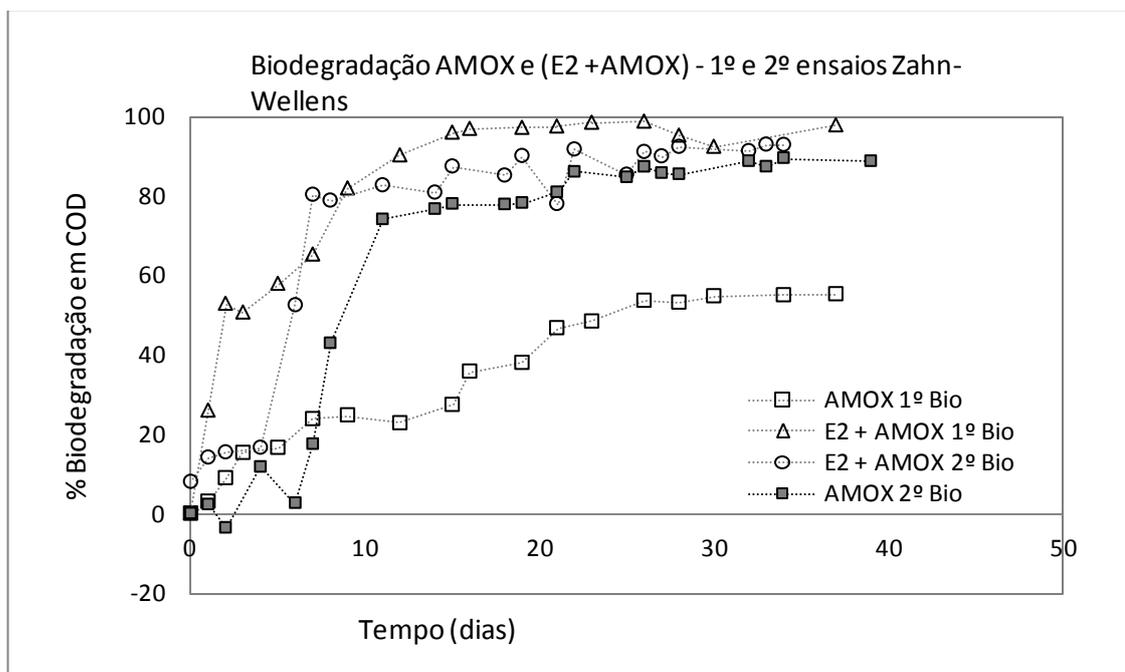


Figura 47: Biodegradabilidade aeróbia do efluente E2 enriquecido com AMOX, comparada com AMOX, para os dois inóculos avaliados: 1º Bio (ETEI) e 2º Bio (ETE), ensaio Zahn-Wellens, utilizando glicose no reator de controle

Na tabela 15 estão apresentados um resumo dos testes de biodegradabilidade aeróbia realizados com inóculo da ETEI e ETE.

Tabela 15: Testes de biodegradabilidade aeróbia: $COD_{inicial}$, COD_{final} , taxa de biodegradação, reator de controle alimentado com solução de glicose

Matriz estudada	Inóculo ETEI			Inóculo ETE		
	$COD_{inicial}$ mg.L ⁻¹	COD_{final} mg.L ⁻¹	% bio	$COD_{inicial}$ mg.L ⁻¹	COD_{final} mg.L ⁻¹	% bio
	Duração do teste: 37 dias			Duração do teste: 57 dias		
AMOX em solução aquosa	222,0	133,6	39,8%	297,3	60,6	79,6%
Efluente real – E2 (P1)	135,3	8,2	93,9%	125,5	4,9	96,1%
Efluente real + AMOX	163,7	15,5	90,5%	227,2	17,4	92,3%
Efluente real + AMOXIL	157,8	39,6	74,9%	148,5	5,95	95,9%

A etapa de ensaios toxicológicos das frações geradas deve ser adotada, para auxiliar a escolha do processo de tratamento mais adequado para efluentes contendo antibióticos, uma vez que substâncias refratárias podem estar ocultas pelas frações biodegradáveis dos constituintes majoritários. (LI *et al.*, 2008; MASCOLO *et al.*, 2010). O processo de identificação dos produtos de degradação nessa matriz biológica apresenta dificuldades, decorrentes da presença de produtos do metabolismo da microbiota.

A sorção dos fármacos em biomassa é um dos mecanismos identificados de remoção destes, com mostrado em diversas pesquisas (BEAUSSE, 2004; FIGUEROA, 2004; FIGUEROA-DIVA, *et al.*, 2004; SEIFRTOVÁ, *et al.*, 2009; WILLIANS, *et al.*, 2009).

No presente estudo, a sorção na biomassa não foi avaliada, porque esse trabalho teve um foco mais investigativo, buscando estabelecer parâmetros de contorno, não aprofundando em todos os aspectos apresentados. Além disso, como a biomassa foi alimentada com amoxicilina, essa poderia ter características que exporiam a equipe dos laboratórios a um risco maior que os ganhos para estabelecer a taxa de sorção.

5.4 Ensaios de degradação utilizando reagente de Fenton

Utilizando o processos oxidativos avançados com reagente de Fenton foram realizados testes de degradação com solução aquosa de amoxicilina e com os efluentes reais da linha de produção de penicilâmicos.

5.4.1 Investigação da degradação de solução aquosa de AMOX com reagente de Fenton

Na figura 48 está apresentada a curva de remoção de COD para o ensaio de degradação de AMOX 1,0 g.L⁻¹, em solução aquosa; e o consumo de H₂O₂ ao longo da reação. Os dados estabelecidos para esses ensaios foram: relação H₂O₂:C = 7:1, para AMOX 1, e H₂O₂:C = 10:1 para AMOX 2, mantendo constante a relação entre H₂O₂:Fe²⁺ = 10:1 e o pH operacional, que foi de 3,5. Obteve-se 58% de degradação para AMOX 1, e um aumento nessa taxa para 72% para AMOX 2 (Figura 48). Nos estudos de degradação conduzidos por Ay e Kargi (2010) a taxa de remoção de AMOX foi menor que a encontrada nessa pesquisa, trabalhando com as mesmas relações entre o teor de peróxido e teor de carga orgânica, desconsiderando as diferenças de substrato.

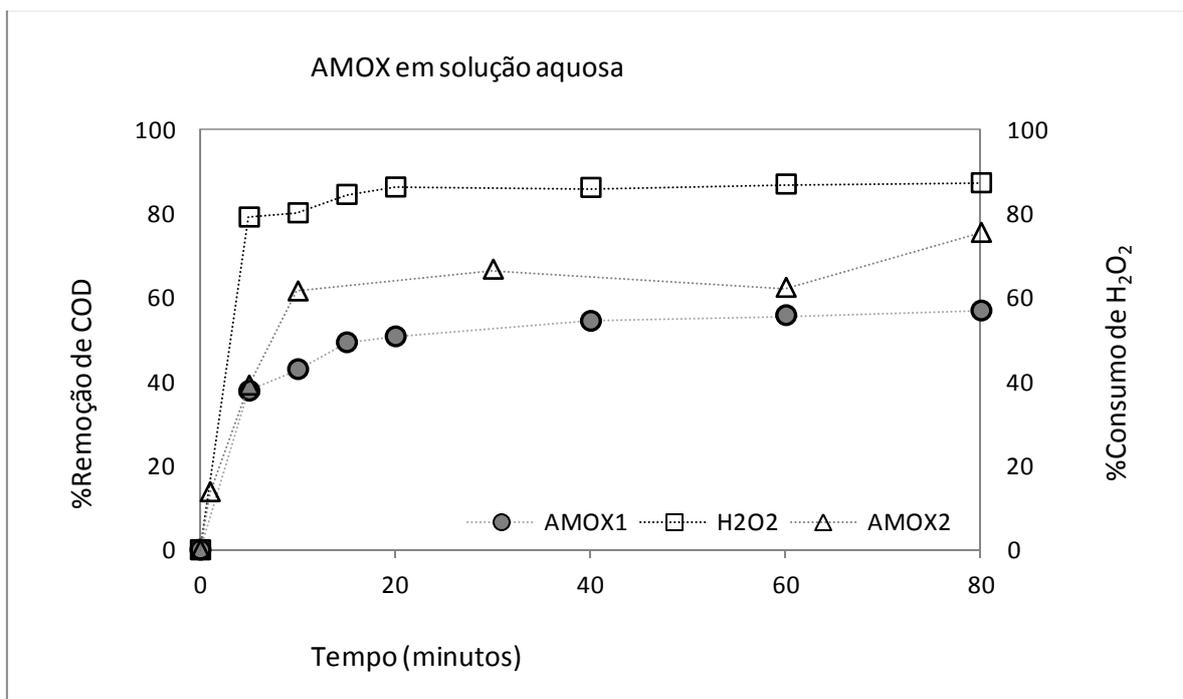


Figura 48: Degradação por Fenton de AMOX = 1,0 g L⁻¹ (COD ≅ 450 mg.L⁻¹)
 Relação entre H₂O₂:C ⇒ (7:1) e (10:7), pH = 3,5,
 estabilização da degradação após 40 minutos de reação.

As curvas de remoção de COD para AMOX 0,5 g.L⁻¹, não indicaram melhorias na degradação, permanecendo as taxas semelhantes ao apresentado na figura 49. O aumento do consumo de peróxido não levou ao aumento significativo de remoção de carga orgânica. Homem e colaboradores (2010) mostraram que a aplicação de altas taxas de H₂O₂ praticamente não afetam as taxas de remoção, sendo que a relação estequiométrica obteve uma remoção de 80% para 80 minutos de reação. Esse dado deve ser considerado, porque o peróxido é um insumo com alto valor agregado.

As lamas formadas durante essas reações de degradação com reagente de Fenton foram coletadas, para identificação de suas características e investigação de sorção de compostos orgânicos, recebendo a denominação de L-POA/AMOX.

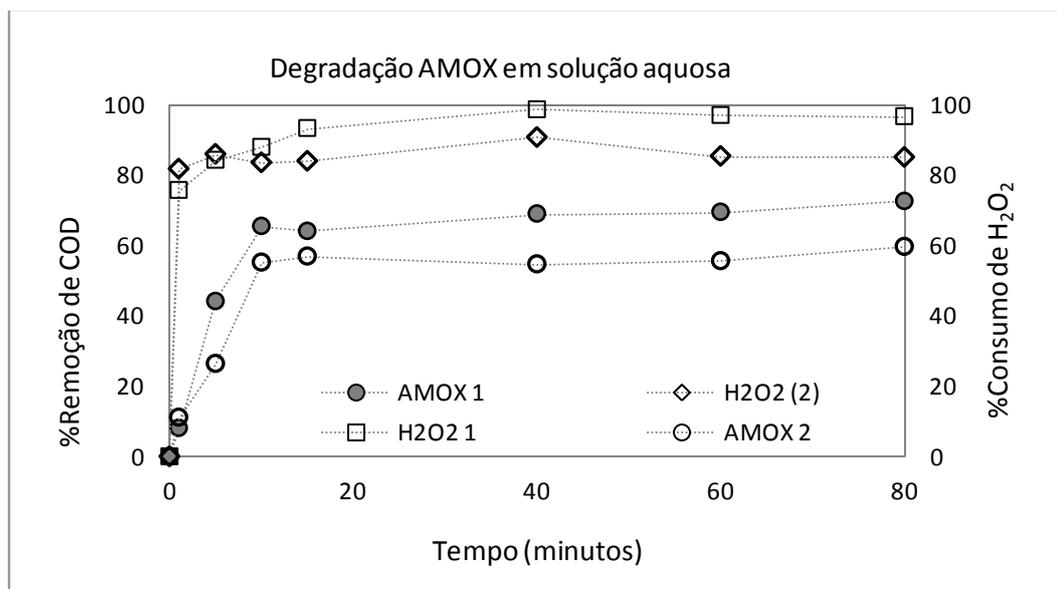


Figura 49: Degradação por Fenton de AMOX = 0,5 g L⁻¹ (COD ≅ 225 mg.L⁻¹)
Relação entre H₂O₂:C ⇒ (7:1) e (14:7), pH = 3,5, estabilização da degradação após 40 minutos de reação

5.4.1.1 Espectros das frações geradas na degradação de amoxicilina com reagente de Fenton

A análise de frações intermediárias e finais dos testes de degradação de AMOX, com reagente de Fenton por espectrometria de massa com eletrospray buscou investigar os produtos de degradação formados na etapa oxidativa.

A fração de degradação utilizando reagente de Fenton, para o tempo de reação de 30 minutos foi analisada por ESI-MS. As curvas da degradação desses ensaios estão apresentadas na figura 50.

A técnica de ESI-MS não possibilita chegar a conclusões com apenas um espectro por amostra, sendo necessário realizar fragmentações dos picos de interesse para assegurar sua identificação. Trabalhos realizados com processos e matrizes semelhantes permitiram realizar um esboço de identificação do espectro ESI-MS para a amostra após degradação oxidativa com reagente de Fenton (NÄGELE E MORITZ, 2005, KLAUSON, 2010, TROVÓ, 2011). Os pesquisadores Nägele e Moritz (2005) propuseram produtos de degradação para AMOX, em ensaios de hidrólise ácida e especificadas na tabela 4. Para as amostras geradas por POA com reagente de Fenton solução de AMOX a 0,5 mg.L⁻¹, os espectros de ESI-MS obtidos, para um tempo de reação 30 min, apresentam pico m/z 384 pode ser atribuído ao ácido penicilínico amoxicilina, e pico m/z/ 338 atribuído ao ácido penilínico amoxicilina, com identificados por Trovó e colaboradores (2011), no estudo de degradação de AMOX com foto-Fenton. Não foi

identificado pico referente à AMOX ($m/z = 365$). A presença dos outros picos não foi investigada, podendo esses ser atribuídos a formação de adutos e outros complexos com os componentes da matriz (Figura 50).

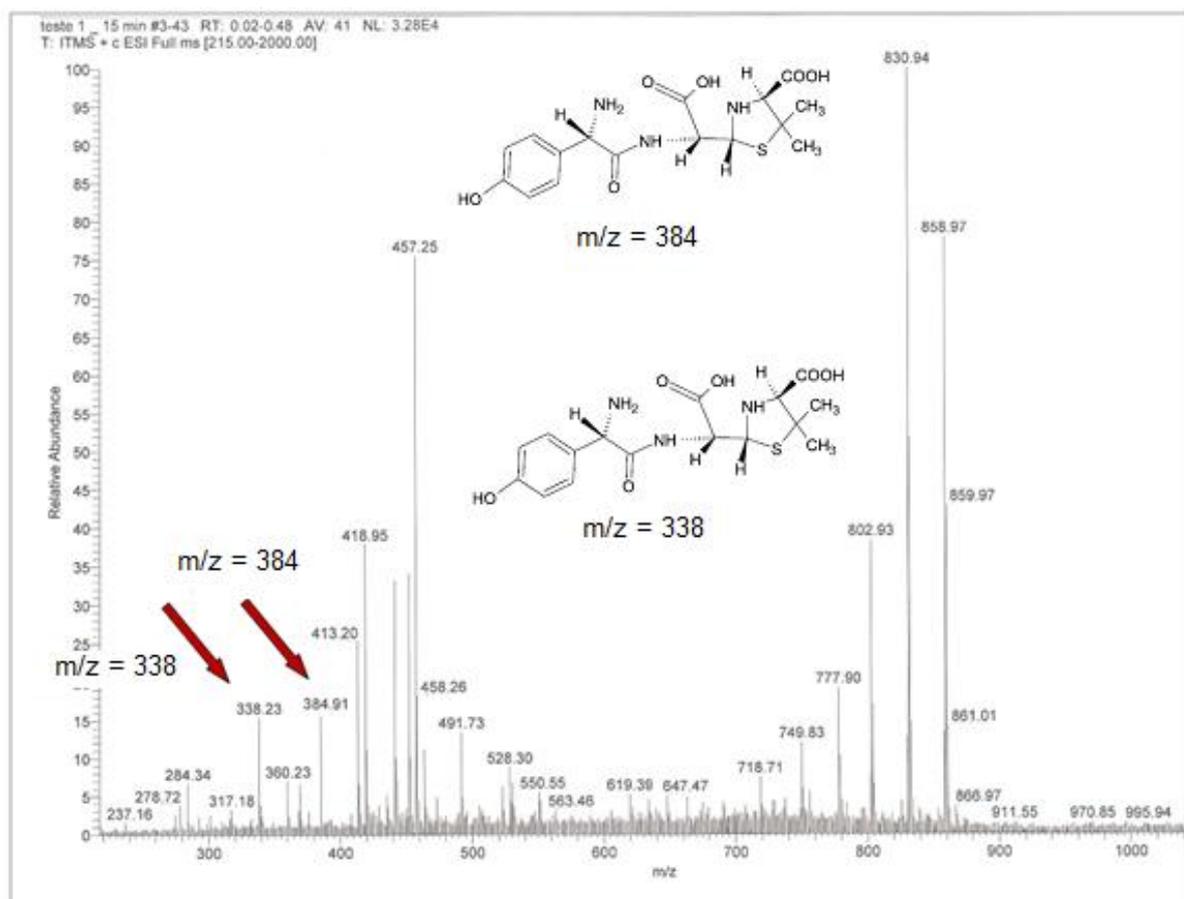


Figura 50: Espectro ESI-MS fração de POA com reagente de Fenton para AMOX = $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, tempo de reação 30 min, com o pico m/z 384 atribuído ao ácido penilóico amoxicilina, e pico m/z 338 atribuído ao ácido penilóico amoxicilina.

O espectro para a alíquota final (tempo = 80 min) do teste de degradação oxidativa com reagente de Fenton mostra um perfil diferente do espectro para tempo = 30 min (Figura 50). Ocorreu uma redução na intensidade dos picos, para as massas acima de $m/z = 460$, e abaixo da relação $m/z = 390$. O pico m/z 457 teve sua intensidade aumentada (Figura 51) em relação ao espectro para o tempo de reação de 30 min.

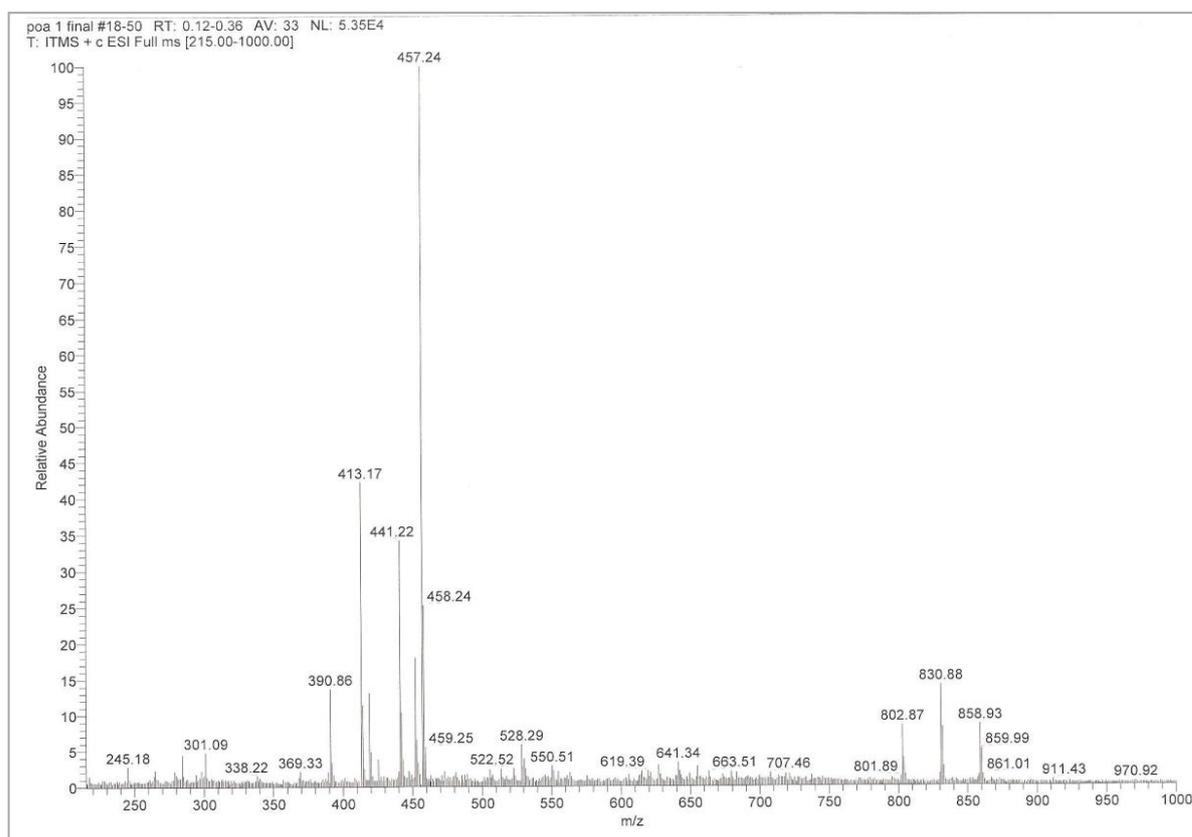


Figura 51: Espectro ESI-MS da fração de POA com reagente de Fenton para solução aquosa de AMOX = 0,5 mg.L⁻¹, tempo de reação 80 min, com redução na intensidade dos picos presentes

Observando o mecanismo proposto por Trovó e colaboradores (2011), apresentado na figura 24, identificou-se a presença de C6, atribuído ao composto C₁₆H₂₂N₃O₇S m/z 400, e a formação de espécies iônicas cationizadas, como C1 após fragmentação, formando C₁₆H₂₁N₃O₆NaS. Com base nesse mecanismo e na presença de íons de ferro, essa pesquisa propõe uma rota para a formação do composto [M+Fe]⁺, presentes em espectros de frações geradas por POA com reagente de Fenton. O mecanismo proposto está indicado na figura 52. O íon ferro reage com o composto C₁₆H₂₂N₃O₇S, formando [C₁₆H₂₂N₃O₇S+Fe], que pode apresentar a relação de massa/carga: m/z = 457. Essa formação pode ser atribuída a formação de complexo de amoxicilina e os íons de ferro presentes na reação.

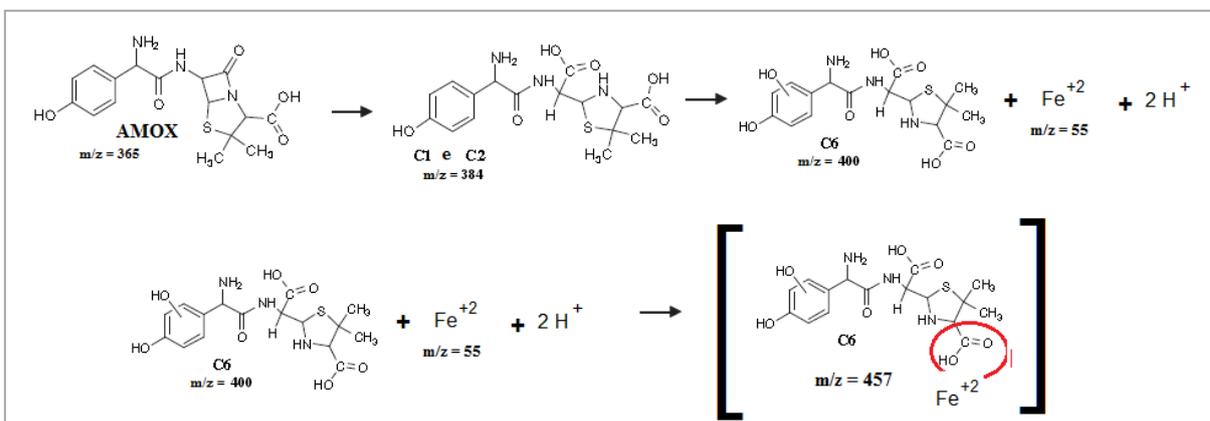


Figura 52: Proposição para identificar o pico m/z 457 apresenta a maior intensidade nos espectros de t = 30 min e t = 80 min de reação de AMOX com reagente de Fenton, pH = 3,5.

5.4.2 Degradação do efluente real (E1) por POA com reagente de Fenton

A carga orgânica encontrada para E1, em termos de COD foi de 1484 mg/L, e para E3 encontrou-se COD = 770 mg/L. Avaliou-se suas degradações com reagente de Fenton, nas condições otimizadas para degradação de solução aquosa de AMOX (ELMOLLA e CHAUDHURI, 2009; AY e KARGI, 2010; HOMEM, *et al.*, 2010).

Os efluentes estudados nessa pesquisa apresentaram comportamento discrepante, tanto no ensaio de degradação com reagente de Fenton como nas concentrações de COD. Foram encontradas diferenças nas características físico-químicas e teor de COD, como apresentado por Mascolo e colaboradores (2010), para os três efluentes que estudaram

Nos testes oxidativos avançados com reagente de Fenton obteve-se, para o efluente E1, coletado no ponto P1, uma taxa de remoção de COD de 36%, podendo indicar a presença de frações refratárias. Para E3, coletado no ponto P1, a taxa de remoção obtida, sob mesmas condições, ficou em 74% de remoção de COD (figura 53). Como o processo de produção é realizado em bateladas, esse tipo de efluente apresenta características físico-químicas bastante diferentes. Em sua pesquisa Melero e colaboradores (2009) obtiveram uma redução de 59% em COT, para um efluente real, com diferentes princípios ativos; sendo este tratado com oxidação catalítica heterogênea com H₂O₂ e óxido de ferro em material mesoestruturado.

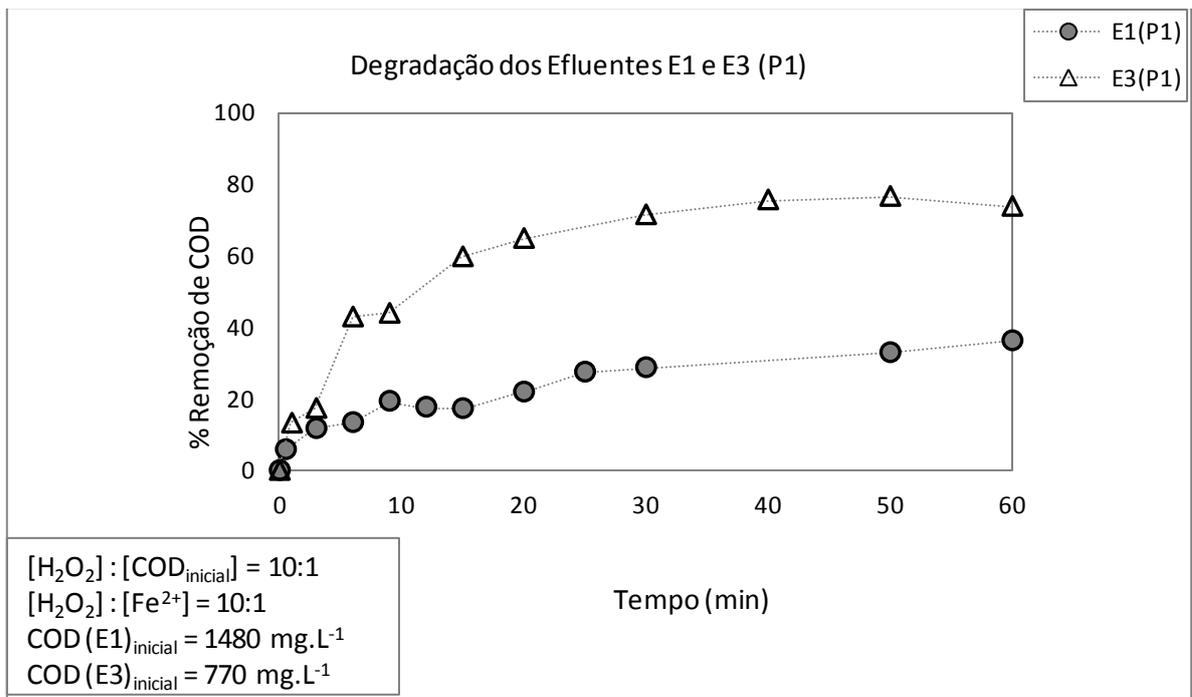


Figura 53: Degradação dos efluentes E1 e E3 (coletados em P1) por POA com reagente de Fenton
relação entre H_2O_2 :COD \Rightarrow 10:1
pH = 3,5,

Para investigar os efluentes gerados nas diferentes etapas do tratamento utilizado na planta de produção de amoxicilina foram realizados ensaios de degradação por processo oxidativo avançado, com reagente de Fenton, com o efluente E3, para os pontos P1 (efluente bruto) e P3 (efluente após acidificação).

Para E3 (coletado em P3) os resultados obtidos indicaram uma remoção de 85% de COD, superior aos valores encontrados para E3 (coletado em P1), que apresentou taxa de remoção de COD = 70% (Figura 54). Os ensaios foram conduzidos a temperatura ambiente, em pH = 3,5, e a relação em H_2O_2 :C foi estabelecida em 7:1, sendo esse valor próximo a relação estequiométrica (equação 9) e H_2O_2 :C = 10:1, para trabalhar com 40% de excesso de peróxido.

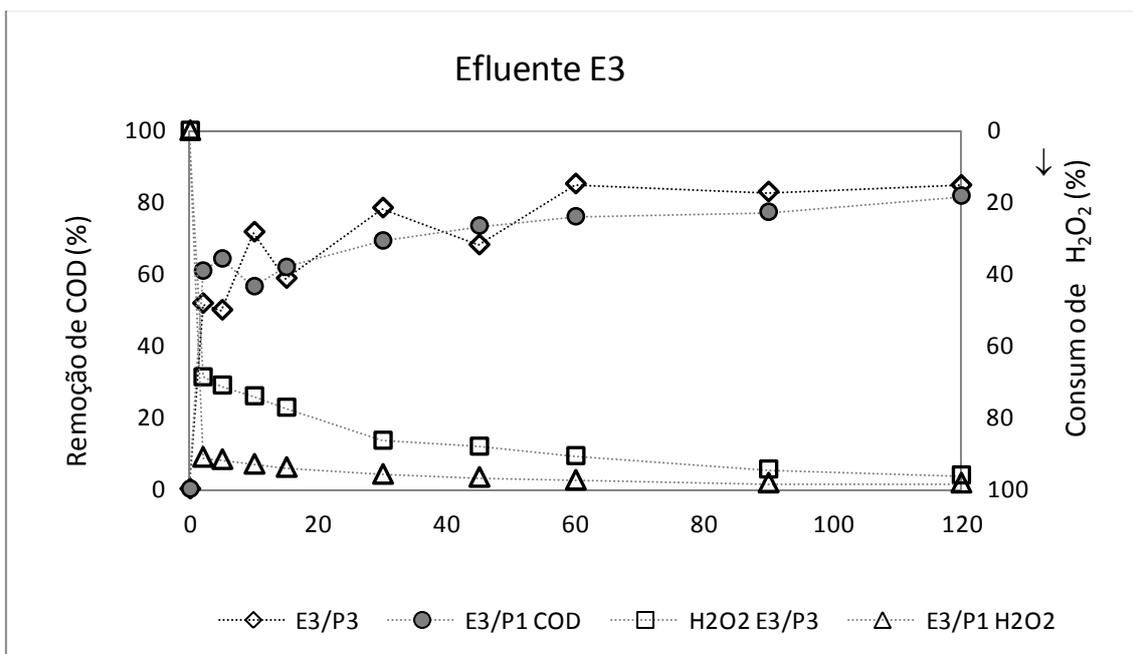


Figura 54: Degradação do efluente E3 com reagente de Fenton E3, antes e depois do tratamento físico-químico E3/P1 \Rightarrow COD \cong 190 mg.L⁻¹, e E3/P3 \Rightarrow COD \cong 205 mg.L⁻¹ após diluição, relação entre H₂O₂:C \Rightarrow (7:1), pH = 3,5, consumo de H₂O₂ no eixo à direita, em escala inversa

5.4.3 Investigação das características da lama gerada durante POA-Fenton

Após realização de ensaios de degradação de AMOX com reagente de Fenton, observou-se a formação de lama, em pH \cong 3,5 antes da etapa de neutralização. Em uma bateria de ensaios de degradação de AMOX em solução aquosa, denominada POA-4, todas as lamas geradas foram recolhidas para sua caracterização. Foram investigadas as características físicas e químicas desse material, e a quantificação de COT, e analisado por espectroscopia Raman.

Os testes de POA com reagente de Fenton realizados para estudos de sorção de AMOX na lama formada foram conduzidos nas seguintes condições:

- AMOX = 1,0 g.L⁻¹
- pH operacional = 3,5
- Relação H₂O₂:C = 7:1, para AMOX
- Relação H₂O₂:Fe²⁺ = 10:1
- COD_{inicial} = 408,8 mg.L⁻¹
- COD_{final} = 170,8 mg.L⁻¹
- Taxa de remoção: 58%

5.4.3.1 Determinação de Carbono orgânico total

Nas amostras de lama L-POA/AMOX encontrou-se 25,35 mg.g⁻¹ de carbono orgânico, indicando uma pequena sorção do princípio ativo da amoxicilina, no material formado durante a reação de degradação. O valor de COD médio inicial e final dos testes de POA com reagente de Fenton foi de COD_{inicial} = 408,8 mg.L⁻¹ e COD_{final} = 170,3 mg.L⁻¹, com taxa de remoção situando-se em 58% (Figura 48). O COT removido pelos testes foi de COT_{médio} = 238 mg.L⁻¹, e fazendo um balanço de massas do teste encontrou-se a taxa de remoção para COT_{sólidos} em 10,65% e CT_{sólidos} em 14,92%. Os compostos sorvidos podem ser amoxicilina e produtos de degradação formados no teste de POA com reagente de Fenton. Os dados estão apresentados na tabela 16.

Tabela 16: Teor de Carbono orgânico adsorvido na lama pós-POA e taxa de remoção de COT

COT removido mg.g⁻¹	COT sólido mg.g⁻¹	CT sólido mg.g⁻¹	CI sólido mg.g⁻¹
238	25,35	35,50	10,15
Taxa de remoção de COT no processo			
58 %	10,65%	14,92	4,27%

Esses dados podem indicar que o tratamento por POA com reagente de Fenton estaria associado, em parte, à mudança de fase da AMOX e seus produtos de degradação formados no processo. Isso torna a disposição adequada dessa lama uma etapa essencial do processo de tratamento deste tipo de efluente.

5.4.3.2 Determinação da área superficial específica

A área Superficial específica encontrada para a lama foi igual a ASE = 150,6 m² g⁻¹. Comparando com adsorventes tradicionais, como carvão ativado que possui área superficial média equivalente a ASE = 850 m² g⁻¹, a área não está muito alta, mas as características do material formado podem contribuir para o processo de sorção de AMOX, durante a etapa oxidativa do tratamento.

5.4.3.3 Espectrometria de Difração de Raios-X

As fases identificadas na determinação por difração de raios-X (figura 55) foram goethita (α -FeOOH) e lepidocrocita (γ -FeOOH), com menor grau de cristalinidade, e fases amorfas,

indicadas pela presença do domo de amorfização no difratograma, nas amostras L-POA/AMOX.

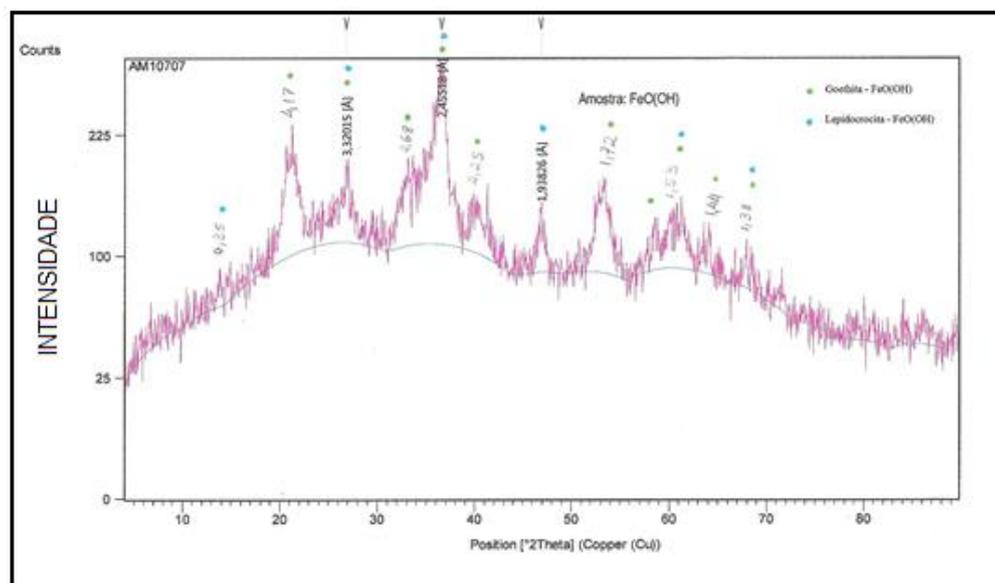


Figura 55: Difratograma de Raios-X da amostra de lama gerada durante a etapa de degradação com reagente de Fenton, pH = 3,02, antes da neutralização

A formação de goethita (FeOOH) no processo de degradação com reagente de Fenton e a identificação de materiais orgânicos sorvidos em sua superfície pode caracterizar mudança de fase da AMOX e de seus produtos de degradação. Extrapolando para o lançamento de resíduos excretados pelos animais tratados com AMOX, esses são amplamente utilizados como fertilizantes em agricultura, podendo, então, levar AMOX para os solos. E sendo a goethita (FeOOH) uma das formas de óxido de ferro bastante frequentes nos solos brasileiros, esses antibióticos podem passar por processo de sorção ou serem carregados para os cursos d'água, levando a um aumento e disseminação de sua presença no meio ambiente (HIRSCH *et al.*, 1999; SARMAH, *et al.*, 2006, SEIFRTOVÁ, *et al.*, 2009).

5.4.3.4 Distribuição granulométrica

As distribuições granulométricas da lama L-POA/AMOX apresentaram partículas muito finas, com 99% abaixo de 50 μm (Figura 56). Isso pode ser um indicativo de problemas operacionais em uma implantação, em escala real, do tratamento. A sedimentação desse material antes do descarte poderá acarretar longo tempo ou a necessidade de uso de coagulantes químicos.

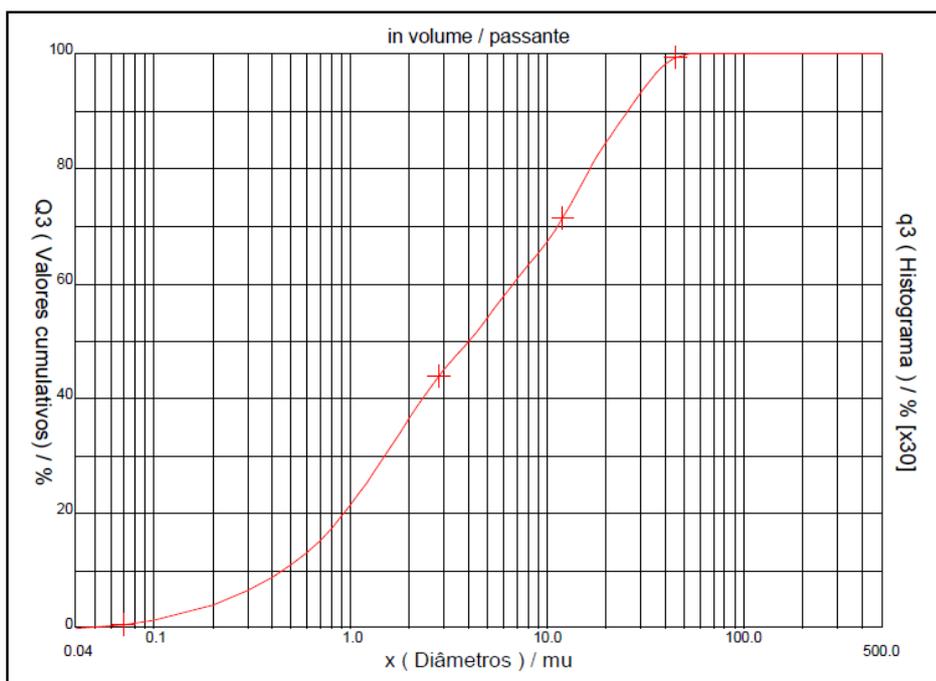


Figura 56: Gráfico da distribuição granulométrica da lama formada durante a etapa de degradação com reagente de Fenton, pH = 3,02, antes da neutralização

5.4.3.5 Espectrometria por espalhamento de luz Raman

A difração por Raios-X da lama L-POA/AMOX identificou a presença de goethita. As amostras foram analisadas por espectrometria de espalhamento de luz Raman, visando identificar os minerais formadores da lama, assim como a presença de compostos orgânicos sorvidos na superfície.

A figura 57 mostra um espectro de goethita padrão, sintetizada em laboratório, e foi utilizada para caracterizar os espectros obtidos na L-POA/AMOX. Os picos identificados, de maior intensidade, para a goethita são 309 cm^{-1} , 385 cm^{-1} , 482 cm^{-1} e 548 cm^{-1} . Nas áreas investigadas da lama L-POA/AMOX identificou-se picos próximos aos apresentados pela goethita, como os picos 299 cm^{-1} , 388 cm^{-1} , 472 cm^{-1} e 551 cm^{-1} , com pequeno deslocamento, decorrente da estrutura amorfa da lama em estudo (Figura 58), confirmando os resultados encontrados pela Difração de Raios-X.

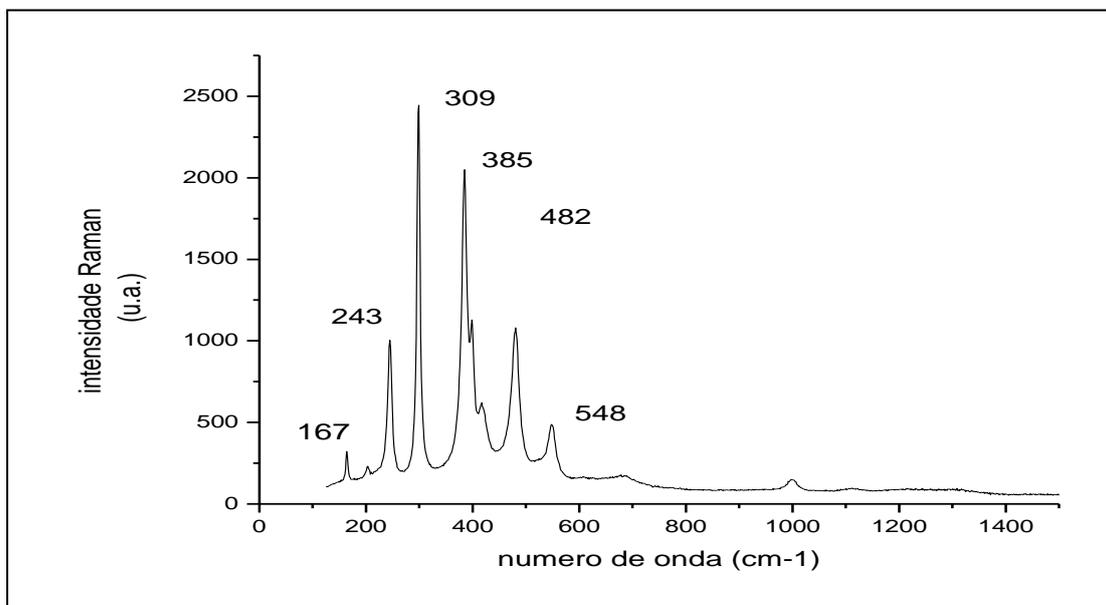


Figura 57: Espectro de uma Goethita padrão, sintetizada em laboratório.

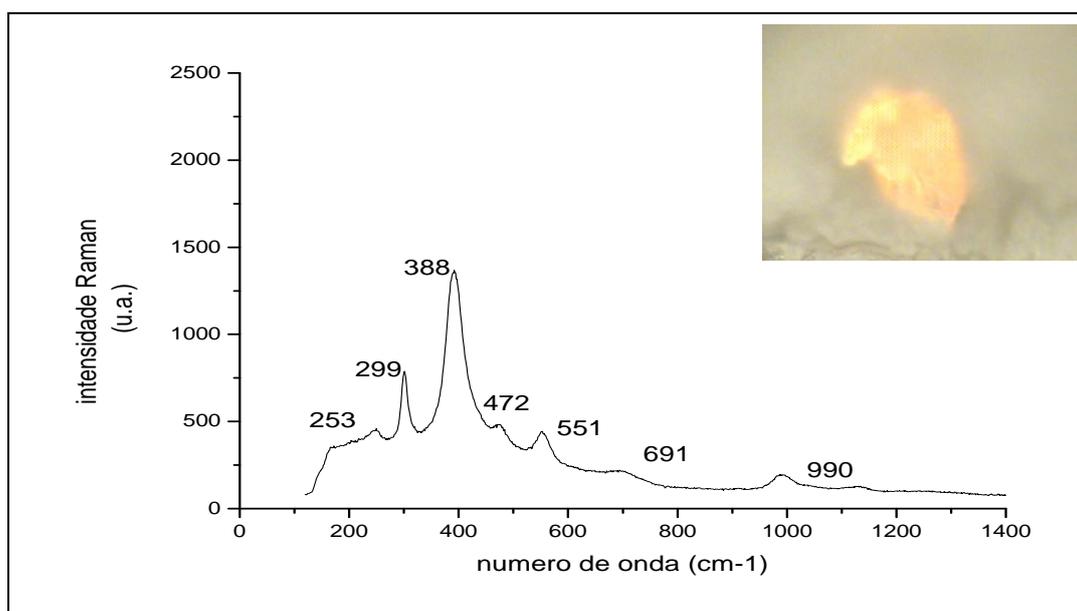


Figura 58: Espectro Raman de L-POA/AMOX, com bandas de absorção em números de onda semelhante às encontradas para a goethita. Ocorrência de área amarelado brilhante (foto em detalhe)

Para a identificação de estruturas por Raman utilizou-se as bandas de absorção características de grupamentos funcionais, como mostrados na tabela 17 associado aos átomos da estrutura da AMOX identificados na figura 29. Uma correlação entre as bandas de amostras padrão e os espectros de interesse possibilitaram sua identificação.

Tabela 17: Bandas características da Amoxicilina, na espectroscopia Raman (parcial)

Número de ondas teóricas (cm^{-1})	Número de ondas identificadas no espectro da lama (cm^{-1})	Banda analisada
416	400	No plano, anel 1, deformação + flexão δ
972	995	Flexão $\delta(\text{CH})$ + estiramento $\nu(\text{C16NH}_2)$ + flexão $\delta(\text{C15C16NH}_2)$
1259	1121	Estiramento $\nu(\text{C24OH})$ + flexão $\delta(\text{CH anel 2})$
1304	1348	Flexão $\delta(\text{CH})$ + flexão $\delta(\text{NH})$ + flexão $\delta(\text{CH anel 2})$ + deformação do anel 2 no plano
1374		Torção $\tau(\text{N19H}_2)$ + flexão $\delta(\text{C16H})$
1610	1603	Estiramento $\nu(\text{CC anel 2})$ + flexão $\delta(\text{N19H})$

Fonte: BEBU *et al.*, 2010

Para identificar a ocorrência de adsorção da AMOX na lama comparou-se as bandas de maior intensidade nos espectros gerados com parte das bandas características de absorção da espectroscopia Raman, mostradas na tabela 17. A banda de absorção em 1348 cm^{-1} foi atribuída a flexão do grupo CH associada com flexão do grupamento NH (N 10) e do grupamento CH ligado ao anel 2, da molécula de amoxicilina (valor teórico: 1355 cm^{-1}).

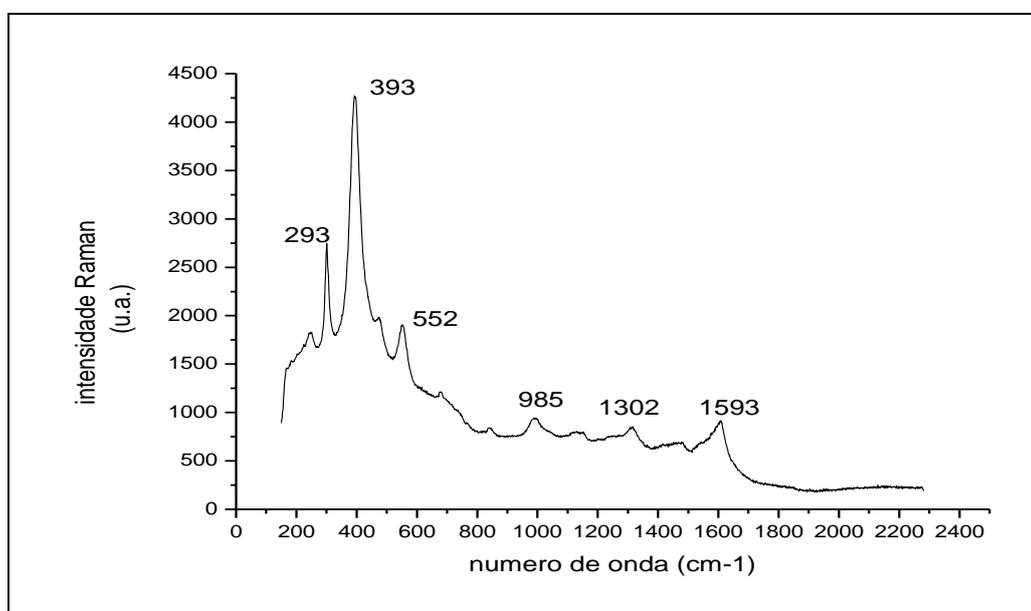


Figura 59: Espectro Raman da lama L-POA-AMOX, com varredura entre 200 cm^{-1} e 2000 cm^{-1} , com os picos 985 cm^{-1} , 1302 cm^{-1} , 1593 cm^{-1}

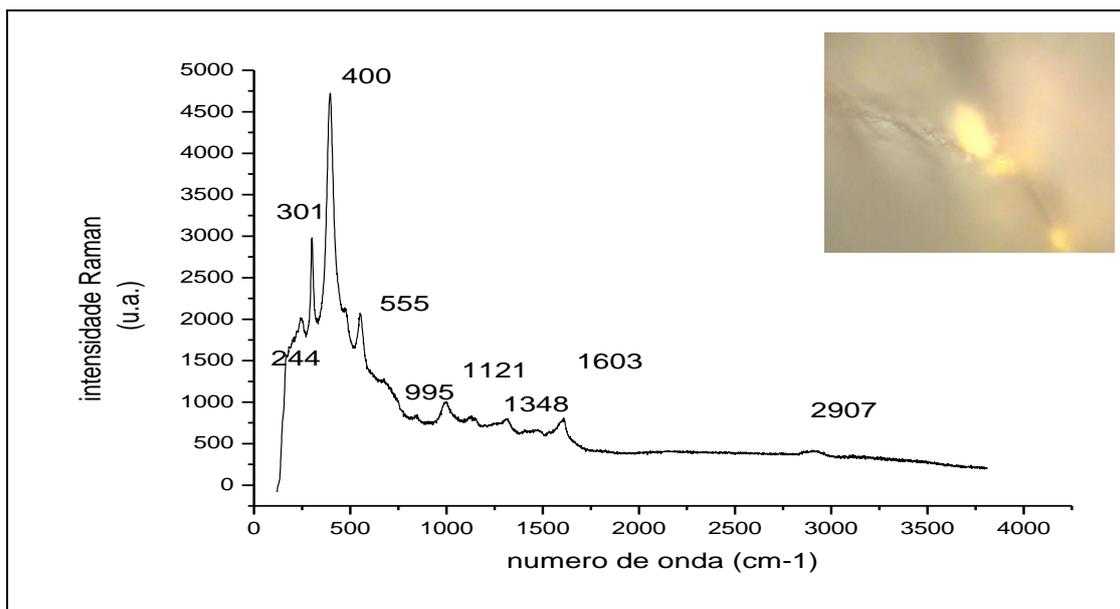


Figura 60: Espectro Raman do Ensaio POA-4, amostra 6, área com ponto brilhante amarelado (foto em detalhe), varredura do espectro entre 200 e 3500 cm^{-1}

Como a sorção de compostos zwitteriônicos são dependentes do pH, Peterson e colaboradores (2009) estudaram a sorção de cefapirina em 4 faixas de pH. Desse modo, foi estabelecida uma correlação entre a adsorção de AMOX e a cefapirina, na faixa ácida estudada, uma vez que, na presente pesquisa a lama foi gerada em pH ácido. Uma banda de absorção forte, em 1597 cm^{-1} , pode ser atribuída ao estiramento assimétrico de COO^- , decorrente da dissociação do ácido carboxílico, também identificado nos espectros da lama com um deslocamento, 1593 cm^{-1} (figura 59) e 1603 cm^{-1} (figura 60). Bandas referentes ao estiramento de CH_2 ocorreram em 1294/1258/1224 cm^{-1} , com a presença desses picos triplos no espectro da L-POA-AMOX, que apareceram, em baixa intensidade, entre 1348 e 1121 cm^{-1} . Essa caracterização pode indicar que ocorreu uma pequena sorção da amoxicilina na lama formada durante a etapa de oxidação com reagente de Fenton.

5.4.3.6 Sorção da amoxicilina na lama

As etapas de identificação da lama formada indicam que pode ter ocorrido sorção de AMOX na lama gerada durante a etapa oxidativa com reagente de Fenton, podendo a sorção ser um dos mecanismos de remoção de AMOX no processo de degradação.

O material foi identificado como goethita, possuindo características adsorptivas altas (LADEIRA *et al*, 2004) conforme identificado em um estudo de adsorção de arsênio. Nesse trabalho a goethita possuía área superficial equivalente a $\text{ASE} = 12,7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, inferior ao valor

encontrada para a lama em estudo, equivalente a $ASE = 150,6 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Isso pode ser um indicativo de sua capacidade de sorção. As investigações da etapa de sorção em processos oxidativos avançados utilizando reagente de Fenton devem ser realizadas, buscando a caracterização das lamas e a presença de compostos sorvidos.

Os resultados de COT na lama e os espectros Raman podem indicar que a presença de compostos orgânicos na superfície da lama seria um dos mecanismos de remoção de AMOX durante o processo oxidativo avançado com reagente de Fenton.

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Essa pesquisa investigou diferentes processos para tratamento de efluentes da indústria farmacêutica, buscando estabelecer parâmetros de contorno. Algumas conclusões advêm desse trabalho, levando às recomendações que serão apresentadas.

Para o estudo de biodegradabilidade pode-se concluir que:

- Os ensaios realizados por testes Zanh-Wellens utilizando inóculos de 2 sistemas de tratamento diferentes mostraram resultados muito discrepantes, tanto para solução aquosa de amoxicilina como para os efluentes reais e efluentes enriquecidos, trabalhando com os dois inóculos sem aclimatação;
- A degradação da amoxicilina com o inóculo oriundo de ETEI foi menor, com remoção de 55% da carga orgânica. Com o inóculo da ETE essa degradação foi de 80% de remoção de carga orgânica, o que indicaria sua biodegradabilidade.
- Os efluentes apresentaram respostas diferentes para os dois inóculos, apresentando uma melhor remoção para o inóculo de origem industrial;
- O enriquecimento dos efluentes indicou que a biodegradabilidade da amoxicilina pode ser mascarada pela matriz do efluente;
- Apesar da característica biodegradável da amoxicilina e dos efluentes da unidade de penicilâmicos, a adoção de tratamento biológico deve ser cuidadosa, para minimizar o desenvolvimento de bactérias resistentes.

Para o estudo de degradação com reagente de Fenton pode-se concluir que:

- A degradação da amoxicilina apresentou taxa de remoção entre 60% e 75%; com tempo de reação de 60 min, 80 min e 120 min. A relação entre COD e ferro em solução foi estabelecida em $[\text{COD}]:[\text{Fe}^{+2}] = 10:1$, e para a relação entre COD e peróxido de hidrogênio trabalhou-se com $[\text{COD}]:[\text{H}_2\text{O}_2] = 1:7, 1:10$ e $1:14$
- Na análise de produtos intermediários por ESI-MS, em frações do POA da AMOX, foi possível identificar o ácido penicilóico amoxicilina, e o ácido penilóico amoxicilina;
- Os efluentes apresentaram características discrepantes, indicando diferenças inerentes ao processo em batelada utilizado pela indústria. O efluente E1 (coletado no ponto P1) mostrou-se mais refratário à degradação, com 40% de remoção de COD, enquanto que efluente E3 (coletado no ponto P1) obteve 60% de remoção;

- Ocorreu a formação de lama durante a etapa oxidativa, com sorção de substância orgânica (amoxicilina e seus produtos de gradação), caracterizada pelo teor de carbono orgânico na lama, e a identificação de sítios de adsorção, através de espectroscopia Raman;

Em vistas das conclusões, novos trabalhos poderão ser realizados, como:

- Avaliar outras relações de $H_2O_2:C:Fe^{2+}$, para minimizar a geração de lama, e obter menor consumo com maior taxa de degradação;
- Investigar a toxicidade dos efluentes e frações geradas nas reações oxidativas;
- Realizar o monitoramento dos intermediários formados ao longo da biodegradabilidade, associado a ensaios de toxicidade aguda e crônica;
- Estudar os efeitos individuais de cada intermediário sobre a comunidade bacteriana, para estabelecer uma escala de contribuição de cada um deles;
- Investigar os efeitos ecotóxicos causados por diferentes concentrações dos intermediários e metabólitos nos diferentes tratamentos utilizados, sobre diferentes organismos aquáticos e terrestres. Assim será possível obter dados sobre o sinergismo e efeitos adicionais, metabolismo, dispersão, e bioacumulação nos organismos;
- Implantar o sistema de tratamento em escala piloto, acompanhando o processo de tratamento, com a caracterização dos metabólitos e produtos de degradação por MS-ESI;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do antibiótico nas frações após os ensaios de degradação com Fenton;
- Investigar a adsorção nos inóculos utilizados nos ensaios de biodegradação;
- Investigar a adsorção e desorção da amoxicilina em hidróxidos de ferro e argilas, minerais formadores do solo brasileiro.

7 REFERÊNCIAS

ALATON, A., GURSES, F., Photo-Fenton and photo-Fenton-like oxidation of Procaine Penicillin G formulation effluent. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v 165, p 165-175, 2004

ALEXY, R., KÜMPEL, T, KÜMMERER, K., Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test, *Chemosphere*, v. 57, p. 505- 512, 2004.

ALVES, J. F., *Aplicação do reagente de Fenton no tratamento de líquidos lixiviados de aterros sanitários*. (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 118 p., 2004

AMARAL, M. C. S., *Tratamento de efluente de branqueamento de pasta celulósica empregando sistema de microfiltração conjugado com biorreator de membrana*. (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 339 p., 2009

AMORIM, C. C., *Avaliação do uso de resíduos da indústria siderúrgica na descolorização de efluentes têxteis através de processos oxidativos avançados*. (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 86 p., 2007

AMORIM, C. C., *Utilização de resíduo do despoejamento do alto forno para tratamento de efluentes*. (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 170 p., 2010

ANDREOZZI, R.; CANTERINO, M.; MAROTTA, R.; PAXEUS, N; Antibiotic removal from wastewaters: The ozonation of amoxicillin. *Journal of Hazardous Materials*, v. 122, p 243–250, 2005

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; CINIGLIA, C.; CHAMPDOREÃ, M.; GIUDICE, R. L.; MAROTTA, R.; ZUCCATO, E.; Antibiotics in the Environment: Occurrence in Italian STPs, Fate, and Preliminary Assessment on Algal Toxicity of Amoxicillin. *Environmental Science & Technology*, v. 38, n. 24, p. 6832-6838, 2004

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária: (<http://portal.anvisa.gov.br/>), pesquisado em 30 de outubro de 2010.

APHA; AWWA; WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Edition. American Public Health Association, USA, 2005.

ARSLAN-ALATON, I., GURSES, F., Photo-Fenton-like and photo-fenton-like oxidation of Procaine Penicillin G formulation effluent. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*,v. 165, p. 165-175, 2004

ATLAS of Eh-pH DIAGRAMS - Intercomparison of thermodynamic databases. Geological Survey of Japan Open File Report No.419 National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. Research Center for Deep Geological Environments. Naoto TAKENO, p. 287, 2005

AY, F.; KARGI, F.; Advanced oxidation of amoxicillin by Fenton's reagent treatment *Journal of Hazardous Materials*, v. 179, p. 622–627, 2010

- BAGGALEY, K.H.; BROWN, AG.; SCHOFIELD, C.J. Chemistry and biosynthesis of clavulanic acid and others clavams. *Natural Product Reports*, v.14, n. 4, p.309-333, 1997
- BALCIOGLU, I. A., ÖTKER, M. Treatment of pharmaceutical wastewater containing antibiotics by O₃ and O₃/H₂O₂ processes, *Chemosphere*, v. 50, n. 1, p. 85- 95, 2003.
- BEAUSSE, J.; Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 23, n. 10–11, p. 753-761, 2004
- BEBU, A., SZABÓ, L., LEOPOLD, N., BERINDEAN, C., DAVID, L., IR, Raman, SERS and DFT study of amoxicillin, *Journal of Molecular Structure* (2010), doi: [10.1016/j.molstruc.2010.11.067](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2010.11.067)
- BOLONG, N., ISMAILA, A. F.; SALIMB, M.R.; MATSUURA, T.; A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*, v. 239, p. 229–246, 2009
- BOXALL, A. B. A., KOLPIN, D. W., HALLING-SØRENSEN, B., TOLLS, J., Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environmental Science & Technology*, p 286-294, 2003
- CALGON CARBON – informação técnica sobre carvão ativado. Acesso em 28 de novembro de 2010, Disponível em: <http://www.calgoncarbon.com/>
- CASTIGLIONI, S., FANELLI, R., CALAMARI, D., BAGNATI, R., Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 39, p. 25-32, 2004.
- COELHO, A. D., *Degradação dos antiinflamatórios diclofenaco, ibuprofeno e naproxeno por ozonização*. (Doutorado no Programa de Engenharia Química - COPPE). – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 69 p., 2008
- COKGOR, E. U., ALATON, I. A., KARAHAN, O., DOGRUEL, S., ORHON, D., Biological treatability of raw and ozonated penicillin formulation effluent. *Journal of Hazardous Materials*, v. B116, p 159-166, 2004.
- DALMÁZIO, I., *Aplicação da Espectrometria de Massas com ionização com electrospray no monitoramento de processos oxidativos avançados de interesse ambiental. Degradação de fármacos, avaliação de sistemas oxidativos e oxidação do isopreno*. (Doutorado no Departamento de Química). – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 139 p., 2007
- ELANDER, R.P. Industrial production of beta-lactam antibiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.61, p.385-392, 2003.
- ELMOLLA, E., CHAUDHURI, M.; Optimization of Fenton process for treatment of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution *Journal of Hazardous Materials*, v. 170, p. 666–672, 2009.
- EPA 712-C-98-084 – Fate, transport and Transformation Test Guidelines. OPPTS 835.3200 Zanh-Wellens/EMPA Test. 1998

- FARRÉ, M. L., PÉREZ, S., KANTIANI, L., BARCELÓ, D.; Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 27, n. 11, p. 991-1007, 2008.
- FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, v. 76, p. 122-159, 2006.
- FIGUEROA, R. A.; LEONARD, A.; MACKAY, A. A.; Modeling Tetracycline Antibiotic Sorption to Clays. *Environmental Science & Technology*, v. 38, p. 476-483, 2004.
- FIGUEROA-DIVA, R. A.; VASUDEVAN, D; MACKAY, A. A.; Trends in soil sorption coefficients within common antimicrobial families. *Chemosphere*, v. 79, p.786–793, 2010.
- GARTISER, S., URICH, E., ALEXY, R., KÜMMERER, K., Ultimate biodegradation and elimination of antibiotics in inherent tests, *Chemosphere*, v. 67, p. 604-613, 2007
- GARCÍA-GALÁN, M. J., DÍAZ-CRUZ, M. S., BARCELÓ, D., Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. *Trends in Analytical Chemistry*, v 27, n11, p 1008-1022, 2008.
- GUHL, W., STEBER, J., The value of biodegradation screening test results for predicting the elimination of chemicals organic carbon in waste water treatment plants. *Chemosphere*, v. 63, p. 9–16, 2006.
- GÖBEL, A., THOMSEN, A., MCADELL, C. S., JOSS, A., Occurrence and Sorption Behavior of Sulfonamides, Macrolides, and Trimethoprim in Activated Sludge Treatment. *Environmental Science and Technology*, v. 39, p. 3981-3989, 2005
- HALLING-SØRENSEN, B., NIELSEN, N. S., LANZKY, P. F., INGERSLEV, F. , H. LÜTZHØFT, C. H., JØRGENSEN,S. E., Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A review. *Chemosphere*, v.36, n.2, p.357-394, 1998.
- HIRATA, D. B., *Precipitação do clavulanato de potássio a partir do ácido clavulânico presente no caldo de fermentação.* (Doutorado, Engenharia Química) Universidade Federal de São Carlos, 175p, 2008.
- HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZB, K-L., Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, v. 225, p.109-118, 1999.
- HOMEM, V., ALVES, A., SANTOS, L.; Amoxicillin degradation at ppb levels by Fenton's oxidation using design of experiments. *Science of the Total Environment*, v. 408 p. 6272–6280, 2010.
- JOHNSON, A. C., SUMPTER, J. P., Removal of Endocrine-Disrupting Chemicals in Activated Sludge Treatment Works. *Environmental Science Technology*, v. 35, p. 4697-4703, 2001.
- KASPRZYK-HORDERN, B., Pharmacologically active compounds in the environment and their chirality. *Chemical Society Reviews*, v. 39, p. 4466–4503,2010.
- KATSOYIANNIS, I. A., ZOUBOULIS, A. I., Removal of Arsenic from Contaminated Water Sources by Sorption onto Iron-oxide-coated Polymeric Materials, *Water Research*, v.36, p. 5141-5155, 2002

KLAUSON, D., BABKINA, D.; STEPANOVA, K., KRICHEVSKAYA, M.; PREIS, S.; Aqueous photocatalytic oxidation of amoxicillin. *Catalysis Today*, v. 151, p. 39–45, 2010

KRAUSE, L. G., *Degradação do Antibiótico Sulfametoxazol por Ozonização e Avaliação da Atividade Antibacteriana*. (Doutorado no Programa de Engenharia Química - COPPE). – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 69 p., 2009

KÜMMERER, K., Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*, v 75, p 417-434, 2009a

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

LADEIRA, A. C. Q., CIMINELLI, V. S. T., Adsorption and desorption of arsenic on oxisol and its constituents. *Water Research*, v. 38, p. 2087-2094, 2004

LANGE, L. C.; ALVES, J. F.; AMARAL, M. C. S.; MELO JUNIOR, W. R.; Tratamento de Lixiviado de Aterro Sanitário por Processo Oxidativo Avançado empregando reagente de Fenton. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v 11, n. 2, p 175-183, 2006

LARSSON, D. G. J.; de PEDRO, C.; PAXEUS, N.; Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *Journal of Hazardous Materials*, v.148, p 751-755, 2007

LI, D.; YANGA, M.; HUB, J.; ZHANGA, Y.; CHANGB, H.; JINB,F.; Determination of penicillin G and its degradation products in a penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. *Water Research*, v. 42, p. 307–317, 2008.

LONGHIN, S. R., *Estudo de degradação dos antibióticos beta-lactêmicos amoxicilina e ampicilina e avaliação da toxicidade e biodegradabilidade dos seus produtos*. (Doutorado no Instituto de Química) Universidade de Brasília, 154 p., 2008.

MARQUES, D. A. V., *Produção e extração de ácido clavulânico de Streptomyces spp. por fermentação extrativa utilizando sistemas de duas fases aquosas*. (Doutorado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo 159p., 2010.

MASCOLO, G. BALEST, L., CASSANO, D., LAERA, G., LOPEZ, A., POLLICE, A., SALERMO, C., Biodegradability of pharmaceutical industrial wastewater and formation of recalcitrant organic compounds during aerobic biological treatment. *Bioresource Technology*, v. 101, p 2585-2591, 2010.

MELERO, J. A., MARTÍNEZ, F., BOTAS, J. A., MOLINA, R., PARIENTE, M. I.; Heterogeneous catalytic wet peroxide systems for the of na industrial pharmaceutical wastewater. *Water Research*, v. 43, p. 4010–4018, 2009.

Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio, acesso em julho de 2010, através do endereço: <http://www.aliceweb.gov.br>

MORAVIA, W. G., *Estudos de caracterização, tratabilidade e condicionamentos de lixiviados visando tratamento por lagoas*. (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e

Recursos Hídricos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 161 p., 2007

MORAVIA, W. G., *Avaliação do tratamento de lixiviado de aterro sanitário através de processo oxidativo avançado conjugado com sistema de separação por membranas*. (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 237 p., 2010

NÄGELE, E., e MORITZ, R., Structure Elucidation of Degradation Products of the Antibiotic Amoxicillin with Ion Trap MSⁿ and Accurate Mass Determination by ESI TOF. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, v 16, n 10, p 1670-1676, 2005.

NOGUEIRA, R. P., TROVÓ, A. G., SILVA, M. R. A., VILLA, R. D., OLIVEIRA, M. C., Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. *Química Nova*, v. 30, n 2, p. 400-408, 2007

ONESIOS, K. M., YU, J. T., BOUWER, E. J., Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. *Biodegradation*, v. 20, p. 441-466, 2009.

PALMEIRA FILHO, P. L., PAN, S. S. K., Cadeia farmacêutica no Brasil: Avaliação preliminar e perspectivas. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 18, p. 3-22, 2003

PERUZZO, L. C., *Influência de agentes auxiliares na adsorção de corantes de efluentes da indústria têxtil em Colunas de Leito Fixo*. (Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 80 p., 2003

PETERSON, J. W., O'MEARA, T. A., SEYMOUR, M. D., WANG, W., GU, B., Sorption mechanisms of cephalosporin, a veterinary antibiotic, onto quartz and feldspar minerals as detected by Raman spectroscopy. *Environmental Pollution*, v. 157, p. 1949-1856, 2009.

The PubChem Compound Database, National Center for Biotechnology Information, Acesso em outubro de 2010 e janeiro de 2011: Disponível em: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

RICHARDSON, M. L., BOWRON, J. M., The fate of pharmaceutical chemicals in the environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 37, p. 1-12, 1985

SACHER, F., LANGE, F.T., BRAUCH, H-J., BLANKENHORN, I., Pharmaceuticals in groundwaters analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Wurttemberg, Germany. *Journal of Chromatography A*, v. 938, p. 199–210, 2001.

SANDERSON, H, THOMSEN, M., Comparative analysis of pharmaceuticals versus industrial chemicals acute aquatic toxicity classification according to the United Nations classification system for chemicals. Assessment of the (Q)SAR predictability of pharmaceuticals acute aquatic toxicity and their predominant acute toxic mode-of-action. *Toxicology Letters*, v. 187, n. 2, p. 84-93, 2009.

SANZ, J., LOMBRANA, J. I., DE LUIS, A. M., ORTUETA, M., VERONA, F., Microwave and Fenton's reagent oxidation of wastewater. *Environmental Chemistry*, v. 1, p. 45-50, 2003

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.

SEIFRTOVÁ, M., NOVÁKOVÁ, L.; LINO, C.; PENA, A.; SOLICH, P.; An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental Waters. *Analytica Chimica Acta*, v. 649, p 158-179, 2009.

SHARMA, V. K, MISHRA, S, NESNAS, N., Oxidation of Sulfonamide Antimicrobials by Ferrate(VI) [$\text{Fe}^{\text{VI}}\text{O}_4^{2-}$]. *Environmental Science & Technology*, v 40, n 23, p 7222-7227, 2006.

SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., NIEMAN, T. A., Princípios de Análise Instrumental. 5ª edição. Porto Alegre, Brasil. Bookman. 2002, 836 p.

SKOOG, D. A., WEST. D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R., Fundamentos de Química Analítica. 8ª edição. São Paulo, Brasil Pioneira Thomson Learning Ltda. 2006, 999 p.

SIRTORI, C., ZAPATA, A., OLLER, I., GERNJAK, W., AGÜERA, A.,MALATO, S., Decontamination industrial pharmaceutical wastewater by combining solar photo-Fenton and biological treatment, *Water Research*, v 43, p. 661-668, 2009

SONG, W.; CHEN, W.; COOPER, W. J.; GREAVES, J.; MILLER, G. E.; Free-Radical Destruction of beta- Lactam Antibiotics in Aqueous Solution. *Journal Physical Chemical A*, v. 112, p. 7411-7417, 2008.

TERNES, T. A., Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers, *Water Research*, v. 32, n. 11, pp. 3245-3260, 1998.

TROVÓ, A.G., MELO, S.A., NOGUEIRA, R.F.P., Photodegradation of the pharmaceuticals amoxicillin, bezafibrate and paracetamol by the photo-Fenton process e application to sewage treatment plant effluent. *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, v. 198, n, 2-3, p. 215-220, 2008.

TROVÓ, A. G., NOGUEIRA, R. F. P., AGÜERA, A., FERNANDEZ-ALBA, A. R., MALATO, S., Degradation of the antibiotic amoxicillin by photo-Fenton process e Chemical and toxicological assessment. *Water Research* v. 45, p. 1394-1402, 2011

US PEROXIDE General Chemistry of Fenton's Reagent e Fenton's Reagent. Disponível em: <http://www.h2o2.com/>. Acesso em julho de 2010.

VASQUES, A. R., *Caracterização e Aplicação de Adsorventes para Remoção de Corantes de Efluentes Têxteis em Batelada e Colunas de Leito Fixo*. (Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos). – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 153 p., 2008

VENKATADRI, R., e PETERS, R. W.; Chemical Oxidation Technologies: Ultraviolet Light/Hydrogen Peroxide, Fenton's Reagent, and Titanium Dioxide-Assisted Photocatalysis. *Hazardous Waste & Hazardous Materials*, v. 10, n. 2, p. 107-149, 1993.

VOGEL, A. I.; Análise Química Quantitativa, 6ª Edição. Rio de Janeiro, Brasil. LTC Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 2008, 462p.

WILKE, M. S.; LOVERING, A. L.; STRYNADKA, N. C. J. Beta-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current Opinion in Microbiology*, v. 8, p. 525-533, 2005.

WILLIAMS, M.; ONG, P. L.; WILLIAMS, D. B.; KOOKANA, R. S.; Estimating the sorption of pharmaceuticals based on their pharmacological distribution. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 28, n. 12, p. 2572–2579, 2009.

XU, X-R.; Li, X-Y.; Sorption and desorption of antibiotic tetracycline on marine sediments. *Chemosphere*, v. 78, p. 430–436, 2010.

ZUCCATO, E., CASTIGLIONI, S., FANELLI, R., Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 122, p. 205-209, 2005.

ZWIENER, C., FRIMMEL, F. H., Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. *Water Research*, v. 34, n. 6, p. 1881-1885, 2000.

ANEXOS

Anexo 1

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 44, DE 26 DE OUTUBRO DE 2010.

Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição médica, isoladas ou em associação e dá outras providências.

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, aprovado pelo Decreto n.º 3.029, de 16 de abril de 1999, e tendo em vista o disposto no inciso II e nos §§ 1º e 3º do art. 54 do Regimento Interno aprovado nos termos do Anexo I da Portaria nº 354 da ANVISA, de 11 de agosto de 2006, republicada no DOU de 21 de agosto de 2006, em reunião realizada em 25 de outubro de 2010, e adota a seguinte Resolução da Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino sua publicação:

Art. 1º Esta resolução estabelece os critérios para a embalagem, rotulagem, dispensação e controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, conforme lista constante do Anexo a esta Resolução, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação.

Parágrafo único. A dispensação de medicamentos contendo as substâncias listadas no Anexo a esta resolução, isoladas ou em associação, fica sujeita à retenção de receita e escrituração em farmácias e drogarias, nos termos desta resolução.

Art. 2º A dispensação de medicamentos à base de antimicrobianos de venda sob prescrição somente poderá ser efetuada mediante receita de controle especial, sendo a 1ª via - Retida no estabelecimento farmacêutico e a 2ª via - Devolvida ao Paciente, atestada, como comprovante do atendimento.

Art. 3º As prescrições somente poderão ser dispensadas quando apresentadas de forma legível e sem rasuras, por profissionais devidamente habilitados e contendo as seguintes informações:

I - nome do medicamento ou da substância prescrita sob a forma de Denominação Comum Brasileira (DCB), dosagem ou concentração, forma farmacêutica, quantidade (em algarismos arábicos e por extenso) e posologia;

II - identificação do emittente: nome do profissional com sua inscrição no Conselho Regional ou nome da instituição, endereço completo, telefone, assinatura e marcação gráfica (carimbo);

III - identificação do usuário: nome completo;

IV - identificação do comprador: nome completo, número do documento oficial de identificação, endereço completo e telefone (se houver);

V - data da emissão; e

VI - identificação do registro de dispensação: anotação da data, quantidade aviada e número do lote, no verso.

Art. 4º A escrituração das receitas com medicamentos contendo as substâncias listadas no Anexo desta resolução, isoladas ou em associação, é obrigatória e deverá atender ao disposto no Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados (SNGPC).

Parágrafo único. Os estabelecimentos que não possuem implantados os módulos do SNGPC deverão proceder à escrituração em Livro de Registro específico para antimicrobianos, informatizado ou não, conforme modelo utilizado para registro de medicamentos sujeitos ao controle especial.

Art. 5º A escrituração de todas as operações relacionadas com substâncias e medicamentos antimicrobianos, isolados ou em associação, deve ser atualizada no prazo máximo de 7 dias.

§1º No Livro de Registro específico para antimicrobianos a escrituração deve ser realizada a caneta de forma legível, sem rasuras ou emendas e assinada pelo responsável técnico.

§2º No SNGPC ou livro informatizado, a escrituração deve ser realizada pelo responsável técnico com controle de acesso por senha pessoal e intransferível.

§2º As eventuais correções de escrituração no Livro de Registro específico, informatizado ou não, ou as finalizações de inventário no SNGPC devem ser devidamente registradas e justificadas em documento próprio, assegurando a rastreabilidade, para fins de fiscalização da Autoridade Sanitária Competente.

Art. 6º Na embalagem e rotulagem dos medicamentos contendo substâncias antimicrobianas constante da lista Anexa de que trata esta resolução deve constar, obrigatoriamente, na tarja vermelha, em destaque a expressão: Venda Sob Prescrição Médica - Só Pode ser Vendido com Retenção da Receita.

Parágrafo único. Na bula dos medicamentos a que se refere o caput deste artigo deverá constar, obrigatoriamente, em destaque e em letras de corpo maior de que o texto, a expressão: Venda Sob Prescrição Médica - Só Pode ser Vendido com Retenção da Receita.

Art. 7º Será permitida a fabricação e distribuição de amostra-grátis desde que atendidos os requisitos definidos em legislação específica.

Art. 8º Os estabelecimentos deverão manter a disposição das autoridades sanitárias a documentação fiscal referente à compra, venda, transferência ou devolução das substâncias antimicrobianas bem como dos medicamentos que as contenham.

Art. 9º Toda a documentação relativa à movimentação de entradas, saídas ou perdas de antimicrobianos deverão permanecer arquivadas no estabelecimento e à disposição das autoridades sanitárias por um período mínimo de 5 (cinco) anos após sua dispensação ou aviamento.

Art. 10. Fica estabelecido o prazo máximo de 180 (cento e oitenta) dias para adequação quanto à embalagem, rotulagem e bula.

Parágrafo único. As farmácias e drogarias poderão dispensar os medicamentos à base de antimicrobianos que estejam em embalagens com tarja vermelha, ainda não adequadas, desde que fabricadas dentro do prazo previsto no caput deste artigo.

Art. 11. A retenção das receitas de medicamentos, pelas farmácias e drogarias, contendo as substâncias listadas no Anexo desta resolução é obrigatória a partir de 28 de novembro de 2010.

Parágrafo único. As receitas de antimicrobianos terão validade de 10 (dez) dias a contar da data de sua emissão.

Art. 12. As farmácias e drogarias terão o prazo de 180 (cento e oitenta) dias para escrituração e adesão ao SNGPC.

Art. 13. O descumprimento das disposições contidas nesta resolução constitui infração sanitária, nos termos da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, sem prejuízo das responsabilidades civil, administrativa e penal cabíveis.

Art. 14. Esta resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

ANEXO

LISTA DOS ANTIMICROBIANOS REGISTRADOS NA ANVISA
(Não se aplica aos antimicrobianos de uso exclusivo hospitalar)

1. Ácido clavulânico
2. Ácido nalidíxico
3. Ácido oxolínico
4. Ácido pipemídico
5. Amicacina
6. Amoxicilina
7. Ampicilina

8. Acetilcefuroxima
9. Azitromicina
10. Aztreonam
11. Carbenicilina
12. Cefaclor
13. Cefadroxil
14. Cefalexina
15. Cefalotina
16. Cefazolina
17. Cefoperazona
18. Cefotaxima
19. Cefoxitina
20. Ceftadizima
21. Ceftriaxona
22. Cefuroxima
23. Ciprofloxacina
24. Claritromicina
25. Clindamicina
26. Cloranfenicol
27. Daptomicina
28. Dicloxacilina
29. Difenilsulfona
30. Dihidroestreptomicina
31. Doripenem
32. Doxiciclina
33. Eritromicina
34. Ertapenem
35. Espectinomicina
36. Espiramicina
37. Estreptomicina
38. Etionamida
39. Fenilazodiaminopiridina (fempiridina ou ferazopiridina)
40. 5-fluorocitosina (fucitosina)
41. Fosfomicina
42. tallsulfatazol
43. Gemifloxacino
44. Gentamicina
45. Griseofulvina
46. Imipenem
47. Isoniazida
48. Levofloxacina
49. Linezolida
50. Lincomicina
51. Lomefloxacina
52. Mandelamina
53. Meropenem
54. Metampicilina
55. Metronidazol
56. Minociclina
57. Mifocamicina
58. Moxifloxacino
59. Neomicina
60. Netilmicina
61. Nistatina
62. Nitrofurantoina
63. Norfloxacina
64. Ofloxacina
65. Oxacilina
66. Oxitetraciclina
67. Pefloxacina
68. Penicilina G
69. Penicilina V
70. Piperacilina

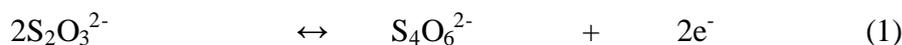
71. Pirazinamida
72. Rifamicina
73. Rifampicina
74. Rosoxicina
75. Sulfadiazina
76. Sulfadoxina
77. Sulfaguanidina
78. Sulfamerazina
79. Roxitomicina
80. Sulfametizol
81. Sulfametoxazol
82. Sulfametoxipiridazina
83. Sulfametoxiprimidina
84. Sulfatazol
85. Sulfona
86. Teicoplanina
87. Tetraciclina
88. Tiamfenicol
89. Tigeciclina
90. Tirotricina
91. Tobramicina
92. Trimetoprima
93. Vancomicina

Anexo 2

Procedimento analítico para determinação de H₂O₂ residual - Método iodométrico

1. Princípio do método:

O íon tiossulfato (S₂O₃²⁻) é um agente redutor moderadamente forte que tem sido utilizado amplamente na determinação de agentes oxidantes por meio de um procedimento indireto que envolve o iodo como intermediário. Na presença do iodo, o íon tiossulfato é quantitativamente oxidado para formar o íon tetrionato (S₄O₆²⁻), de acordo com a semi-reação (1);



A reação quantitativa com o iodo é única. Outros oxidantes podem oxidar o íon tetrionato ao íon sulfato.

O procedimento empregado na determinação de agentes oxidantes envolve a adição de um excesso de iodeto de potássio a uma solução levemente ácida do analito. A redução do analito produz uma quantidade estequiometricamente equivalente de iodo. O iodo liberado é titulado com uma solução padrão de tiossulfato de sódio Na₂S₂O₃, um dos poucos agentes redutores que é estável perante a oxidação pelo ar.

Reações (2) e (3) mostram as etapas envolvendo H₂O₂:



A conversão quantitativa do íon tiossulfato ao íon tetrionato, mostrada na equação (3), requer um meio com pH < 7.

Detecção do ponto final em titulações com Iodo/Tiossulfato

Uma solução de I₂ de concentração cerca de 5 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ tem uma coloração detectável e correspondente a menos de uma gota de uma solução de iodo 0,05 mol L⁻¹ em 100 mL. Se a solução contendo o analito é incolor, o desaparecimento da cor do iodo pode servir como indicador em titulações com tiossulfato de sódio.

As titulações envolvendo o iodo são realizadas com suspensão de amido como indicador. A cor azul intensa que se desenvolve na presença de iodo é creditada à absorção do iodo pela

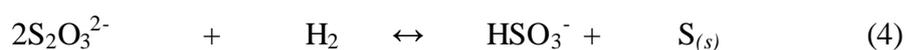
cadeia heliocoidal da β -amilose (constituente macromolecular presente na maioria dos amidos). A α -amilose, bastante similar, forma um complexo de cor vermelha com o iodo, sendo que essa reação não é facilmente reversível, portanto não é desejável. No amido solúvel a fração α -amilose é removida, deixando-se principalmente a β -amilose; e as soluções indicadoras são preparadas a partir desse produto.

As soluções aquosas de amido se decompõem em poucos dias, principalmente por causa da ação bacteriana. Os produtos de decomposição tendem a interferir nas propriedades do indicador e podem também ser oxidados pelo iodo. Recomenda-se utilizar solução de amido recém preparada, para evitar essas interferências.

O amido se decompõe irreversivelmente e soluções contendo concentrações elevadas de iodo. Nas titulações de iodo com íons tiosulfato (determinações indiretas de oxidantes) a adição do indicador deve ser retardada até que a cor da solução mude de vermelho-marrom para amarelo; nesse ponto a titulação está quase completa. O indicador pode ser adicionado ao sistema desde o início quando soluções de tiosulfato estão sendo tituladas diretamente com iodo.

Estabilidade de soluções de Tiosulfato de sódio

As soluções de tiosulfato de sódio são resistentes à oxidação pelo O_2 do ar, mas tendem a se decompor para formar enxofre e íon hidrogênio-sulfito:



A velocidade da reação (4) é função de:

- pH;
- microorganismos,
- concentração da solução de $Na_2 S_2O_3$;
- presença do íon $Cu(II)$;
- exposição à luz.

Essas variáveis podem provocar alterações na concentração da solução de tiosulfato em vários pontos percentuais, em um período de poucas semanas. A velocidade da reação de decomposição aumenta significativamente à medida que a solução se torna ácida.

A causa mais importante da instabilidade de soluções neutras ou levemente alcalinas de tiosulfato são as bactérias que metabolizam o íon tiosulfato para formar os íons sulfito e sulfato, assim como enxofre elementar. Para minimizar esse problema, as soluções padrão do reagente são preparadas em condições praticamente estéreis.

2. Preparo das Soluções padrões

Todas as soluções devem ser datadas e armazenadas ao abrigo da luz. Todos reagentes devem ter pureza analítica.

2.1 Solução de Molibdato de Amônio

Dissolver 9 g de Molibdato de amônio em 10 mL de NH_4OH 6 mol L^{-1} (400 mL NH_4OH p.a / 1 L H_2O). Adicionar 24 g de NH_4NO_3 e diluir para 100 mL de H_2O . Solução utilizada para catalisar a titulação.

2.2 SOLUÇÃO DE ÁCIDO SULFÚRICO (1:5)

Adicionar 1 parte de H_2SO_4 a 98% em 4 partes de água desmineralizada, lentamente, em banho de água fria, sob agitação

2.3 INDICADOR DE AMIDO

Dissolver 1 g de amido solúvel em 105 mL de água em ebulição, permanecendo sob aquecimento por 5 minutos, com agitação. Solução muito perecível, devendo ser preparada imediatamente antes da titulação. O indicador de amido para titulações iodométricas somente devem ser adicionados próximos ao ponto final da reação, visualizável pelo aparecimento de coloração amarelo palha.

2.4 SOLUÇÃO DE TIOSSULFATO DE SÓDIO $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,1 MOL L^{-1} OU 0,02 MOL L^{-1}):

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 mol L^{-1} : dissolver 24,9 g de tiosulfato de sódio hidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) puro e 0,2 g de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) em água previamente fervida. Transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completar com H_2O previamente fervida, aferir o volume. Deixar decantar por 24 horas e padronizar.

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,02 mol L^{-1} : dissolver 4,98 g de tiosulfato de sódio hidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) puro e 0,2 g de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) em água previamente fervida. Transferir

para balão volumétrico de 1000 mL, completar com H₂O previamente fervida, aferir o volume. Deixar decantar por 24 horas e padronizar. Ou diluir a solução de Na₂S₂O₃ 0,1 N 5 vezes, utilizando para isso buretas e balões volumétricos. Padronizar.

2.5 SOLUÇÃO DE IODETO DE POTÁSSIO 1%

Dissolver 5 g de KI para 500 mL de água desmineralizada. Estocar em lugar fechado, fresco, ao abrigo da luz. Amarelo-alaranjado na solução indica alguma oxidação pelo ar, a qual pode ser removida por adição de 1-2 gotas de solução diluída de tiosulfato de sódio. Esta solução possui baixa estabilidade, devendo ser preparada imediatamente antes de sua utilização.

2.6 Solução de Dicromato de Potássio (K₂Cr₂O₇) 0,1 N ou 0,02N

O dicromato de potássio de grau analítico, com pureza superior a 99,9% é um padrão primário satisfatório

K₂Cr₂O₇ 0,1 N - Secar, previamente, cerca de 6 g do sal de K₂Cr₂O₇, em estufa, a 150°C, durante 60 minutos. Esfriar em dessecador. Pesar, exatamente, 4,9049 g e dissolver em água ultra pura, e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume com água ultra pura, e homogeneizar. Armazenar em frasco de vidro âmbar, ao abrigo da luz.

K₂Cr₂O₇ 0,02 N - Secar, previamente, cerca de 1,0 g do sal de K₂Cr₂O₇, em estufa, a 150°C, durante 60 minutos. Esfriar em dessecador. Pesar, exatamente, 0,98098 g e dissolver em água ultra pura, e transferir para balão volumétrico de 1000 mL, completando o volume com água ultra pura, e homogeneizar. Armazenar em frasco de vidro âmbar, ao abrigo da luz.

3. Padronização de soluções de Tiosulfato de sódio

- Adicionar 10,00 mL de K₂Cr₂O₇ 0,1 N, em um erlenmeyer;
- Adicionar aproximadamente 0,3g de Iodeto de Potássio, KI; ou 10 mL de solução de KI a 1%;
- Acidificar 5 mL de H₂SO₄ 1:5 v/v;
- Adicionar 2 gotas de Molibdato de Amônio, catalisador da reação;
- Gotejar a solução de Na₂S₂O₃ (0,1N) a ser padronizada sobre a solução de K₂Cr₂O₇, adicionar 1,0 mL de solução de amido próximo ao ponto final (presença de coloração amarelo palha), a solução ficará azul;
- Continuar a titulação até desaparecer a cor azul.

Reações:



Na reação 5 o íon $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ atua como agente oxidante, com Cr^{+6} , formando Cr^{+3} que fornece a coloração final da titulação, verde claro. O cromo oxida o iodeto em iodo, e na reação (6) esse será titulado com tiosulfato, em presença de suspensão de amido como indicador.

Obs.: Para a padronização de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ deve-se utilizar a solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,02 \text{ N}$.

3. PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

3.1 DETERMINAÇÃO DE H_2O_2 A BAIXAS CONCENTRAÇÕES (0,1 – 6%)

- Pesquisar uma alíquota da amostra de aproximadamente 0,2 g, anotar o peso exato.
- Adicionar 50 mL de H_2O destilada;
- Adicionar 10 mL de H_2SO_4 1:5;
- Adicionar 10 mL de solução de KI 1%;
- Adicionar 2 gotas de solução de Molibdato de Amônio.
- Titular com solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ até coloração amarela palha
- Adicionar 2 mL de indicador de amido; solução torna-se azul;
- Continuar a titulação com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ até a solução ficar incolor.
- Fazer uma prova em branco.

4. CÁLCULOS

As equações 2 e 3 mostram a equivalência do Iodeto de potássio com peróxido de hidrogênio e sua equivalência com tiosulfato.



$$1,0 \text{ mL de } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ } 0,1 \text{ mol.L}^{-1} \equiv 1,701 \text{ mg de } \text{H}_2\text{O}_2$$

8 REFERÊNCIAS

MORITA, T., ASSUMPÇÃO, R. M. V., Manual de Soluções, Reagentes e Solventes, 2ª edição, São Paulo, Brasil, Editora Edgard Blücher Ltda. 1972, 629 p.

SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., NIEMAN, T. A., Princípios de Análise Instrumental. 5ª edição. Porto Alegre, Brasil. Bookman. 2002, 836 p.

SKOOG, D. A., WEST. D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R., Fundamentos de Química Analítica. 8ª edição. São Paulo, Brasil Pioneira Thomson Learning Ltda. 2006, 999 p.

9 US PEROXIDE GENERAL CHEMISTRY OF FENTON'S REAGENT E FENTON'S REAGENT. DISPONÍVEL EM: [HTTP://WWW.H2O2.COM/](http://www.h2o2.com/). ACESSO EM JULHO DE 2010.

VOGEL, A. I.; Análise Química Quantitativa, 6ª Edição. Rio de Janeiro, Brasil. LTC Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 2008, 462p.