

Eixo Temático ET-09-010 - Biologia Aplicada

**BIOSSORÇÃO DO ANTIBIÓTICO AMOXICILINA EM EFLUENTES POR
Pennisetum purpureum SCHUMACH. 1827 (POALES: POACEAE) (CAPIM
ELEFANTE)**

Michelle Cristina Silva de Oliveira¹, Hanna Katarina Lopes Ferreira², Anastássia Mariáh Nunes de Oliveira Lima², Suellen Emilliany Feitosa Machado², Lais Ludmila de Nerys², Olga Martins Marques³, Jader Martins Marques³, Léa Elias Mendes Carneiro Zaidan³, Iranildo José da Cruz Filho³

¹Centro Universitário Maurício de Nassau, *Campus* Recife, PE; ²Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Antibióticos, PE; ³Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Engenharia Química, PE.

RESUMO

Os antibióticos, quando lançados de forma inadequada nos efluentes hídricos, podem causar sérios problemas ambientais, pois são de alta toxicidade e difícil degradação. Muitas vezes, métodos convencionais são incapazes de degradar moléculas orgânicas complexas. Visando solucionar este problema, novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas ou melhoradas a fim de promover uma melhor qualidade das águas. A bioissorção tem se mostrado uma técnica econômica e eficaz na remoção de boa parte destes compostos. Deste modo, esse trabalho teve como objetivo aplicar um bioissorvente para tratar efluentes contendo o antibiótico Amoxicilina. Os ensaios de remoção do antibiótico foram realizados utilizando a biomassa de *Pennisetum purpureum* Schumach (1827 (Poales: Poaceae) (Capim elefante) como material bioissorvente e, para esse propósito, foi realizado um planejamento fatorial completo de 2², no qual foram avaliados a quantidade de material bioissorvente (0,5, 1,5, 2,5g) e o pH (2, 5,5 e 9,0) do efluente. Para cada ensaio, o sistema foi mantido a 30 °C, por 12h, 150 rpm e 100 mL de solução de Amoxicilina numa concentração de 50 mg·L⁻¹. Além disso, o material foi caracterizado pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier e difração de raios X. Os resultados obtidos no planejamento experimental mostraram que em condições de menores valores de pH e quantidade de biomassa tem-se maior remoção do antibiótico. O valor máximo de remoção foi de 87,40%, indicando que a biomassa de *P. purpureum* Schumach (1827 (Poales: Poaceae) pode ser considerada como uma alternativa promissora para a remoção de antibióticos em efluentes.

Palavras-chave: Bioissorção; Tratamento de efluentes; Medicamentos.

INTRODUÇÃO

Atualmente, o monitoramento de fármacos no meio ambiente tem despertado grande interesse da sociedade, pois muitas dessas substâncias são frequentemente encontradas em altas concentrações nos efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) e em águas naturais (BEHERA et al., 2011). Estudos demonstram que várias dessas moléculas são de difícil degradação e não são completamente removidas nas ETE. Sendo assim, aspectos relacionados ao descarte inadequado desses compostos em

ambientes aquáticos vem tornando-se um fator preocupante devido ao fato de provocar resistência microbiana (BEHERA et al., 2011; SOTELO et al., 2013).

De acordo com o relatório da *Union of Concerned Scientists*, estima-se que, em 2001, 16 mil toneladas de compostos antimicrobianos foram utilizados nos Estados Unidos da América, 93 mil na Nova Zelândia e 14,6 mil no Quênia (WANG et al., 2011). No Brasil, 20% dos medicamentos são descartados de forma inadequada e essa situação é agravada pela inexistência de um programa de recolhimento de medicamentos vencidos nas residências (FALQUETO; KLIGERMAN, 2013). Segundo a Portaria do Ministério da Saúde nº 2914/11 e a resolução CONAMA 430/11 do Conselho Nacional do Meio Ambiente referentes à qualidade da água, não há valores limites sobre resíduos de fármacos, causando sérios problemas ambientais (BRASIL, 2016A; BRASIL, 2016B).

A Amoxicilina é um antibiótico de largo espectro, amplamente utilizado na medicina humana e veterinária e comumente encontrada em efluentes de estações de tratamento de esgoto, devido a seu descarte inadequado.

Muitas vezes, os métodos de tratamento convencionais são incapazes de degradar moléculas orgânicas complexas. Por esta razão, diferentes tecnologias têm sido desenvolvidas com o objetivo de minimizar esses problemas. Uma delas é a bioissorção, processo que se caracteriza pela adesão de moléculas do fluido, o poluente, na superfície sólida do bioisorvente (FU, F.; WANG, 2011). É um método rápido e barato, que independe de atividade metabólica, além da possibilidade de reutilizar a biomassa.

Para serem empregados como bioisorventes, os materiais de origem biológica (biomassas) devem possuir as seguintes características: ser capaz de remover poluentes dissolvidos em água; apresentar seletividade frente a diferentes contaminantes; ser passível de regeneração e de baixo custo. A efetividade de um bioisorvente durante o processo de remoção depende do pH da solução, da faixa de concentração do contaminante, do sistema operacional empregado e da composição do efluente, dentre outros fatores (BEHERA et al., 2011; FU, F.; WANG, 2011).

Uma biomassa bastante promissora na remoção de poluentes em água é *Pennisetum purpureum* Shumach (Capim – elefante) 1827 (Poales: Poaceae), pois apresenta alta produtividade e de fácil obtenção. Sendo assim, o presente trabalho objetivou utilizar o capim elefante para remover o antibiótico Amoxicilina da água pela técnica de Bioissorção.

MATERIAIS E MÉTODOS

Fármaco estudado

O fármaco utilizado para este trabalho foi o antibiótico Amoxicilina (Figura 1). Esse composto foi escolhido devido ao seu alto volume de consumo, toxicidade e persistência no meio ambiente. A molécula apresenta massa molar de 365,4 g/mol e fórmula química $C_{16}H_{19}N_3O_5S$.

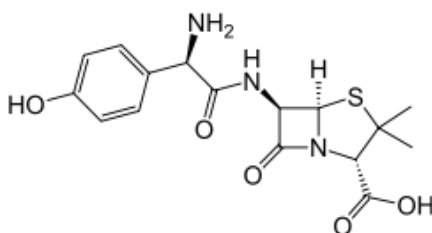


Figura 1. Fórmula estrutural da Amoxicilina Fonte: Gennaro (2000).

Obtenção do material bioissorvivo

Pennisetum purpureum Schumach (1827 (Poales: Poaceae) (Capim elefante) foi coletado em um canteiro específico pertencente ao departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Pernambuco (UFRPE). Inicialmente, o material foi fragmentado, lavado em água destilada e seco a 75 °C por 72 h. Em seguida, foi triturado em moinho de facas e tamisado em peneiras de Tyler (1,43 mm) (CRUZ FILHO et al., 2016).

Caracterização do material bioissorvivo

O material foi submetido a técnicas de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raio X (DRX). Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos com um espectrofotômetro (Bruker IFS66) com transformada de Fourier, utilizando pastilhas de KBr com 1% de amostra, na faixa de 4000 a 450 cm⁻¹. As micrografias do material foram obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura microscópio (Shimadzu SS-550) com filamento de Tungstênio e com acoplamento para espectroscopia por dispersão de energia de raios X (EDS), na amplificação 4000x. Com o objetivo de se avaliar a cristalinidade do material, utilizou-se um difratômetro de raios- X (XRD-6000/Shimadzu). As condições aplicadas foram: 40 kV, intervalo angular 4° a 60° (ângulo de Bragg-2θ), variação angular 0,05° e tempo de contagem de 1 s.

Planejamento experimental

Para avaliar o processo de remoção da Amoxicilina em água pelo processo bioissorvivo, empregou-se a técnica de planejamento fatorial em dois níveis. Esta metodologia utiliza ferramentas estatísticas para avaliar a eficiência de um sistema e consiste em se organizar as variáveis estudadas, em uma série de experimentos, variando-as em níveis altos (+1), níveis baixos (-1) e ponto médio (0). Dessa forma, foi realizado um planejamento fatorial 2² completos, totalizando, assim, 7 experimentos, sendo três pontos centrais seguindo a matriz proposta por Barros Neto e colaboradores (1996). As variáveis estudadas foram: o pH das soluções do medicamento 2,0; 5,5 e 9,0 (-1, 0 e +1) e a quantidade de bioissorvente 0,5; 1,5 e 2,5 g (-1, 0 e +1), nas seguintes condições: 30 °C, 150 rpm e 100 mL de volume reacional por 12 h.

Os experimentos foram realizados em ordem aleatória e a resposta foi avaliada em função do percentual de remoção R (%) calculado pela Equação 1. As análises foram realizadas utilizando o software Statistica® 8.0.

$$R(\%) = \left(\frac{C_0 - C_f}{C_0} \right) \cdot 100\% \quad (1)$$

Onde: C₀ é a concentração inicial de Amoxicilina e C_f é a concentração de Amoxicilina ao final do processo (mg·L⁻¹).

A quantificação da concentração do fármaco foi avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector UV/Vis a 230 nm e coluna de fase reversa (C-18) (Agilent Technologies). O volume de injeção será de 25µL, com tempo de eluição de 1,5 minutos e fluxo de 1mL·min⁻¹. A fase móvel utilizada para quantificação do antibiótico foi metanol: água ultrapura acrescida de 0,1 % de ácido fórmico (70: 30).

A concentração obtida no final do processo foi determinada por padrão interno com uma solução de Amoxicilina $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e as análises foram realizadas em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização do material bioativo

O espectro de FTIR do material é representado na Figura 2A, onde a banda larga em 3450 cm^{-1} é associada aos grupos OH; entre 3000 e 2870 cm^{-1} são relativas aos grupos metílicos e metilênicos (C-H) e 1646 cm^{-1} às ligações C=C, presentes em aromáticos. As bandas 1550 - 1750 cm^{-1} referem-se a estiramento dos grupos carbonila. As bandas 1058 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} e 1165 cm^{-1} são devido às vibrações C-O que se estende aos éteres e álcoois, um alongamento da banda 1032 cm^{-1} devido às vibrações C-O. A banda existente entre 670 e 600 cm^{-1} refere-se à flexão do grupo hidróxido (OH) fora do plano. A Figura 2B mostra o difratograma do material. Os resultados mostram que o bioativo apresenta um índice de cristalinidade de $50,2 \pm 0,5\%$, característico de materiais biológicos.

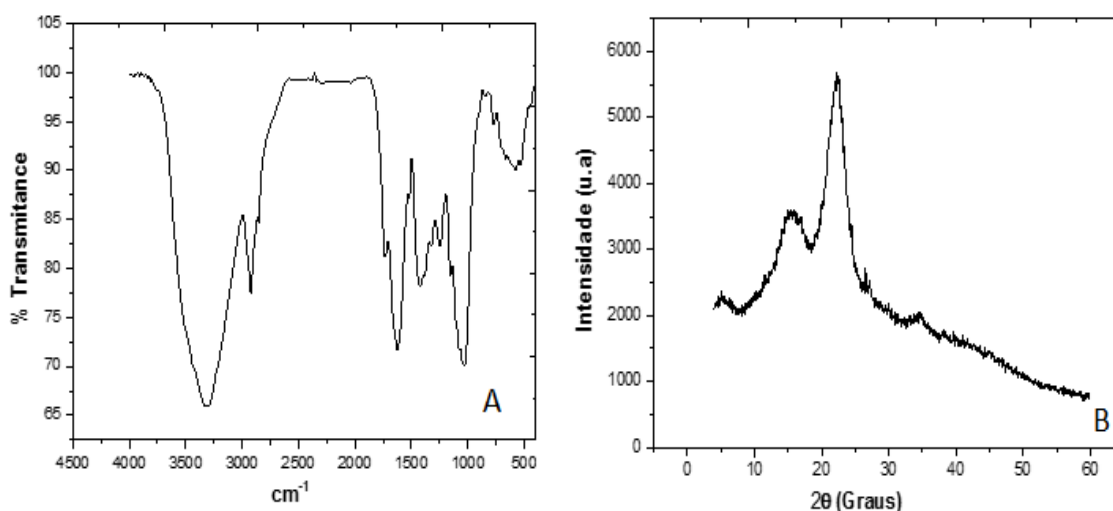


Figura 2. Espectros na região do infravermelho com transformada de Fourier (2A) e Difrátogramas de raios-X (2B) para o capim elefante

Na Figura 3A e 3B estão apresentadas as micrografias do capim elefante. Pode-se observar uma estrutura fraturada e porosa. Esta superfície irregular facilita a bioativação de diversas substâncias em solução aquosa, inclusive antibióticos.

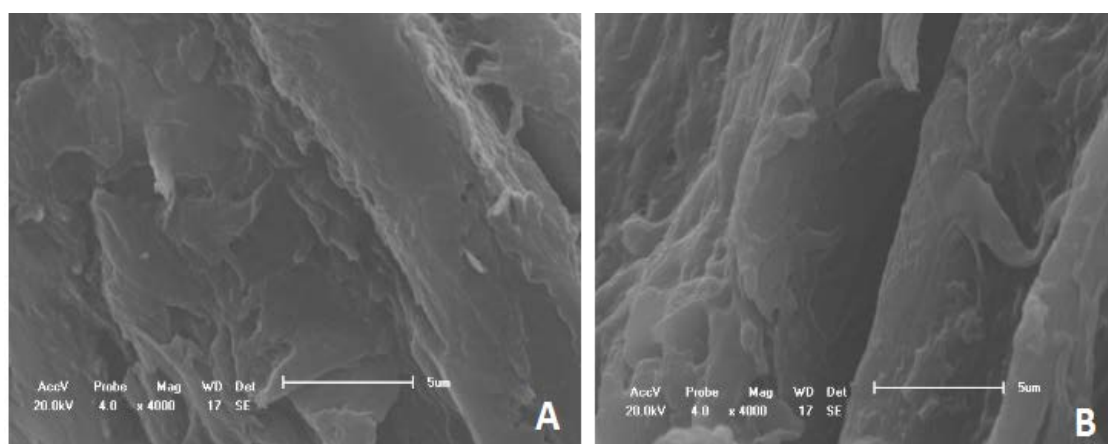


Figura 3. Micrográfias do capim elefante na amplificação de 4000x.

Planejamento experimental

Os resultados obtidos no estudo de remoção da Amoxicilina estão apresentados na Tabela 1 e foram analisados estatisticamente mediante o planejamento experimental, por meio do software Statistica. No planejamento em questão, adotou-se um nível de significância de 95%, ou seja, foram considerados significativos os parâmetros com valores de $p < 0,05$.

Tabela 1. Matriz do planejamento experimental fatorial com os resultados do percentual de remoção obtidos durante o processo.

Amostra	pH	Biossorvente (g)	Remoção R = (%)
E1	2 (-)	0,5 (-)	87,40%
E4	9 (+)	0,5 (-)	65,44%
E3	2 (-)	2,5 (+)	47,84%
E2	9 (+)	2,5 (+)	48,88%
E5	5,5 (0)	1,5 (0)	60,24%
E6	5,5 (0)	1,5 (0)	62,99%
E7	5,5 (0)	1,5 (0)	63,54%

Analisando a Tabela 1 observa-se que o maior valor para o percentual de remoção foi de 87,40%, se deu no Experimento 1. O experimento 3 apresentou o menor valor de remoção 47,84%. Observa-se também que os pontos centrais para a resposta apresentaram uma pequena variação da porcentagem, o que indica uma boa reprodutibilidade do processo (BARROS NETO et al., 1996). Os efeitos das variáveis e os respectivos erros foram calculados a um limite de confiança estatística de 95%. Os resultados foram obtidos através da análise de resíduos, e a qualidade do ajuste do modelo baseada na ANOVA.

A soma quadrática residual (6,282), foi obtida somando-se o erro puro (0,030) com a falta de ajuste (6,252). A soma quadrática da regressão (6,282) é calculada pela diferença entre a soma quadrática total (1033,025) e a soma quadrática residual (2,282). A média quadrática residual (0,76) e da regressão (343,0) foram calculadas pela divisão da soma quadrática residual e da regressão e seus respectivos graus de liberdade (3 e 3).

O valor estatístico do teste F de Fischer é a razão entre a média quadrática da regressão e a média quadrática residual. O coeficiente de determinação (R^2) fornece uma medida da proporção da variação, explicada pela equação de regressão em relação à variação das respostas (BARROS NETO et al., 1996).

A percentagem de variação explicada pela regressão foi dada pela razão entre a soma quadrática devido à regressão e a soma quadrática total (99,393%). A diferença entre o valor da percentagem da variação explicada (99,393%) e o valor da porcentagem máxima de variação explicável (99,396%), foi de 0,024%, esta diferença é considerada pequena, indicando assim que houve um bom ajuste do modelo. Para Barros Neto et al. (1996), o valor de F calculado (450,931) para a regressão deve ser pelo menos 3 vezes maior que o valor de F tabelado (9,28) valor crítico referente ao teste, indicando assim a validade estatística do modelo, assim rejeita-se a hipótese nula do teste F as diferentes condições de processo apresentaram resultados médios iguais entre si.

A Figura 4 mostra o diagrama de Pareto. Nele, é possível observar os fatores significativos em uma escala decrescente, como: biossorvente < biossorvente*pH < pH.

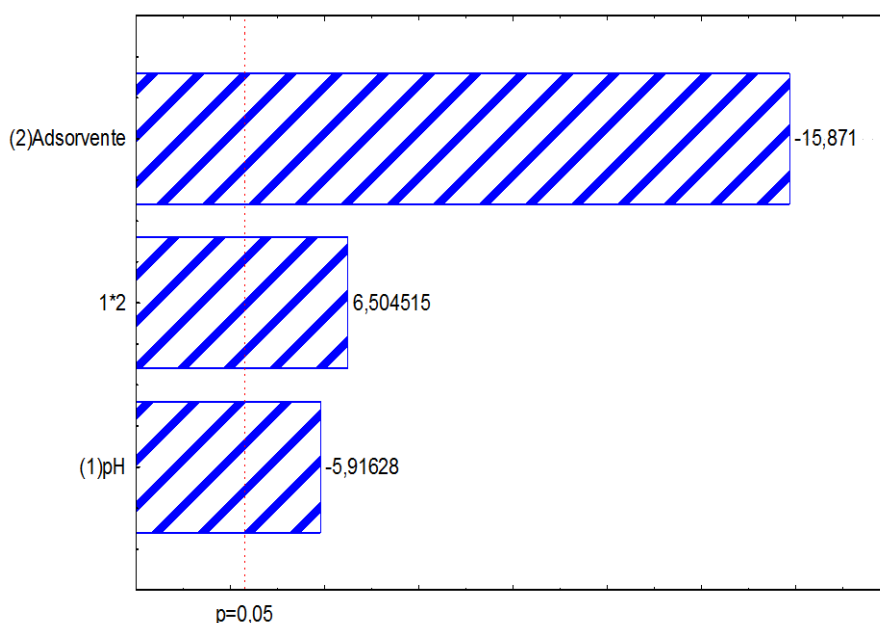


Figura 4. Diagrama de Pareto do planejamento fatorial 2^2 . Linha tracejada indica o valor no nível de significância (σ) de 5%

Pela análise dos efeitos de interação das variáveis estudadas apresentados na Figura 4, observa-se que a quantidade de biossorvente e pH apresentaram efeito negativo, isto é condições de menores pH e quantidade de biomassa se tem maior remoção.

A Figura 5 mostra o gráfico de superfície de resposta, na qual é possível verificar comparativamente a influência das variáveis na remoção do antibiótico, corroborando com os resultados observados no Diagrama de Pareto. As regiões onde o percentual de remoção é maior são representadas pelas regiões vermelho, enquanto as verdes apresentam os menores valores para a variável considerada.

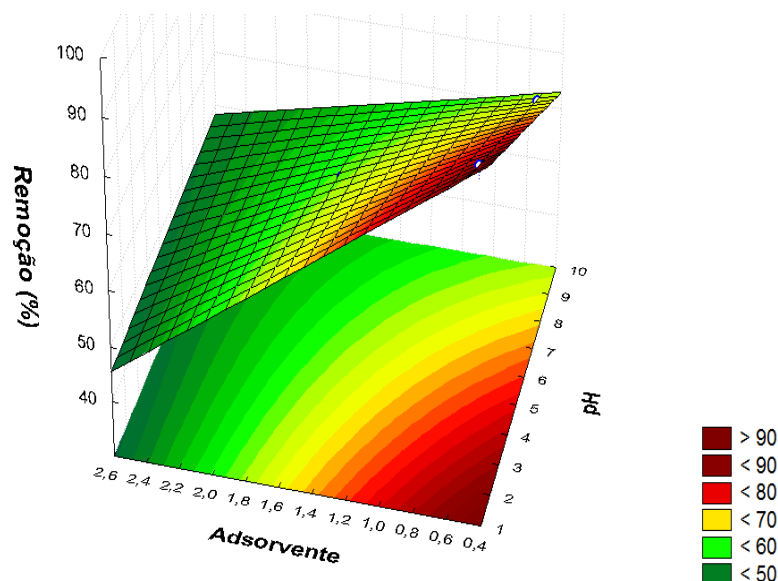


Figura 5. Superfície de resposta da interação entre o pH e a quantidade de biossorvente tendo como resposta a remoção da Amoxicilina

O planejamento fatorial completo 2^2 auxiliou na obtenção das melhores condições para maior eficiência de remoção do antibiótico. Decodificando os valores, tem-se que a melhor condição foi obtida na seguinte configuração: quantidade de biossorvente 0,5 g, e pH 2,0 em 100 mL de solução.

CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu concluir, através do planejamento experimental, que a diminuição do pH e da quantidade de biossorvente favorecem o processo de remoção. Ademais, a utilização do capim elefante se torna uma tecnologia atrativamente econômica para tratamento de efluentes contaminados por antibióticos.

REFERÊNCIAS

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: Editora Unicamp, 1996.

BEHERA, S.K.; KIM, H.W.; OH, J.; PARK, H. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 20, p. 4351-4360, 2011.

BRASIL. **Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, 2011. Disponível em: <<http://www.slideshare.net/thallesbarbosa7/apostila-monitoramento-da-qualidade-da-gua-de-rios-e-reservatrios>>. Acesso em: 26 jun. 2016.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res11/propresol_lanceflue_30e31mar11.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2016.

CRUZ FILHO, I. J.; FERREIRA, H. K. L.; SILVA, S. K. G.; MACHADO, S. E. F.; ZAIDAN, L. E. M. C.; LIMA, V. F.; NASCIMENTO JUNIOR, A. J. Otimização do processo de remoção do corante preto de remazol B por uso de biomassa mista de *Aspergillus niger* van Tieghem, 1867 (Ascomycota: Trichocomaceae) e *Pennisetum purpureum* Schumach., 1827 (Poales: Poaceae). **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 3, n. 6, p. 375-384, 2016.

FALQUETO, E.; KLIGERMAN, D. C. Diretrizes para um programa de recolhimento de medicamentos vencidos no Brasil. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 3, 2013.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. **Journal of environmental management**, v. 92, n. 3, p. 407-418, 2011.

GENNARO, A. R.; REMINGTON. **Ciência e prática da farmácia**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

SOTELO J.; OVEGEJO, G.; RODRIGUEZ, A.; ALVAREZ, S.; GARCIA, J. Analysis and modeling of fixed bed column operations on flumequine removal onto activated carbon: pH influence and desorption studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 228, p. 102-113, 2013.

WANG, Y.; ZHANG, H.; ZHANG, J.; LU, C.; HUANG, Q.; WU, J.; LIU, F. Degradation of tetracycline in aqueous media by ozonation in an internal loop-lift reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, n. 1, p. 35-43, 2011.