CINTIA BARDAUIL BAPTISTUCCI

# DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO AQUOSA POR MEIO DE PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO BASEADO EM OZÔNIO

São Paulo 2012 CINTIA BARDAUIL BAPTISTUCCI

## DEGRADAÇÃO DO ANTIBIÓTICO CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO AQUOSA POR MEIO DE PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO BASEADO EM OZÔNIO

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Engenharia

Área de concentração: Engenharia Química

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Silva Costa Teixeira

São Paulo 2012

Este exempla responsabilid	ar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob ade única do autor e com a anuência de seu orientador.
São Paulo,	de março de 2012.
Assinatura do	autor
Assinatura do	orientador

# FICHA CATALOGRÁFICA

Baptistucci, Cíntia Bardauil

Degradação do antibiótico ciprofloxacina em solução aquosa por meio de processo oxidativo avançado baseado em ozônio / C.B. Baptistucci. -- ed.rev. -- São Paulo, 2012. 113 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1. Antibióticos 2. Soluções aquosas 3. Oxidação 4. Ozônio I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II. t.

# DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família e amigos.

## AGRADECIMENTO

Aos meus pais por todo esforço e amor dedicado à minha educação.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Silva Costa Teixeira pela orientação e pelo apoio. A todos os meus amigos pelo carinho e pela amizade.

"A alegria que se tem em pensar e aprender faz-nos pensar e aprender ainda mais"

Aristóteles

## RESUMO

Os tratamentos convencionais de efluentes em geral não são eficientes para a degradação de compostos persistentes como os fármacos. Neste trabalho, estudase o tratamento de soluções aquosas contendo o antibiótico ciprofloxacina (CIP) por meio de processo oxidativo avançado baseado em ozônio. Para tanto, foram realizados experimentos em semi-batelada com recirculação de líquido em um reator (coluna de bolhas) com escoamento gás-líquido em contracorrente. Amostras de líquido foram retiradas e analisadas para medida das concentrações de CIP e de carbono orgânico total (COT); a concentração de ozônio no gás foi medida por espectrofotometria UV-vis. Estudaram-se os efeitos das seguintes variáveis quanto à degradação de CIP, por meio de um planejamento Doehlert: concentração de ozônio à entrada do reator (8-25 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), pH (3,5-10,5) e concentração inicial de CIP (5-26 mg L<sup>-1</sup>). Avaliaram-se as seguintes variáveis dependentes por meio da análise de superfícies de resposta: variação de concentração de CIP em 2 minutos; taxa inicial de degradação de CIP e variação de concentração de COT em 30 minutos. Os resultados indicaram total degradação de ciprofloxacina em menos de 15 minutos, tanto por via direta, com ataque por ozônio molecular em meio ácido, como por via indireta, com ataque por radicais hidroxila em meio básico. Os compostos resultantes da degradação da CIP mostraram-se recalcitrantes, obtendo-se maiores remoções de COT após 30 minutos apenas em meio básico ou neutro (máximo de 72,8% para pH=7,  $[O_3]$ =24,9 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> e [CIP]<sub>0</sub>=15,8 mg L<sup>-1</sup>). Apesar da persistência dos compostos orgânicos remanescentes, os ensaios respirométricos sugeriram que os produtos de degradação são menos tóxicos que o composto de partida, com menor inibição da atividade microbiana. No conjunto, os resultados do trabalho indicam que o processo de ozonização pode ser aplicado para pré-tratamento de efluentes aquosos contendo ciprofloxacina em baixas concentrações, podendo ser associado a processos de tratamento biológico em ETEs antes do descarte.

Palavras-Chaves: Fármacos. Antibióticos. Fluoroquinolonas. Ciprofloxacina. Processos Oxidativos Avançados. POAs. Ozônio. Ozonização. Efluente. Degradação. Carbono Orgânico Total.

## ABSTRACT

Conventional wastewater treatment processes are not generally efficient for the degradation of persistent substances like pharmaceutical compounds. In this work, the treatment of aqueous solutions containing the antibiotic ciprofloxacin (CIP) by means of the ozone-based advanced oxidation process is studied. With this aim, experiments were carried out in semi-batch mode with liquid circulation in a bubble column reactor with gas-liquid counter flow. Liquid samples were analyzed for CIP and total organic carbon (TOC) concentrations; ozone concentration in the gas was measured by UV-visible spectrophotometry. The effects of the following variables on CIP degradation were studied according to a Doehlert experimental design: inlet ozone concentration (8 to 25 mgO<sub>3</sub>  $L^{-1}$ ), pH (3.5 to 10.5), initial CIP concentration (5 to 26 mg L<sup>1</sup>). The following dependent variables were investigated by response surface analysis: variation in CIP concentration after 2 minutes; CIP initial degradation rate and variation in TOC concentration after 30 minutes. The results showed total degradation of ciprofloxacin in less than 15 minutes either by direct reaction with molecular ozone in acidic medium, or by indirect attack of hydroxyl radicals in alkaline medium. Compounds resulting from CIP degradation showed to be recalcitrant, yielding larger TOC removals after 30 minutes only in alkaline or neutral medium (maximum of 72.8% for pH=7,  $[O_3]=24.9 \text{ mgO}_3 \text{ L}^{-1}$ , and  $[CIP]_0=15.8$ mg  $L^{-1}$ ). Despite the persistence of remaining organic compounds, respirometric assays suggested that degradation products are less toxic than the parent compound, exhibiting lower inhibition of microbial activity. Overall, the results indicate that the ozonation process can be used in the pre-treatment of aqueous effluents containing ciprofloxacin in low concentrations, and could be associated with biological treatment processes in wastewater treatment plants prior to final disposal.

Keywords: Drugs. Antibiotics. Fluoroquinolones. Ciprofloxacin. Advanced Oxidation Processes. AOPs. Ozone. Ozonation. Wastewater. Degradation. Total Organic Carbon.

# LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Rotas de exposição de fármacos no ambiente27
Figura 2 - Estrutura química das quinolonas (Adaptado de APPELBAUM; HUTER,
2000); R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 e R8: nomenclatura dos carbonos da molécula
(posições); X: átomo de carbono ou nitrogênio29
Figura 3 - Estrutura do ácido nalidíxico (Adaptado de LESHER et al., 1962)30
Figura 4 - Estrutura do ácido pipemídico (Adaptado de WANG; HE; HUANG,2010).30
Figura 5 - Estrutura da norfloxacina (Adaptado de RIVAS et al., 2011)
Figura 6 - Estrutura da gatifloxacina (Adaptado de FUKUDA et al., 2001)31
Figura 7 - Estrutura da ciprofloxacina (Adaptado de GUIMARÃES; MOMESSO;
PUPO, 2010)
Figura 8 - Célula geradora de ozônio (Adaptado de GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE,
2000)
Figura 9 - Esquema da interface gás-líquido36
Figura 10 - Solubilidade do ozônio em relação à variação de temperatura e pH
(BATTINO; RETTICH; TOMINAGA, 1983)
Figura 11 - Mecanismo de ozonização pelas vias direta e indireta, O2 <sup>•-</sup> : ânion radical
superóxido; $HO_2^{\bullet}$ : radical hidroperoxila; $O_3^{\bullet}$ : ânion radical ozoneto; $HO_3^{\bullet}$ : trióxido de
hidrogênio; $HO_4^{\bullet}$ : tetróxido de hidrogênio; $HO^{\bullet}$ : radical hidroxila; $R^{\bullet}$ : radicais
orgânicos; ROO <sup>•</sup> : radicais orgânicos peroxila ; S: inibidores; R: produto de reação;
M: micropoluente; Moxid: micropoluente oxidado (Adaptado de GOTTSCHALK;
LIBRA; SAUPE, 2000)
Figura 12 - Representação simplificada da reação em meio aquoso de fenol com o
ozônio molecular (Adaptado de GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000)
Figura 13 - Possível mecanismo de degradação da ciprofloxacina (Adaptado de DE
WITTE <i>et al.</i> , 2009b)
Figura 14 - Equipamento experimental (AM: ponto de amostragem)
Figura 15 - (a) Gerador de Ozônio; (b) Tanque de Mistura; (c) Espectrofotômetro e
Reator; (d) Detalhe do reator48
Figura 16 - Analisador de carbono orgânico total (COT)
Figura 17 - Sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)50

Figura 22 - Representação esquemática da distribuição dos experimentos segundo o planejamento experimental Doehlert para as variáveis independentes codificadas  $X_i$ .  $X_1$ : concentração de ozônio na corrente gasosa alimentada ao reator, correspondente a uma dada porcentagem da tensão máxima aplicada no gerador de ozônio; X<sub>2</sub>: pH; X<sub>3</sub>: concentração inicial de ciprofloxacina, [CIP]<sub>0</sub>. Os números dos experimentos são indicados nos vértices dos triângulos e do hexágono, e no centro Figura 23 - Sistema empregado no experimento de degradação de ciprofloxacina com DMPO, com detalhe da coluna cilíndrica......57 Figura 25 - Resultado dos ensaios de hidrólise com valores médios da duplicata. Experimentos 1 (•), 2 (•), 3 (•), 4(•) e 5 (•). Condições indicadas na Tabela 9.....62 Figura 26 - Resultados da produção de ozônio através da variação da tensão de aplicação no gerador: 8,0 mO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (-), 17,7 mO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (-) e 24,9 mO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (-).......63 Figura 27 - Resultados do experimento 1 realizado em triplicata. 1A (•, •, •, -);1B  $(\bullet, \bullet, \bullet, -)$ ;1C  $(\bullet, \bullet, \bullet, -)$ . [CIP]<sub>0</sub> = (15,6±0,2) mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> e pH = 7; [O<sub>3</sub>] = (17,1±0,6) mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>......65 Figura 28 - Resultados do experimento 1, barra de erros com desvio padrão; (a) Evolução de [CIP] com o tempo; (b) Evolução de COT com o tempo;  $[CIP]_0 =$  $(15,6\pm0,2) \text{ mg L}^{-1}; \text{ pH} = 7; [O_3] = (17,1\pm0,6) \text{ mgO}_3 \text{ L}^{-1}.....65$ Figura 29 - Evolução de [CIP] (•) e de COT (•) em função do tempo para os experimentos 1A, 1B, 1C e 2 do planejamento experimental. Condições indicadas na 

Figura 30 - Evolução de [CIP] (•) e de COT (•) em função do tempo para os experimentos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 do planejamento experimental. Condições indicadas Figura 31 - Evolução de [CIP] (•) e de COT (•) em função do tempo para os experimentos 9, 10, 11, 12 e 13 do planejamento experimental. Condições indicadas 16,2 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Tempos de amostragem: (-) 0 minutos; (-) 1 minutos; (-) 2 **Figura 33** - Comparação dos experimentos 1 ( $[CIP]_0 = (15,6\pm0,2) \text{ mg } L^{-1}$ ; pH<sub>0</sub> = 7,0;  $[O_3] = (17, 1\pm 0, 6) \text{ mgO}_3 \text{ L}^{-1}$ : (•) CIP, (•) COT e (--)  $[O_3]$ ; Experimentos 2 ([CIP]\_0 = 15,8 mg  $L^{-1}$ ;  $pH_0 = 7,0$ ;  $[O_3] = 24,9$  mg $O_3$   $L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT e (-)  $[O_3]$ ; Experimento 5 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,7 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 7,0; [O<sub>3</sub>] = 8 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT, **Figura 34** - Comparação dos experimentos 6 ( $[CIP]_0 = 15,7 \text{ mg L}^{-1}; pH_0 = 3,5; [O_3] =$ 13,9 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (-)  $[O_3]$ ; Experimentos 8 ( $[CIP]_0 = 16,5$  mg L<sup>-1</sup>; **Figura 35** - Comparação dos experimentos 3 ( $[CIP]_0 = 15,2 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 10,5$ ;  $[O_3]$ = 22,2 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (--) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 11 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,6 mg L<sup>-1</sup>) <sup>1</sup>;  $pH_0 = 10.5$ ;  $[O_3] = 14.1 \text{ mgO}_3 \text{ L}^{-1}$ : (•) CIP, (•) COT e (-)  $[O_3]$ ......74 **Figura 36** - Comparação dos experimentos 6 ( $[CIP]_0 = 15,7 \text{ mg L}^{-1}; pH_0 = 3,5; [O_3] =$ 13,9 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (-) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 11 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,6 mg L<sup>-1</sup>; **Figura 37** - Comparação dos experimentos 3 ( $[CIP]_0 = 15,2 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 10,5$ ;  $[O_3]$ = 22,4 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (--) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 8 ([CIP]<sub>0</sub> = 16,5 mg L<sup>-1</sup>; **Figura 38** - Comparação dos experimentos 7 ( $[CIP]_0 = 5,3 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 5,8$ ;  $[O_3] =$ 14,2 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (-) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 9 ([CIP]<sub>0</sub> = 5,0 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 5,7; [O<sub>3</sub>] = 22,5 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (●) CIP, (■) COT e (−−) [O<sub>3</sub>]; Experimento 10 ([CIP]<sub>0</sub> **Figura 39** - Comparação dos experimentos 4 ( $[CIP]_0 = 25.9 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $pH_0 = 8.2$ ;  $[O_3] =$ 23,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (-) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 12 ([CIP]<sub>0</sub> = 24,9 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 8,4; [O<sub>3</sub>] = 14,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (●) CIP, (■) COT e (—) [O<sub>3</sub>]; Experimento 13 ([CIP]<sub>0</sub> = 25,8 mg L<sup>-1</sup>;  $pH_0 = 4,7$ ;  $[O_3] = 16,2 mgO_3 L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT, (-)  $[O_3]$ .....79

**Figura 53** - Resultados do experimento 3 prolongado ([CIP]<sub>0</sub>=15,1 mg L<sup>-1</sup>; pH=10,5; [O<sub>3</sub>]=22,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (●) CIP, (■) COT, (→) [O<sub>3</sub>].....96

**Figura 54** - Experimento 3 realizado com pH livre ([CIP]<sub>0</sub>=15,6 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub>=10,5; [O<sub>3</sub>]=22,8 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT, (-) [O<sub>3</sub>]; experimento 3 realizado com pH controlado ([CIP]<sub>0</sub>=15,2 mg L<sup>-1</sup>; pH=10,5; [O<sub>3</sub>]=22,4 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT, (-) [O<sub>3</sub>].

**Figura 55** - Evolução do pH em função do tempo de ozonização. Experimento 3 realizado com pH livre ([CIP]<sub>0</sub>=15,6 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub>=10,5; [O<sub>3</sub>]=22,8 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>)......99 **Figura 56** - Reação entre o DMPO e radicais hidroxila formados pelos processos oxidativos avançados (Adaptado de OPPENLANDER, 2000)......99 **Figura 57** - Resultado de degradação de CIP sem adição de DMPO ([CIP]<sub>0</sub>=5,0 mg L<sup>-1</sup>; pH=9,5; [O<sub>3</sub>]=16,7 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•); Com adição de DMPO ([CIP]<sub>0</sub>=4,5 mg L<sup>-1</sup>; pH=9,7; [O<sub>3</sub>]=16,7 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) (•) e sua duplicata ([CIP]<sub>0</sub>=4,9 mg L<sup>-1</sup>; pH=9,7; [O<sub>3</sub>]=16,7 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•).

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Geração de Quinolonas    29
Tabela 2 - Concentrações médias de ciprofloxacina detectados em ambiente
aquático32
<b>Tabela 3</b> - Classificação dos processos oxidativos avançados33
Tabela 4 - Propriedades do ozônio
Tabela 5 - Nº CAS, fórmula molecular e estrutural da ciprofloxacina e do DMPO46
Tabela 6 - Projeto fatorial completo com os valores nominais das variáveis
estudadas para estudo da hidrólise da CIP52
Tabela 7 - Domínio experimental dos valores nominais das variáveis estudadas55
<b>Tabela 8</b> - Matriz Doehlert para três variáveis independentes <sup>(a)</sup> 56
Tabela 9 - Ensaio de hidrólise de CIP (experimentos realizados em duplicata
conforme planejamento da Figura 19)61
<b>Tabela 10</b> - Resultados experimentais (cf. Tabela 8)64
Tabela 11 - Domínio experimental dos novos valores das variáveis estudadas79
Tabela 12 - Matriz Doehlert com valores recodificados das variáveis independentes
e valores das respostas consideradas para análise estatística80
Tabela 13 - Análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de CIP
em 2 minutos ( $Y_1$ , mg L <sup>-1</sup> ). Consideram-se 95% de confiança e 5 graus de liberdade
(t=2,7765). $X_1$ : variável codificada correspondente à concentração de ozônio no gás
à entrada do reator, [O <sub>3</sub> ]; $X_2$ : variável codificada correspondente ao pH; $X_3$ : variável
codificada correspondente à concentração inicial de CIP, [CIP] <sub>0</sub> 81
Tabela 14 - Análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de CIP
em 2 minutos ( $Y_1$ , mg L <sup>-1</sup> ); o novo modelo considera apenas os efeitos significativos
identificados na Tabela 13. Consideram-se 95% de confiança83
Tabela 15 - Análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de CIP
em 2 minutos ( $Y_1$ , mg L <sup>-1</sup> ); o modelo considera os efeitos significativos identificados
na Tabela 13 e os termos $X_1^2$ e $X_2^2$ . Consideram-se 95% de confiança
Tabela 16 - Análise de variância (ANOVA) para a taxa inicial de degradação de CIP
$(Y_2, \text{ mg } L^{-1} \text{ min}^{-1})$ . Consideram-se 95% de confiança e 5 graus de liberdade
(t=2,7765). X <sub>1</sub> : variável codificada correspondente à concentração de ozônio no gás

# LISTA DE SIGLAS

CIP	Ciprofloxacina
СОТ	Carbono orgânico total
DBO <sub>5</sub>	Demanda bioquímica de oxigênio em cinco dias
DMPO	5,5-dimetil-1-pirrolina-N-óxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPH	Eletrodo padrão de hidrogênio
ERP	Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica
ETE	Estação de tratamento de efluentes
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
POA	Processo oxidativo avançado
US	Ultrassom
UV	Ultravioleta

# LISTA DE SÍMBOLOS

C <sub>G</sub>	Concentração de ozônio na fase gasosa	mg L⁻¹
C <sub>Gi</sub>	Concentração de equilíbrio do ozônio no gás na interface	mg L⁻¹
	gás-líquido	
CL	Concentração de ozônio na fase líquida	mg L⁻¹
C <sub>Li</sub>	Concentração de equilíbrio do ozônio no líquido na	mg L⁻¹
	interface gás-líquido	
Н	Constante de Henry	mol L <sup>-1</sup> kPa <sup>-1</sup>
k	Constante cinética	L mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>
Ka	Constante de equilíbrio ácido-base	-
р <sub>О3</sub>	Pressão parcial do ozônio	kPa
3	Coeficiente de absorção molar	L mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	21
2 OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1 ÁGUA	25
3.2 TRATAMENTO DE EFLUENTES	26
3.3 FÁRMACOS	27
3.4 ANTIBIÓTICOS	28
3.5 FLUOROQUINOLONAS	29
3.6 CIPROFLOXACINA	32
3.7 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS E FÁRMACOS	33
3.8 OZÔNIO	34
3.8.1 Processos de geração de ozônio	35
3.8.2 Transferência do ozônio entre as fases gasosa e líquida	
3.8.3 Vias de reação do ozônio	
3.8.3.1 Via Direta	38
3.8.3.2 Via Indireta	
3.8.4 Aplicação	42
4 MATERIAIS E MÉTODOS	45
4.1 REAGENTES	45
4.2 EQUIPAMENTO EXPERIMENTAL	46
4.3 ANÁLISES	48
4.3.1 Carbono Orgânico Total (COT)	
	40
4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	
<b>4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)</b> 4.4 CALIBRAÇÃO DO GERADOR DE OZÔNIO	<b>49</b> 50
<ul> <li>4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)</li> <li>4.4 CALIBRAÇÃO DO GERADOR DE OZÔNIO</li> <li>4.5 ENSAIO DE HIDRÓLISE DE CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO AQUO</li> </ul>	
<ul> <li>4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)</li> <li>4.4 CALIBRAÇÃO DO GERADOR DE OZÔNIO</li> <li>4.5 ENSAIO DE HIDRÓLISE DE CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO AQUO</li> <li>4.6 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO DE CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO</li> </ul>	
<ul> <li>4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)</li> <li>4.4 CALIBRAÇÃO DO GERADOR DE OZÔNIO</li> <li>4.5 ENSAIO DE HIDRÓLISE DE CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO AQUO</li> <li>4.6 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO DE CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO</li> <li>POR OZÔNIO</li> </ul>	

4.6.2 Planejamento experimental	55
4.7 ENSAIO DE DEGRADAÇÃO DE CIP NA PRESENÇA DE DMPO	57
4.8 ENSAIOS DE RESPIROMETRIA	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1 ENSAIOS DE HIDRÓLISE	61
5.2 CALIBRAÇÃO DO GERADOR DE OZÔNIO	62
5.3 ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE CIP EM SOLUÇÃO AQUOSA	63
5.3.1 Resultados de degradação de CIP e COT	63
5.3.2 Análise estatística	79
5.3.2.1 Variável dependente: variação da concentração de CIP em 2 minutos	81
5.3.2.2 Variável dependente: taxa inicial de degradação de CIP	86
5.3.2.3 Variável dependente: variação da concentração de COT em 30 minutos	90
5.3.3 Resultados de degradação de CIP e COT em 120 minutos	95
5.3.4 Resultados de degradação de CIP em pH livre e pH constante	97
5.3.5 Resultados de degradação de CIP na presença de DMPO	99
5.4 ENSAIOS DE RESPIROMETRIA	.100
6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	103
REFERÊNCIAS	106

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Medicamentos são utilizados tanto na medicina humana como na veterinária, desenvolvidos para manterem suas propriedades químicas por um tempo suficiente para servir a um propósito terapêutico (BILA; DEZOTTI, 2003).

Quando administrado, o medicamento é parcialmente metabolizado e excretado na urina e nas fezes, e subsequentemente entram na estação de tratamento de esgoto, onde são tratados juntamente com outros constituintes orgânicos e inorgânicos do efluente. Estudos comprovaram que os tratamentos tradicionais de esgoto são ineficientes para total remoção de fármacos (TERNES, 1998; GEBHARDT; SCHROEDER, 2007) propiciando a contaminação dos recursos hídricos.

A frequente ocorrência de fármacos residuais no ambiente aquático e na água potável (TERNES, 1998; KOLPIN *et al.*, 2002; HEBERER, 2002) é um importante tópico internacional, levantando a questão sobre o seu impacto no ambiente e na saúde pública. Os efeitos adversos causados por compostos farmacêuticos incluem toxicidade aquática, genotoxicidade e distúrbios endócrinos (KÜMMERER, 2004).

Especialmente no caso dos antibióticos, o aumento no uso e exposição durante a última década pode levar ao aumento da resistência bacteriana contra tais compostos, que é favorecida pelo contato direto em baixa concentração (JORGENSEN; HALLING-SORENSEN, 2000). Além disso, a exposição contínua a um antibiótico em particular pode levar à resistência a toda uma classe de antibióticos (DE WITTE *et al.*, 2009a).

Ciprofloxacina é um antibiótico sintético pertencente ao grupo das fluoroquinolonas, introduzido para uso em 1987, sendo um dos antibióticos mais prescritos atualmente (DE WITTE *et al.*, 2009b). Assim, como todos os fármacos, esse antibiótico não é totalmente metabolizado pelo organismo sendo parcialmente excretado para o meio ambiente.

Mesmo que quantidades relativamente pequenas de antibióticos alcancem as águas superficiais, isso não exclui que esses compostos sejam biologicamente ativos, afetando organismos aquáticos, mesmo em concentrações de  $\mu$ g L<sup>-1</sup> e ng L<sup>-1</sup> (HUBER *et al.*, 2005).

Pouco se sabe a respeito dos efeitos decorrentes do contato e do consumo de água contaminada com fármacos em longo prazo, mas crer na redução do consumo de medicamentos é irreal. Deste modo, o desenvolvimento de processos avançados de tratamento de efluentes e a conscientização da população sobre o consumo apropriado e o descarte de fármacos, seriam opções adequadas para a diminuição dos despejos contínuos de fármacos no ambiente aquático.

Assim, os processos oxidativos avançados vêm sendo implementados como opção de tratamento alternativo ou complementar para diversas classes de poluentes orgânicos (IKEHATA; NAGHASHKAR; EL-DIN, 2006), são apontados na literatura por ter alto potencial de oxidação de compostos farmacêuticos tanto em água (HUBER *et al.*, 2003; TERNES *et al.*, 2002) como em efluentes aquosos (TERNES *et al.*, 2003). Nesses processos, a oxidação ocorre quando um oxidante, por exemplo, o ozônio, oxida diretamente os contaminantes e/ou promove a geração de radicais hidroxila (•OH), espécies altamente reativas e pouco seletivas (MELO *et al.*, 2009).

A ozonização é um processo oxidativo avançado utilizado tradicionalmente no tratamento de água potável para o controle de odor, sabor e também para desinfecção. A fim de melhorar o desempenho pode-se também combinar o ozônio com a radiação UV, peróxido de hidrogênio e com espécies de ferro ou complexos de cobre. Por outro lado, a ozonização é um processo pouco ou na maioria dos casos não aplicado para tratamento de efluentes (KLAVARIOTI; MANTAZAVINOS; KASSINOS, 2009) com a finalidade de degradar completamente antibióticos e resíduos de seu metabolismo.

Este trabalho procura contribuir nesse sentido, ao estudar uma alternativa para o tratamento de soluções aquosas contendo o antibiótico ciprofloxacina, por meio de processo oxidativo avançado, com uso da técnica de ozonização.

O trabalho inicia-se pela revisão bibliográfica contendo itens referentes à importância da água, tratamento de efluentes, evolução do uso de fármacos e antibióticos, os principais processos oxidativos avançados e os fundamentos do processo de ozonização. Na sequência, detalham-se os materiais, equipamentos, procedimentos experimentais e técnicas analíticas empregados. Segue a apresentação e discussão dos resultados dos experimentos realizados, a maior parte dos quais segundo um planejamento experimental Doehlert, bem como a análise estatística que consolida as principais observações quanto aos efeitos das

variáveis estudadas em relação à degradação do fármaco. Por fim, realiza-se o fechamento do trabalho com as principais conclusões e referenciando a literatura científica consultada.

## 2 OBJETIVOS

#### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é avaliar a degradação do antibiótico ciprofloxacina em solução, por meio de processo oxidativo avançado baseado na oxidação por ozônio.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a degradação de ciprofloxacina em solução aquosa por ozonização;
- Avaliar a degradação de ciprofloxacina em relação à concentração inicial do fármaco, pH e concentração de ozônio no gás alimentado ao reator;
- Realizar a análise estatística dos resultados do planejamento experimental tendo em vista a avaliação dos efeitos das variáveis estudadas quanto às respostas selecionadas para quantificar a remoção do antibiótico;
- Avaliar a qualidade de soluções de antibiótico, antes e após a ozonização, em termos da inibição da biodegradação por meio de ensaios respirométricos.

# **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### 3.1 ÁGUA

A água é um recurso natural de valor econômico, estratégico e social, essencial à existência, bem estar do homem e à manutenção dos ecossistemas do planeta.

Nosso planeta é constituído de <sup>3</sup>/<sub>4</sub> de água, sendo 95% águas salgadas e 5%, águas doces. Desses 5%, aproximadamente 99,7% encontram-se nas geleiras e 0,3% constituem as águas superficiais e subterrâneas.

A quantidade de água doce encontrada no território brasileiro representa 8% da disponível no mundo, sendo que 80% estão na Amazônia, com apenas 5% da população, e os outros 20% distribuídos pelo País, com 95% da população (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

O consumo da água doce é determinado pelas diversas atividades humanas, que variam entre regiões e países. No Brasil, utilizam-se 46% da água doce para irrigação, 27% para o consumo doméstico e 18% para a indústria (ANA, 2007).

Antigamente, considerava-se a água como um recurso infinito. Porém, atualmente o mau uso, aliado à crescente demanda pelos recursos hídricos, vêm preocupando especialistas e autoridades pelo evidente decréscimo de água com qualidade disponível e de fácil acesso.

O aumento do consumo de água é decorrente do crescimento populacional, industrial e agrícola, causando impactos nos ecossistemas aquáticos, levando a contaminações das águas subterrâneas e das reservas disponíveis, que alteram a qualidade da água e, consequentemente, repercutem na saúde humana (TUNDISI, 2003), a curto, médio e longo prazos.

Assim, torna-se importante a criação de estratégias que compatibilizem o uso da água nas atividades humanas à ideia de que os recursos hídricos não são abundantes no Brasil. Isto significa que os atuais conceitos sobre o uso da água e o tratamento e descarte dos efluentes gerados devem ser reformulados. Portanto, a racionalização do uso e reuso da água torna-se essencial para a garantia da

continuidade das atividades humanas diante desse cenário de escassez de recursos hídricos (MIETZWA; HESPANHOL, 2005).

### 3.2 TRATAMENTO DE EFLUENTES

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

O tratamento biológico consiste na degradação da matéria orgânica, remanescente do tratamento primário, por microorganismos aeróbios e anaeróbios.

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

### 3.3 FÁRMACOS

Os fármacos são substâncias químicas dotadas de propriedades farmacológicas que são utilizadas com finalidade medicinal. Tais substâncias apresentam solubilidade moderada em água, sendo lipofílicas e biologicamente ativas. Normalmente, sua administração é tópica (inalação e aplicação na pele), interna (via oral), ou parenteral (injeções e infusões).

Após o uso, as moléculas são absorvidas, distribuídas, parcialmente metabolizadas, em órgãos como o fígado e rins, e então excretadas do corpo.

O organismo é responsável por eliminar o excesso de fármaco, assim como outros compostos tóxicos, através de biotransformações enzimáticas que os convertem em compostos mais polares e hidrofílicos (IKEHATA; NAGHASHKAR; EL-DIN, 2006).

Bila e Dezotti (2003) propuseram as principais rotas de contaminação do ambiente aquático pelos fármacos e seus resíduos, conforme a Figura 1.



A principal rota de entrada de resíduos farmacêuticos no ambiente é o lançamento de esgoto doméstico, tratado ou não, em cursos de água. Porém,

devem ser considerados também os efluentes da indústria farmacêutica, efluentes rurais, fármacos de uso veterinário depositados em esterco animal comumente utilizado para adubação de solos e também disposição inadequada de fármacos vencidos (BILA; DEZOTTI, 2003; HEBERER, 2002). Assim, o despejo contínuo de pequenas quantidades de fármacos no ambiente aquático pode ocasionar no futuro riscos aos organismos aquáticos e terrestres, o que permite classificar a poluição hídrica causada por fármacos como um problema ambiental na atualidade (KLAVARIOTI; MANTAZAVINOS; KASSINOS, 2009).

### 3.4 ANTIBIÓTICOS

Os antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de bactérias e fungos. São considerados como bactericidas, quando a bactéria morre, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALSH, 2003). Os antibióticos de origem natural ou semi-sintética são principalmente para uso medicinal e são classificados em β-lactâmicos, tetraciclinas, aminoglicosídeos, macrolídeos, peptídeos cíclicos, estreptograminas, entre outros. Já os antibióticos de origem sintética são classificados em sulfonamidas, fluoroquinolonas e oxazolidinas (PATRICK, 1995; PUPO *et al.*, 2006; ABRAHAM, 2003); para cada classe o mecanismo de ação antibiótica é diferente.

Particularmente para os antibióticos, a preocupação deve-se principalmente pela alteração na constituição genéticas dos microorganismos com efeitos diretos e indiretos por contato em baixa concentração, permitindo o aparecimento de bactérias multi-resistentes (DAVISON, 1999; KOLÁR; URBÁNEK; LÁTAL, 2001; SCHWARTZ *et al.*, 2003).

#### 3.5 FLUOROQUINOLONAS

A família das quinolonas é classificada em quatro gerações (Tabela 1), sendo que cada geração apresenta maior ação antimicrobiana, maior capacidade bactericida e maior diversidade de propriedades farmacológicas. Essa ação se dá pela capacidade que as quinolonas têm de interagir com as enzimas topoisomerases II (DNA-girase) e IV, responsáveis pela modificação topológica do DNA durante a síntese bacteriana (PATRICK, 1995). A Figura 2 apresenta a estrutura química geral das quinolonas.

Tabela 1 - Geração de Quinolonas			
Quinolonas	Compostos	Ação Contra	
1 ° Geração	Ácido Nalidixíco	Enterobactérias	
2° Geração	Ácido Pipemídico Cinoxacina	Pseudomonas	
3° Geração	Ciprofloxacina Norfloxacina	Gram-negativos Gram-positivas	
4° Geração	Moxifloxacina Gatifloxacina	Gram-negativos Gram-positivas	



**Figura 2** - Estrutura química das quinolonas (Adaptado de APPELBAUM; HUTER, 2000); R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 e R8: nomenclatura dos carbonos da molécula (posições); X: átomo de carbono ou nitrogênio.

A primeira geração foi descoberta em 1962, com a síntese e a purificação da cloroquina, composto que apresenta atividade contra bactérias gram-negativas,

denominado de ácido nalidíxico e apresentada na Figura 3 (LESHER *et al.*,1962), porém seu uso era limitado às infecções urinárias não complicadas causadas por enterobactérias.



Figura 3 - Estrutura do ácido nalidíxico (Adaptado de LESHER et al., 1962).

Com o objetivo de melhorar ainda mais a atividade contra as bactérias gramnegativas, a posição R7 do ácido nalidíxico foi substituída pela piperazina, o que resultou nos antibióticos da segunda geração, como o ácido pipemídico (Figura 4). Embora muitas substituições tenham sido realizadas com o propósito de expandir a atividade contra diversos patógenos, a segunda geração também permaneceu limitada para o uso clínico (APPELBAUM; HUTER, 2000).



Figura 4 - Estrutura do ácido pipemídico (Adaptado de WANG; HE; HUANG, 2010).

Descoberta em 1978, a norfloxacina (Figura 5) proporcionou avanço para síntese de inúmeros antibióticos do grupo das fluoroquinolonas, a exemplo da ciprofloxacina (ROCHA *et al.*, 2011).



Figura 5 - Estrutura da norfloxacina (Adaptado de RIVAS et al., 2011).

As fluoroquinolonas são sintetizadas com o flúor na posição R6 e o anel piperazínico na posição R7, aumentando a potência dos antibióticos da terceira geração, como agentes antimicrobianos sintéticos, e apresentando grande espectro de atividade (APPELBAUM; HUTER, 2000; DE SOUZA *et al.*, 2003).

A quarta geração foi desenvolvida devido à resistência bacteriana às gerações de antibióticos anteriores (APPELBAUM; HUTER, 2000), com a adição do grupo metoxi na posição R8 e do grupo metil no anel piperazílico, sintetizando a gatifloxacina (Figura 6) (FUKUDA *et al*, 2001).



Figura 6 - Estrutura da gatifloxacina (Adaptado de FUKUDA et al., 2001).

#### 3.6 CIPROFLOXACINA

A ciprofloxacina (CIP, Figura 7), desenvolvida por pesquisadores da Bayer na Alemanha (TAVARES, 1996) pertence à terceira geração das quinolonas, sendo a mais ativa frente às bactérias gram-negativas e amplamente utilizada em tratamentos de infecções urinárias, respiratórias, gastrointestinais, além de infecções na pele, ossos e articulações (PATRICK, 1995). Os valores de pK<sub>a</sub> da ciprofloxacina são 6,2 e 8,8 (VÁZQUEZ *et al.*, 2001).



Figura 7 - Estrutura da ciprofloxacina (Adaptado de GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

A Tabela 2 apresenta as concentrações médias de ciprofloxacina detectadas em ambiente aquático, o que reforça a necessidade de desenvolvimento de novas técnicas capazes de degradar totalmente este antibiótico em processos de tratamento de água e de efluentes.

Tabela 2 - Concentrações medias de cipronoxacina detectados em ambiente aquatico.			
Concentração média (µg L <sup>-1</sup> )	Matriz	Referência	
0,199	Águas Superficiais/Brasil	1	
0,260	Esgoto Bruto/Itália	2	
0,097	Efluente de ETE/Itália	2	
0,060	Efluente de ETE/França	3	
0,070	Efluente de ETE/Grécia	3	
0,030	Efluente de ETE/Suécia	3	
0,370	Efluente de ETE/Suíça	4	
0,020	Águas Superficiais/EUA	5	

Tabela 2 - Concentrações médias de ciprofloxacina detectados em ambiente aquático

Fontes: (1) LOCATELLI; SODRÉ; JARDIM, 2011; (2) CASTIGLIONI *et al.*, 2006; (3) ANDREOZZI; MAROTTA; PAXÉUS, 2003; (4) GOLET *et al.*, 2001; (5) KOLPIN *et al.*, 2002.

### 3.7 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS E FÁRMACOS

Os processos oxidativos avançados (POA) são conhecidos como tecnologias promissoras no tratamento de água e efluentes contendo poluentes orgânicos não biodegradáveis. Embora os sistemas reacionais dos POAs sejam diferentes, todos apresentam a mesma característica: a produção de radicais hidroxila (\*OH), espécies pouco seletivas e muito reativas. São capazes de mineralizar contaminantes a dióxido de carbono e água ou oxidá-los a compostos biodegradáveis e não tóxicos (ANDREOZZI et al., 1999).

Os POAs são classificados em sistemas homogêneos e heterogêneos, podendo gerar radicais hidroxila com ou sem emprego de radiação ultravioleta (UV). A Tabela 3 apresenta uma classificação típica dos processos oxidativos avançados (HUANG; DONG; TANG, 1993).

Com ou sem Radiação	Tipo de sistemas	
COM RADIAÇÃO	Sistemas Homogêneos $H_2O_2 / UV$ Feixe de elétrons Ultrassom (US) $H_2O_2 / US$ UV / US $O_3 / UV$ Sistemas Heterogêneos $TiO_2 / UV$ $TiO_2 / UV$	
SEM RADIAÇÃO	Sistemas Homogêneos $H_2O_2 / Fe^{2+}$ (Fenton) $O_3 / H_2O_2$ $O_3 / HO^{\bullet}$ Sistemas Heterogêneos Elétro-Fenton	

Tabela 3 - Classificação dos processos oxidativos avançados

Existem diversos estudos envolvendo o emprego de POAs à degradação de fármacos, a exemplo dos seguintes trabalhos. Arslan-Alanton e Dogruel (2004) estudaram a degradação dos compostos de formulação da penicilina em um sistema homogêneo e sem radiação, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup> (Fenton), no qual obtiveram redução de 81%

de carbono orgânico dissolvido, quando reagiram os compostos com concentração inicial de 400 mg L<sup>-1</sup>, com 1 mmol L<sup>-1</sup> de Fe<sup>2+</sup> e 20 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mantendo o pH constante em 3.

Zhang, Zhou e Ning (2007) estudaram a degradação de dois hormônios, o estrógeno e o 1,7  $\beta$ -estradiol, em um sistema heterogêneo com radiação, TiO<sub>2</sub>/UV. Com concentração inicial dos dois hormônios entre 100-1000 ng L<sup>-1</sup>, utilizaram uma lâmpada UV de 15 W (emite no comprimento de onda 253 nm) e 1 g L<sup>-1</sup> de TiO<sub>2</sub>, obtendo assim remoção de 94% dos dois compostos em apenas 1 hora.

Com um sistema homogêneo e com radiação,  $H_2O_2/UV$ , Andreozzi *et al.* (2003) degradaram o antiinflamatório paracetamol, com 20 mmol L<sup>-1</sup> de peróxido de hidrogênio, utilizando uma lâmpada UV com emissão em 254 nm e pH 3, obtendo remoção de 40% do carbono orgânico total.

3.8 OZÔNIO

O ozônio é uma forma alotrópica do oxigênio. Em temperatura ambiente encontra-se no estado gasoso, é incolor, com odor pungente e de fácil detecção em concentrações de 0,02 a 0,05 ppm. Quando em excesso, superior a 30%, o ozônio torna-se um gás instável e explosivo (BURNS, 2010). À temperatura de 25 ℃ e pH 7, o ozônio é considerado um agente oxidante (potencial padrão de redução igual a 2,7 V EPH); apenas o flúor, oxigênio atômico e radicais hidroxila têm potencial mais alto (BELTRÁN, 2004).

O ozônio absorve radiação na região do infravermelho, luz visível e ultravioleta (UV). Sua máxima absorção é realizada no comprimento de onda de 253,7 nm, com coeficiente de absorção molar na fase gasosa  $\varepsilon$  = 2950 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (OPPENLÂNDER, 2003) o que leva à sua fotodecomposição (BURNS, 2010). A Tabela 4 apresenta as principais características do ozônio:

Tabela 4 - Propriedades do ozônio.		
Propriedades	Valores	
Massa Molar	48 g mol <sup>-1</sup>	
Temperatura de ebulição (1atm)	-111,9°C	
Calor latente	297 kJ kg⁻¹	
Calor específico	0,767 kJ kg⁻¹ ℃	
Densidade específica do gás (ar 1,0)	1,66	
Fonte: BURNS, 2010.		

3.8.1 Processos de geração de ozônio

Como é difícil o transporte e o manuseio do ozônio, é comum que seja produzido no local de uso. O ozônio pode ser produzido por três diferentes meios:

1° Expondo oxigênio à radiação UV;

2° Através da eletrólise do ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>);

3° Realizando uma descarga elétrica na presença de oxigênio molecular.

A segunda e a terceira técnicas produzem maior concentração de ozônio (BALAKRISHNAN; ARUNAGIRI; RAO, 2002). Dentre as três técnicas citadas, a terceira é a mais utilizada. A produção de ozônio, nesse caso, ocorre através da aplicação de uma descarga elétrica em uma célula onde escoa oxigênio puro ou ar.

O mecanismo de geração do ozônio ocorre através da excitação e aceleração de elétrons através de um campo elétrico intenso. A corrente alternada causa atração dos elétrons para um dos eletrodos e em seguida para o outro eletrodo. Quando os elétrons atingem velocidade suficiente, são capazes de dividir algumas moléculas de oxigênio em radicais livres de átomos de oxigênio. Esses átomos de oxigênio podem se combinar com a molécula de oxigênio para formar o ozônio (CHEREMISINOFF, 2002), conforme as seguintes reações:

$O_2 \rightarrow 20^{\bullet}$	(1)
$0^{\bullet} + 0_2 \rightarrow 0_3$	(2)

	-	0		( )
$30_2 \rightarrow$	203			(3)

A Figura 8 esquematiza a célula geradora de ozônio:



Figura 8 - Célula geradora de ozônio (Adaptado de GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000).

## 3.8.2 Transferência do ozônio entre as fases gasosa e líquida

A ozonização ocorre ao se borbulhar ozônio em água, permitindo a oxidação de compostos orgânicos e inorgânicos. A transferência de ozônio da fase gasosa para a fase líquida é obviamente uma etapa limitante do processo de ozonização, e vários modelos têm sido propostos para descrevê-la. Normalmente os modelos postulam que a concentração em ambas as fases é homogênea, com exceção de um filme que fica em torno da interface gás-líquido (GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000).



Figura 9 - Esquema da interface gás-líquido.
Muitos são os parâmetros que interferem no processo de transferência de massa, dentre os quais podem ser citados: a vazão do gás, concentração de ozônio na fase gasosa, propriedades do difusor (material; tamanho de poro) e tamanho de bolhas, viscosidade e tensão superficial da solução aquosa e geometria do reator (GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000). A dissolução do ozônio em água obedece à lei de Henry, conforme Equação 4, e a Figura 10 mostra a dependência da constante de Henry em relação à temperatura e ao pH do meio.

$$[O_3] = H p_{O_3} \tag{4}$$



Figura 10 - Solubilidade do ozônio em água em relação à variação de temperatura e pH (Adaptado de BATTINO; RETTICH; TOMINAGA, 1983).

### 3.8.3 Vias de reação do ozônio

A degradação por ozônio pode ocorrer por vias diferentes, que dependem das condições reacionais, ou seja, do pH, da temperatura, da concentração, da natureza dos compostos presentes etc., e tem como resultado diferentes produtos da oxidação. A Figura 11 apresenta o mecanismo de reação pela via direta (reação por ozônio molecular) e via indireta (com a formação de radicais hidroxila, <sup>•</sup>OH).



**Figura 11** - Mecanismo de ozonização pelas vias direta e indireta, O<sub>2</sub><sup>•</sup>: ânion radical superóxido; HO<sub>2</sub><sup>•</sup>: radical hidroperoxila; O<sub>3</sub><sup>•</sup>: ânion radical ozoneto; HO<sub>3</sub><sup>•</sup>: trióxido de hidrogênio; HO<sub>4</sub><sup>•</sup>: tetróxido de hidrogênio; HO<sup>•</sup>: radical hidroxila; R<sup>•</sup>: radicais orgânicos; ROO<sup>•</sup>: radicais orgânicos peroxila ; S: inibidores; R: produto de reação; M: micropoluente; M<sub>oxid</sub>: micropoluente oxidado (Adaptado de GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000).

### 3.8.3.1 Via Direta

Em meio ácido (pH < 4), a oxidação ocorre por via direta, com baixas velocidades (constantes cinéticas nas faixa  $1 - 10^3 \text{ L} \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) e alta seletividade (GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000), sendo o agente oxidante a molécula de ozônio.

Quando o ozônio reage com contaminantes orgânicos em água, incluindo matéria orgânica natural, oxida-os parcialmente, formando moléculas de baixo peso molecular e com maior polaridade, como aldeídos e ácidos carboxílicos. Os

subprodutos dessa oxidação em geral não são tóxicos, tendendo a ser biodegradáveis. Muitas vezes a ozonização é seguida por um filtro de carvão ativado, a fim de remover os materiais orgânicos biodegradáveis (SINGER; RECKHOW 1976).

Os produtos finais da reação por via direta são principalmente ácidos carboxílicos, que não podem ser oxidados pelas moléculas de ozônio novamente.

Os compostos suscetíveis à ozonização pela via direta são compostos orgânicos de cadeia insaturada, sistemas aromáticos, compostos que contêm grupos funcionais específicos (OH, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>) e átomos de N, P, O e S (MANTZAVINOS; PSILLAKIS, 2004). Por exemplo, no caso do fenol tem-se, simplificadamente:



Figura 12 - Representação simplificada da reação em meio aquoso de fenol com o ozônio molecular (Adaptado de GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000).

Conforme aumenta o pH a seletividade do ozônio decresce e em pH neutro ocorrem os dois caminhos de oxidação pelas vias direta e indireta (GUROL; VATISTAS, 1987).

### 3.8.3.2 Via Indireta

Em meio básico (pH > 9), a oxidação ocorre por via indireta e envolve vários radicais (em particular radicais hidroxila) que atacam os poluentes orgânicos (MANTZAVINOS; PSILLAKIS, 2004).

A via indireta é muito complexa e influenciada por muitas substâncias. Está dividida em 3 etapas distintas: iniciação, propagação (ou reação em cadeia) e terminação.

Com a decomposição do ozônio, acelerada pelo íon hidróxido (OH<sup>-</sup>), ocorre formação de oxidantes secundários, até a formação dos radicais hidroxila. O radical hidroxila é um forte oxidante, capaz de reagir rapidamente com inúmeros compostos orgânicos e inorgânicos presentes na água, sendo assim pouco seletivo (SINGER; RECKHOW, 1976). Reage por meio de reações de segunda ordem com constantes cinéticas na faixa 10<sup>8</sup> – 10<sup>10</sup> L mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> (GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000). As etapas são descritas simplificadamente a seguir, e todas as equações, constantes cinéticas e constante de equilíbrio ácido-base foram retirados da referência Beltrán (2004).

### INICIAÇÃO:

Durante a iniciação, o ozônio é decomposto em ânion radical superóxido  $(O_2^{\bullet-})$  e radical hidroperoxila  $(HO_2^{\bullet})$ , conforme reação a seguir:

$$O_3 + OH^- \to O_2^{\bullet-} + HO_2^{\bullet} \qquad k_1 = 70 \ L \ mol^{-1} \ s^{-1}$$
 (5)

O radical hidroperoxila (HO<sub>2</sub>•) está sujeito ao equilíbrio ácido-base:

$$HO_2^{\bullet} \rightleftharpoons O_2^{\bullet-} + H^+ \qquad pK_a = 4,8 \tag{6}$$

## PROPAGAÇÃO:

Na propagação, o ozônio reage com ânion radical superóxido  $(O_2^{\bullet-})$ , formando o ânion radical ozoneto  $(O_3^{\bullet-})$ , que se decompõe imediatamente em radical hidroxila  $(OH^{\bullet})$ :

$$O_3 + O_2^{\bullet -} \to O_3^{\bullet -} + O_2$$
  $k_2 = 1.6 \times 10^9 \, L \, mol^{-1} \, s^{-1}$  (7)

$$HO_3^{\bullet} \rightleftharpoons O_3^{\bullet-} + H^+ \qquad pK_a = 8,2 \tag{8}$$

$$HO_3^{\bullet} \to HO^{\bullet} + O_2$$
  $k_3 = 1,1 \times 10^5 \, L \, mol^{-1} \, s^{-1}$  (9)

O radical hidroxila (\*OH) pode reagir com o ozônio da seguinte maneira:

$$HO^{\bullet} + O_3 \to HO_4^{\bullet}$$
  $k_4 = 2.0 \times 10^9 \, L \, mol^{-1} \, s^{-1}$  (10)

$$HO_4^{\bullet} \to O_2 + HO_2^{\bullet}$$
  $k_5 = 2.8 \times 10^4 \, L \, mol^{-1} \, s^{-1}$  (11)

Com a decomposição do tetróxido de hidrogênio (<sup>•</sup>OH<sub>4</sub>) em oxigênio e radical hidroperoxila (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>), a reação em cadeia pode recomeçar.

Grande parte das moléculas orgânicas (R) pode reagir com o radical hidroxila (°OH), gerando radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>/HO<sub>2</sub><sup>•</sup>), promovendo, assim, a reação em cadeia. A reação entre moléculas orgânicas e o radical hidroxila dá origem a radicais orgânicos (R<sup>•</sup>).

$$H_2R + H0^{\bullet} \to HR^{\bullet} + H_20 \tag{12}$$

Quando se tem oxigênio no meio racional formam-se radicais orgânicos peroxila (ROO<sup>•</sup>) (BELTRÁN, 2000), os quais se decompõem em radicais superóxido  $(O_2^{\bullet^-}/HO_2^{\bullet})$ , seguindo novamente a reação em cadeia.

$$HR^{\bullet} + O_2 \to HRO_2^{\bullet} \tag{13}$$

$$HRO_2^{\bullet} \to R + HO_2^{\bullet} \tag{14}$$

$$HRO_2^{\bullet} \to RO + HO^{\bullet} \tag{15}$$

### TERMINAÇÃO:

A terminação ocorre através da reação entre dois radicais, por exemplo:

$$HO^{\bullet} + HO_2^{\bullet} \to O_2 + H_2O \tag{16}$$

A combinação das equações de iniciação e reação em cadeia mostra que três moléculas de ozônio produzem dois radicais hidroxila (•OH).

$$3O_3 + OH^- + H^+ \to 2HO^{\bullet} + 4O_2$$
 (17)

Algumas substâncias orgânicas e inorgânicas reagem com o radical hidroxila (°OH) para formar radicais secundários que não produzem radicais superóxido (HO<sub>2</sub>°/O<sub>2</sub>°<sup>-</sup>). Esses inibidores ou sequestradores geralmente terminam com a reação em cadeia, inibindo também a decomposição do ozônio.

Bicarbonatos (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e carbonatos (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) funcionam como importantes sequestradores ou inibidores de radicais hidroxila. De acordo com Hoigné e Bader (1976), os produtos da reação entre íons bicarbonato ou carbonato e os radicais hidroxila (°OH), não interagem posteriormente com o ozônio. Singer e Reckhow (1976) explicam que em processos de desinfecção, a concentração de carbonatos e bicarbonatos na água é importante, pois em maior concentração dessas espécies, o ozônio é retido por mais tempo quando comparado com soluções de baixa concentração. O bicarbonato e carbonato aumentam o tempo de vida do ozônio em solução aquosa, reagindo com o radical hidroxila (°OH), diminuindo assim a velocidade do mecanismo de decomposição em cadeia do ozônio.

$$H0^{\bullet} + CO_3^{2-} \to OH^- + CO_3^{\bullet-} \qquad k_6 = 4,2 \times 10^6 L \, mol^{-1} \, s^{-1} \tag{18}$$

$$HO^{\bullet} + HCO_3^- \rightarrow OH^- + HCO_3^{\bullet} \qquad k_7 = 1.5 \times 10^7 L \, mol^{-1} \, s^{-1}$$
 (19)

#### 3.8.4 Aplicação

O ozônio é aplicado principalmente no tratamento de água potável para desinfecção, remoção de sabor e odor e para degradação de contaminantes (HUA; BENNETT; LETCHER, 2006). É instável quando em solução aquosa, podendo decompor-se devido a inúmeros constituintes presentes em água, como os íons hidróxido (em pH alto), matéria orgânica natural, íons de ferro, com adição de peróxido de hidrogênio, ou por ação da radiação ultravioleta (SINGER; RECKHOW, 1999).

No processo de desinfecção, o ozônio é o oxidante mais eficiente na inativação de vírus, bactérias e protozoários, se comparado ao cloro, às cloroaminas

e ao dióxido de cloro (CHEREMISINOFF, 2002). Atualmente, o cloro é aplicado como principal agente de desinfecção em tratamentos de efluentes, (LAZAROVA *et al.*, 1999). Porém, durante o tratamento ocorre a formação dos compostos organoclorados, prejudiciais aos organismos aquáticos.

Desta forma, o ozônio é uma alternativa como oxidante e desinfetante, recomendado para melhorar a eficiência em operações unitárias como a coagulação, floculação e sedimentação ou filtração por carvão (DUSSERT; KOVACIC, 1997; CROLL, 1996), pois reduz a necessidade de dosagem de coagulante, auxiliando na remoção de turbidez e cor. Também permite aumentar a biodegradabilidade e reduzir a toxicidade dos compostos recalcitrantes presentes no efluente ao qual é aplicado (ALVARES; DIAPER; PARSONS, 2001).

Além do tratamento de água potável, o ozônio possui muitas aplicações em tratamento de efluentes, principalmente daqueles que contêm fenol, gerados em muitos processos industriais, como por exemplo, nas plantas de coque, refinarias de petróleo, plástico, papel, têxtil, detergente etc. (BELTRÁN, 2004).

Atualmente, vêm sendo reportada na literatura a utilização de ozônio para a degradação de diversos fármacos. Andreozzi *et al.* (2003) trataram solução aquosa contendo 0,75 g L<sup>-1</sup> do antiinflamatório paracetamol com 0,48 mg L<sup>-1</sup> de ozônio, em pH entre 2 e 7, e obtiveram remoção completa do fármaco em apenas 20 minutos. Outro fármaco estudado por Andreozzi *et al.* (2005) foi o antibiótico amoxicilina, degradado em solução aquosa à concentração de 210 mg L<sup>-1</sup> por 7,7 mg L<sup>-1</sup> ozônio, em pH entre 2 a 7, com 90% de degradação do fármaco em apenas 4 minutos.

Adams *et al.* (2002) estudaram a degradaram do antibiótico trimetoprima (50  $\mu$ g L<sup>-1</sup>) em uma amostra de água retirada de um rio contaminado, empregando 0,3 mg L<sup>-1</sup> de ozônio, em pH 7,5, obtendo 95% de remoção em apenas 1,5 minutos.

Ternes *et al.* (2003) estudaram a degradação de 17 compostos farmacêuticos e estrogênio nas concentrações entre 0,015 e 2,1  $\mu$ g L<sup>-1</sup> cada, encontrados numa estação de tratamento de efluentes e lodo localizado na Alemanha, empregando concentração de ozônio entre 5 a 15 mg L<sup>-1</sup>, em pH 7, obtendo a degradação desses fármacos para valores inferiores ao limite de detecção cromatográfica (0,050  $\mu$ g L<sup>-1</sup> para compostos farmacêuticos e 0,003  $\mu$ g L<sup>-1</sup> para o estrogênio), em apenas 18 minutos.

Na literatura, são reportados poucos trabalhos relacionados ao tratamento, por meio de processos baseados na oxidação por ozônio, de ciprofloxacina (CIP),

um dos antibióticos mais prescritos atualmente (DE WITTE *et al.*, 2009b) e cuja biodegradabilidade e efeitos tóxicos são documentados. Beskow *et al.* (2008) observaram rápida degradação de CIP por meio do processo O<sub>3</sub>/UV em pH 9-10. Alguns estudos recentes indicam que a ciprofloxacina apresenta maior reatividade com o ozônio que com radicais hidroxila, embora tais estudos devam ser aprofundados (DE WITTE *et al.*, 2009b). A Figura 13, adaptada de De Witte *et al.* (2009b), apresenta um possível mecanismo de degradação de CIP por ozônio.



Figura 13 - Possível mecanismo de degradação da ciprofloxacina (Adaptado de DE WITTE *et al.*, 2009b).

# **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### 4.1 REAGENTES

Utilizou-se água Milli-Q (Millipore) no preparo de soluções para obtenção das curvas de calibração cromatográficas. O ácido orto-fosfórico 85% grau HPLC, utilizado no preparo da solução móvel, foi adquirido da Fluka Analytical. A trietilamina grau HPLC, também utilizada na fase móvel, foi adquirida da Sigma-Aldrich. O condicionamento do equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi realizado com água Milli-Q e ácido acético glacial 100% da Merck. Tanto para o condicionamento da coluna, como para a fase móvel, foi utilizada acetonitrila grau HPLC (J.T. BAKER). Para os experimentos de degradação, utilizou-se água purificada por osmose reversa produzida no equipamento Purelab Prima (ELGA) e no controle do pH foram utilizados ácido sulfúrico 98% P.A. e hidróxido de sódio P.A. da Vetec. Na geração de ozônio utilizou-se oxigênio 99,5% da Air Products. O composto 5,5-dimetil-1-pirrolina-N-óxido (DMPO) foi adquirido da Sigma-Aldrich; nº CAS e fórmulas molecular e estrutural são apresentados na Tabela 5.

O antibiótico ciprofloxacina foi escolhido por ser consumido em vários países e em grandes quantidades (DE WITTE *et al.*, 2009b), pela toxicidade e por sua persistência no meio ambiente (KUMMERER; ALAHMAD; MERSCHSUNDERMANN, 2000). O composto foi adquirido da Sigma-Aldrich; n° CAS e fórmulas molecular e estrutural estão na Tabela 5.



**Tabela 5** - N° CAS, fórmula molecular e estrutural da ciprofloxacina e do DMPO.

#### 4.2 EQUIPAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram realizados em um reator fotoquímico cilíndrico (113,6 mm × 1120 mm e 3,8 L) em vidro (Figura 14), com fluxo de líquido descendente. O reator recebe, em contracorrente e por meio de difusores posicionados na base, uma corrente gasosa ( $O_2 + O_3$ ) fornecida por um gerador de ozônio (Multivacuo, modelo MV-06/220) e alimentado por um cilindro de oxigênio 99,5%. O oxigênio é alimentado com pressão de 1,5 kgf cm<sup>-2</sup> e a vazão é mantida a 2 L min<sup>-1</sup> controlada por uma válvula agulha e lida em medidor de fluxo mássico (Matheson, modelo 8270). O monitoramento da concentração de ozônio no gás é feito por meio de um espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu, modelo MultiSpec-1501) no comprimento de onda 254 nm, utilizando uma célula de fluxo em quartzo com caminho óptico de 1 cm.

Ao sair do reator a solução aquosa é bombeada para um tanque (1,0 L) em vidro, onde é controlado manualmente o pH, analisado por um pHmetro (Hanna Instruments, modelo H1221) e a temperatura é mantida constante ( $25 \,^{\circ}$ C) por banho termostático (Julabo, modelo ME F25). O tanque é homogeneizado por um agitador mecânico (Marconi, modelo FGG-6228). O retorno da solução aquosa ao reator é feito por bombeamento; a vazão (100 L h<sup>-1</sup>) de recirculação é ajustada por válvulas agulha e lida em rotâmetros (alimentação do reator: Applitech, modelo AP-1300T/OP-4209B; retorno para o tanque: Applitech, modelo AP-500T/OP-3829B).

O gás remanescente do reator segue para análise no espectrofotômetro UVvis e depois passa por dois frascos de vidro dispostos em série com solução de KI (5%), com a finalidade de decompor o ozônio do gás antes desse ser liberado para a atmosfera, por meio do sistema de exaustão da capela.

As amostras para análises de carbono orgânico total (COT) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), descritas nos itens 4.3.1 e 4.3.2, respectivamente, são retiradas de tempos em tempos na saída do reator. As Figuras 14 e 15 detalham o equipamento experimental.



Figura 14 - Equipamento experimental (AM: ponto de amostragem).



Figura 15 - (a) Gerador de Ozônio; (b) Tanque de Mistura; (c) Espectrofotômetro e Reator; (d) Detalhe do reator.

# 4.3 ANÁLISES

# 4.3.1 Carbono Orgânico Total (COT)

A concentração de carbono orgânico total (COT) foi determinada pelo analisador Shimadzu, modelo TOC-5000A (Figura 16). As frações de carbono total (CT) e carbono inorgânico (CI), contidas nas amostras, são quantificadas e a diferença entre essas medidas fornece como resultado o COT, presente no líquido unicamente na forma de compostos orgânicos solúveis.



Figura 16 - Analisador de carbono orgânico total (COT).

## 4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A quantificação da concentração de CIP foi realizada por meio de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Shimadzu, modelo 10-AD), Figura 17, com detector de fluorescência (Shimadzu, modelo RF-10AXL), sendo o comprimento de onda para excitação igual a 278 nm e para emissão igual a 445 nm.

As separações em HPLC foram realizadas pela coluna de fase reversa Luna C-18 Phenomenex (150 mm  $\times$  3,0 mm, 3  $\mu$ m), equipada com pré-coluna apropriada (Phenomenex).

O método cromatográfico usado por Vasconcelos *et al.* (2009) foi adotado como referência e adaptado para este trabalho. Assim, condicionou-se a coluna, passando por uma hora, à temperatura de 25 °C e vazão de 1mL min<sup>-1</sup>, uma solução composta por:

- 65% água milli-Q acidificada com ácido acético glacial (0,1%);
- 35% de acetronitrila.

As leituras foram realizadas utilizando um método isocrático, à temperatura de 40ºC e vazão de fase móvel de 1 mL min<sup>-1</sup>, composta por:

85% de acetronitrila;

 15% solução aquosa 0,02 mol L<sup>-1</sup> ácido orto-fosfórico e 0,008 mol L<sup>-1</sup> de trietilamina.

No presente trabalho, o limite de detecção para ciprofloxacina foi de 0,1  $\mu$ g L<sup>-1</sup> e injetaram-se 30  $\mu$ L de cada amostra no HPLC.



Figura 17 - Sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

# 4.4 CALIBRAÇÃO DO GERADOR DE OZÔNIO

A calibração do gerador tem como objetivo determinar a concentração de ozônio no gás à saída do equipamento, conforme a tensão (em termos da porcentagem da máxima tensão aplicada). Realizaram-se as seguintes etapas:

 Alimentou-se o gerador do ozônio (Multivacuo, modelo MV-06/220) com oxigênio 99,5%, a partir de um cilindro de alta pressão, à vazão de 2,0 L min<sup>-1</sup> e pressão 1,5 kgf cm<sup>-2</sup>;

 Ajustaram-se as tensões aplicadas ao gerador para "baixa" (30% da tensão máxima), "média" (45% da tensão máxima) e "alta" (60% da tensão máxima);

• Acoplou-se ao gerador um espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu, modelo MultiSpec-1501), para leitura da absorbância em 254 nm em função do tempo;

• Manteve-se o reator em "by pass" (conforme Figura 18).



 Finalizou-se a calibração após a visualização de um patamar paralelo ao eixo do tempo, correspondente à estabilização da produção de ozônio, como apresentado posteriormente.

## 4.5 ENSAIO DE HIDRÓLISE DE CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO AQUOSA

Os ensaios de hidrólise de CIP em solução aquosa foram realizado a 25°C, partindo de diferentes concentrações iniciais do antibiótico (45,3 mg L<sup>-1</sup>; 27,5 mg L<sup>-1</sup>; 9,1 mg L<sup>-1</sup>), em frascos mantidos sob agitação de 120 rpm em uma incubadora rotativa com termostatização (Tecnal, modelo TE-421) e a diferentes pH (3,5; 7 ou 10,5). As amostras foram retiradas nos tempos 0 h, 1 h e 24 h e analisadas em HPLC, conforme o método apresentado no item 4.3.2. Os experimentos foram realizados em duplicata.

O estudo da hidrólise foi realizado a partir de um projeto fatorial completo em dois níveis para as variáveis concentração inicial de ciprofloxacina, [CIP]<sub>0</sub>, e pH. A Tabela 6 apresenta os valores codificados e reais das variáveis estudadas

	Valores Co	odificados	Valores Reais		
Exp.	<i>X</i> <sub>1</sub>	<b>X</b> 2	[CIP] <sub>0</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	рН	
1	0	0	27,5	7,0	
2	-	-	9,1	3,5	
3	+	-	45,9	3,5	
4	-	+	9,1	10,5	
5	+	+	45,9	10,5	

 Tabela 6 - Projeto fatorial completo com os valores nominais das variáveis estudadas para estudo da hidrólise da CIP.



**Figura 19** - Representação do projeto fatorial em 2 níveis. *X*<sub>1</sub>: concentração inicial de CIP (mg L<sup>-1</sup>); *X*<sub>2</sub>: pH. Os números dos experimentos são indicados nas pontas e no centro do quadrado, que correspondem às condições listadas na Tabela 6.

# 4.6 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO DE CIPROFLOXACINA EM SOLUÇÃO AQUOSA POR OZÔNIO

### 4.6.1 Procedimento

• Utilizando-se uma balança analítica (Mettler Toledo, modelo XS205 DualRange) e um béquer de 10 mL, pesou-se a massa de ciprofloxacina (CIP);

 Preparou-se a solução aquosa dissolvendo-se a massa pesada em água em um balão volumétrico, avolumado para 2 L;

• Em seguida, o balão foi levado ao banho sonicador (Fisher Scientific, modelo FS110) por 15 minutos.

Dessa maneira foram preparados 6 L de solução de CIP.

 Transferiram-se, manualmente, para o tanque de mistura os 6 L de solução aquosa de CIP;

A solução foi então bombeada para o reator até o preenchendo do sistema.
 Durante o preenchimento, os rotâmetros de sucção e recalque do tanque de mistura foram ajustados para a vazão de 100 L h<sup>-1</sup> pela válvulas agulha;

 Com o reator e o tanque de mistura cheios, o agitador mecânico foi acionado;

 Iniciou-se em seguida o ajuste do pH, adicionando manualmente, de tempos em tempos e durante o experimento, solução de NaOH (2 mol L<sup>-1</sup>) ou solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (4%);

 Depois, acionou-se o banho termostático, e manteve-se a temperatura do sistema constante em 25 ℃.

Com pH, temperatura e vazão de recirculação constantes, o ajuste do sistema gasoso pôde ser feito:

 O cilindro de oxigênio foi aberto, ajustando-se o manômetro para pressão de 1,5 kgf cm<sup>-2</sup> e, com a válvula agulha, ajustou-se a vazão de oxigênio em 2,0 mL min<sup>-1</sup>;

• Em seguida, iniciaram-se as leituras da absorbância do gás em 254 nm, no espectrofotômetro UV-vis;

 Com o sistema em "by pass" (o gás não tem contato com a solução dentro do reator), acionou-se o gerador de ozônio e após 15 minutos de estabilização da produção de ozônio o experimento estava pronto para a partida.





(Válvula verde aberta e válvula vermelha fechada).

Iniciou-se o experimento de degradação de CIP por ozônio alterando-se o posicionamento das válvulas, conforme Figuras 20 e 21, possibilitando o contato do gás  $(O_2 + O_3)$  com a solução aquosa de CIP. Retiraram-se amostras, nos tempos 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos, através de um ponto de amostragem localizado na linha de saída do reator.

### 4.6.2 Planejamento experimental

Os experimentos de degradação de CIP em solução aquosa foram realizados segundo um planejamento Doehlert (FERREIRA *et al.*, 2004). Para determinar os valores reais de cada variável em cada experimento foi necessário estabelecer seus limites mínimos (U<sub>min</sub>) e máximos (U<sub>máx</sub>), e os valores reais, conforme a Equação 20, em que X<sub>i</sub> corresponde aos valores codificados de cada variável.

$$U_0 = \frac{U_{m\acute{a}x} + U_{min}}{2} \qquad \Delta U = \frac{U_{m\acute{a}x} - U_{min}}{2} \qquad U_i = U_0 + \Delta U \cdot X_i \tag{20}$$

A Tabela 7 apresenta os valores máximos e mínimos, bem como  $U_0 e \Delta U$  (cf. Equação 20), para cada variável independente estudada. A Tabela 8 apresenta os valores codificados e reais das variáveis. O planejamento é apresentado esquematicamente na Figura 22.

<b>Tabela 7</b> - Domínio experimental dos valores nominais das variáveis estudadas.						
Variáveis	Identificação	U <sub>min</sub>	U <sub>máx</sub>	Uo	ΔU	
U <sub>1</sub>	Tensão (%) <sup>(a)</sup>	30,0	60,0	45,0	15,0	
$U_2$	pH	3,0	11,0	7,0	4,0	
U <sub>3</sub>	[CIP] (mg L <sup>-1</sup> )	3,0	30,0	16,5	13,5	

<sup>(a)</sup> Porcentagem da máxima tensão aplicada ao gerador de ozônio.

Os valores de U<sub>1</sub> correspondem à porcentagem da máxima tensão aplicada ao gerador de ozônio. Para composição da corrente de O<sub>2</sub> alimentada ao gerador e vazão de gás constantes, a cada tensão fixada no gerador corresponde uma concentração de ozônio no gás na corrente gasosa alimentada ao reator

<b>Tabela 8</b> - Matriz Doehlert para três variáveis independentes <sup>(a)</sup> .							
	Valores Codificados			Valores Reais			
N° exp.	<i>X</i> <sub>1</sub>	<i>X</i> <sub>2</sub>	<i>X</i> <sub>3</sub>	U <sub>1</sub> (%)	$U_2$	U₃ (mg L⁻¹)	
1	0,000	0,000	0,000	45	7,0	16,5	
2	1,000	0,000	0,000	60	7,0	16,5	
3	0,500	0,866	0,000	53	10,5	16,5	
4	0,500	0,289	0,817	53	8,2	27,5	
5	-1,000	0,000	0,000	30	7,0	16,5	
6	-0,500	-0,866	0,000	38	3,5	17,5	
7	-0,500	-0,289	-0,817	38	5,8	5,5	
8	0,500	-0,866	0,000	53	3,5	16,5	
9	0,500	-0,289	-0,817	53	5,8	5,5	
10	0,000	0,577	-0,817	45	9,3	5,5	
11	-0,500	0,866	0,000	38	10,5	16,5	
12	-0,500	0,289	0,817	38	8,2	27,5	
13	0,000	-0,577	0,817	45	4,7	27,5	

<sup>(a)</sup> Variáveis mantidas constantes nos experimentos: vazão de circulação de líquido (100 L h<sup>-1</sup>); temperatura (25±1,0) °C; vazão de gás (2 L min<sup>-1</sup>); tempo de duração dos experimentos (30 minutos). O valor de U<sub>1</sub> refere-se à porcentagem da tensão máxima aplicada ao gerador de ozônio, à qual corresponde uma dada concentração de ozônio no gás à entrada do reator,  $[O_3]$ .



**Figura 22** - Representação esquemática da distribuição dos experimentos segundo o planejamento experimental Doehlert para as variáveis independentes codificadas *X*<sub>i</sub>. *X*<sub>1</sub>: concentração de ozônio na corrente gasosa alimentada ao reator, correspondente a uma dada porcentagem da tensão máxima aplicada no gerador de ozônio; *X*<sub>2</sub>: pH; *X*<sub>3</sub>: concentração inicial de ciprofloxacina, [CIP]<sub>0</sub>. Os números dos experimentos são indicados nos vértices dos triângulos e do hexágono, e no centro do hexágono, que correspondem às condições apresentadas na Tabela 8.

### 4.7 ENSAIO DE DEGRADAÇÃO DE CIP NA PRESENÇA DE DMPO

O procedimento experimental dos ensaios de degradação de CIP com adição de DMPO foi idêntico ao procedimento descrito no item 4.6.1, trocando-se apenas o reator por uma coluna cilíndrica em vidro de menor tamanho (40 mm × 920 mm e 3 L) (Figura 23). Durante o preparo da solução de ciprofloxacina, adicionou-se, antes de avolumar, a massa DMPO em uma concentração vinte vezes superior à concentração de CIP.



Figura 23 - Sistema empregado no experimento de degradação de ciprofloxacina com DMPO, com detalhe da coluna cilíndrica.

## 4.8 ENSAIOS DE RESPIROMETRIA

Os ensaios de respirometria foram realizadas utilizando frascos de vidro âmbar fechados, contendo inóculo (microorganismos), nutrientes e soluções-teste, à temperatura controlada de (20±1)°C, com volume constante e sob agitação. Os microorganismos presentes respiram o oxigênio durante a degradação da matéria orgânica gerando gás carbônico. Este é absorvido por pastilhas de hidróxido de sódio, contido em um suporte apropriado em contato com a fase gasosa em contato

com a solução, produzindo uma diferença de pressão no frasco, medida por um sensor piezométrico microprocessado (WTW, modelo OxiTop 12) (Figura 24).



Figura 24 - Respirômetros manométricos fechados.

Para realização do teste, inicialmente prepararam-se as seguintes soluções aquosas em balões volumétricos de 100 mL:

- Solução tampão de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 1,5 mol L<sup>-1</sup>;
- Solução de NH₄CI 0,71 mol L<sup>-1</sup>;
- Solução de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,25 mol L<sup>-1</sup>;
- Solução de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,41 mol L<sup>-1</sup>;
- Solução de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,018 mol L<sup>-1</sup>.

Para o controle do pH, prepararam-se as solução de ácido sulfúrico 1 mol L<sup>-1</sup> e hidróxido de potássio 6 mol L<sup>-1</sup>, também em balão de 100 mL. Já o preparo das soluções de glicose e de ácido glutâmico foi realizado conforme as seguintes etapas:

- Em um vidro de relógio pesou-se a massa de 1,5 g de ácido glutâmico;
- Pesaram-se, da mesma forma, 1,5 g de glicose;
- A massa de cada composto foi transferida para cadinhos de porcelana;
- Os cadinhos foram mantidos em mufla a 200 °C por 1 hora para secagem dos compostos;

• Em seguida, pesaram-se 0,75 g de ácido glutâmico e 0,75 g de glicose secos;

• As massas foram transferidas para um béquer de 250 mL, ao qual se adicionaram 120 mL de água purificada (Purelab Prima; Elga);

 A mistura foi levada ao agitador magnético e foi aquecida até a dissolução dos compostos;

• A solução diluída foi em seguida transferida para um balão volumétrico, avolumado para 500 mL.

Com todas as soluções prontas, iniciou-se a hidratação do inóculo, utilizando um agitador magnético e um béquer com 500 mL de água purificada. O inóculo foi hidratado pelo período de 2 horas antes de ser transferido para o frasco âmbar. Obtém-se assim uma suspensão aquosa para os experimentos de respirometria.

Prepararam-se os frascos âmbar, com as quantidades de nutrientes e inóculo conforme a seguir:

# PADRÃO INÓCULO:

Adicionaram-se a três frascos de vidro âmbar:

- 1 mL de solução tampão de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 1,5 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de NH₄Cl 0,71 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,25 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,41 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,018 mol L<sup>-1</sup>.
- 425 mL de água purificada.

O pH foi em seguida ajustado entre 6,8 e 7 e adicionaram-se 2 mL da suspensão aquosa de inóculo.

# PADRÃO GLICOSE-ÁCIDO GLUTÂMICO:

Adicionaram-se a três frascos de vidro âmbar:

- 1 mL de solução tampão de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 1,5 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de NH₄CI 0,71 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,25 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,41 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,018 mol L<sup>-1</sup>.
- 20 mL de solução de glicose-ácido glutâmico;
- 137 mL de água purificada.

O pH foi em seguida ajustado entre 6,8 e 7 e adicionaram-se 2 mL da suspensão aquosa de inóculo.

# SOLUÇÃO-TESTE (TRATADA OU NÃO TRATADA):

Adicionaram-se a três frascos de vidro âmbar:

- 1 mL de solução tampão de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 1,5 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de NH<sub>4</sub>Cl 0,71 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,25 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,41 mol L<sup>-1</sup>;
- 1 mL de solução de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,018 mol L<sup>-1</sup>.
- 20 mL da solução de glicose-ácido glutâmico;
- 137 mL de solução-teste (tratada ou não tratada).

O pH foi em seguida ajustado entre 6,8 e 7 e adicionaram-se 2 mL da suspensão aquosa de inóculo.

Os frascos, equipados com uma barra magnética, foram levados à estufa e mantidos em agitação, à temperatura de 20 °C por 5 dias.

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1 ENSAIOS DE HIDRÓLISE

A Tabela 9 e a Figura 25 apresentam os resultados dos ensaios de hidrólise. Os experimentos comprovaram que durante 24 horas, para os valores estudados de pH (3,5; 7,0 e 10,5) e de concentração inicial do fármaco (9,1 mg L<sup>-1</sup>; 27,5 mg L<sup>-1</sup> e 45,9 mg L<sup>-1</sup>), não ocorreu hidrólise da ciprofloxacina (CIP). Como consequência, pode-se dizer que o fármaco é estável em meio aquático a diferentes pH, por períodos razoavelmente longos, após sua entrada no meio. Resultados similares foram obtidos por Li e Zhang (2010) para um período de 48 horas. No que se refere aos experimentos com ozônio realizados neste trabalho, pode-se afirmar com segurança que a degradação de CIP deve-se exclusivamente à ação do ozônio e/ou radicais livres, mas não à hidrólise nos diferentes valores de pH estudados.

da Figura 19).							
Exp.	nH.	Concentraç	Desvio Padrão				
	рп₀ -	t = 0 min	t = 1 h	t = 24 h	(mg L <sup>-</sup> ')		
1	7	25,1	24,1	25,4	0,68		
1A	Ι	25,1	25,4	27,5	1,31		
2	25	9,2	8,1	9,1	0,61		
2A	3,5	8,9	8,3	9,0	0,38		
3	25	39,5	39,8	39,1	0,35		
ЗA	3,5	39,7	39,4	39,5	0,15		
4	105	8,7	8,9	8,9	0,12		
4A	10,5	8,8	8,6	8,8	0,12		
5	105	40,0	39,9	39,6	0,21		
5A	10,5	39.9	39.8	39.6	0,15		

 Tabela 9 - Ensaio de hidrólise de CIP (experimentos realizados em duplicata conforme planejamento da Figura 19).



Figura 25 - Resultado dos ensaios de hidrólise com valores médios da duplicata. Experimentos 1 (●), 2 (●), 3 (●), 4(●) e 5 (●). Condições indicadas na Tabela 9.

## 5.2 CALIBRAÇÃO DO GERADOR DE OZÔNIO

Com as medidas de absorbância obtidas no espectrofotômetro e utilizando a Lei de Lambert-Beer, foi possível calcular as concentrações de ozônio no gás pela Equação 21 (com coeficiente de absorção molar na fase gasosa  $\varepsilon$  = 2950 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> do ozônio em 254 nm) (OPPENLÄNDER, 2003) e construir os gráficos apresentados na Figura 26.

$$ABSORBÂNCIA = \varepsilon \times l \times C_{ozônio}$$
(21)

Observa-se que as concentrações iniciais de ozônio são zero, indicando que o gerador não está ligado ou que a tensão aplicada é baixa e insuficiente para a produção de ozônio. Estabelecida a tensão desejada e acionado o gerador, verificase o aumento da concentração de ozônio no gás até um valor máximo, em que se observa um patamar paralelo ao eixo do tempo, que indica que a produção de ozônio foi estabilizada. É possível visualizar o momento da inversão das válvulas com o início do experimento de degradação, pois com o contato entre o gás e a solução aquosa de ciprofloxacina ocorre a dissolução do ozônio na água, sua decomposição e consumo, diminuindo consideravelmente a concentração de ozônio no gás à saída do reator. A concentração de ozônio no gás à entrada do reator, [O<sub>3</sub>], é definida a partir da média dos valores de concentração do patamar entre os instantes em que este foi estabelecido e a inversão da válvula de "by-pass", dando início à passagem do gás pelo reator.



Figura 26 - Resultados da produção de ozônio através da variação da tensão de aplicação no<br/>gerador: 8,0 mO3 L<sup>-1</sup> (---), 17,7 mO3 L<sup>-1</sup> (---) e 24,9 mO3 L<sup>-1</sup> (---).

Gradativamente a concentração de ozônio vai aumentando com o consumo de CIP e dos subprodutos de sua degradação, até um momento em que se espera observar um patamar com concentração diferente da inicial, em que apenas os fenômenos de dissolução e decomposição do O<sub>3</sub> em solução ocorrem. Os resultados observados na Figura 26 estão de acordo com o esperado, isto é, a geração de ozônio aumenta com o aumento da tensão aplicada.

## 5.3 ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE CIP EM SOLUÇÃO AQUOSA

### 5.3.1 Resultados de degradação de CIP e COT

Apresentam-se e discutem-se a seguir os resultados dos experimentos do planejamento experimental envolvendo a degradação de ciprofloxacina (CIP) em

solução aquosa (Tabela 8 e Figura 22), para diferentes concentrações iniciais de antibiótico ([CIP]<sub>0</sub>), pH e concentração de ozônio no gás à entrada do reator ([O<sub>3</sub>]).

A Tabela 10 apresenta os resultados de remoção porcentual de CIP e COT ao final de 2 minutos e 30 minutos, respectivamente. A degradação de ciprofloxacina é evidentemente rápida, obtendo-se concentrações abaixo do limite de detecção da técnica cromatográfica (0,1 µg L<sup>-1</sup>) em apenas 15 minutos, o que corresponde à remoção praticamente total de CIP pelo POA baseado na oxidação por ozônio. A remoção de COT (limite de detecção 0,5 mgC L<sup>-1</sup>), porém, foi notavelmente menos acentuada, o que evidencia o caráter mais recalcitrante dos produtos de degradação da CIP frente à ozonização (MELO *et al.*, 2009).

Tabela 10 - Resultados experimentais (cf. Tabela 8).							
Exp.	Concentração de O <sub>3</sub> [O <sub>3</sub> ] (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>(a)</sup>	pH <sup>(b)</sup>	Concentração inicial de CIP [CIP] <sub>0</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração inicial de COT (mgC L <sup>-1</sup> )	Remoção CIP (%) <sup>(c)</sup>	Remoção COT (%) <sup>(d)</sup>	
1A	16,7	7,0	15,8	10,0	92,6	67,5	
1B	17,7	7,0	15,5	11,6	84,1	57,1	
1C	16,8	7,0	15,6	11,4	93,6	67,4	
2	24,9	7,0	15,8	9,9	99,4	72,8	
3	22,4	10,5	15,2	11,8	90,2	64,7	
4	23,3	8,2	25,9	16,6	85,3	66,8	
5	8,0	7,0	15,7	12,2	48,0	18,5	
6	13,9	3,5	15,7	12,8	68,2	49,5	
7	14,2	5,8	5,3	2,6	98,3	36,8	
8	22,3	3,4	16,5	11,4	86,3	43,0	
9	22,5	5,7	5,0	3,8	99,5	42,2	
10	17,2	9,3	5,0	3,0	99,5	59,3	
11	14,1	10,5	15,6	10,6	70,3	41,8	
12	14,3	8,4	24,9	17,8	51,5	30,4	
13	16,2	4,7	25,8	17,7	68,9	34,9	

<sup>(a)</sup>Concentração de ozônio no gás à entrada do reator; <sup>(b)</sup> pH inicial da solução. Ao longo de cada experimento, o pH foi mantido em ± 1 unidade em torno do valor inicial, por controle manual; <sup>(c)</sup> Remoção de CIP ao final de 2 minutos; <sup>(d)</sup> Remoção de COT ao final de 30 minutos.

A reprodutibilidade dos experimentos foi avaliada a partir da realização em triplicata do experimento 1, correspondente às condições do ponto central do planejamento Doehlert. As Figuras 27 e 28 apresentam os resultados.



**Figura 27** - Resultados do experimento 1 realizado em triplicata. 1A (•,=,-);1B (•,=,-);1C (•,=,-). [CIP]<sub>0</sub> = (15,6±0,2) mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> e pH = 7; [O<sub>3</sub>] = (17,1±0,6) mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>.



**Figura 28** - Resultados do experimento 1, barra de erros com desvio padrão; (a) Evolução de [CIP] com o tempo; (b) Evolução de COT com o tempo;  $[CIP]_0 = (15,6\pm0,2) \text{ mg } L^{-1}$ ; pH = 7;  $[O_3] = (17,1\pm0,6) \text{ mgO}_3 L^{-1}$ .

Pode-se dizer, a partir das Figuras 27 e 28, que a reprodutibilidade é adequada, com desvios-padrões médios de apenas 0,19 mg L<sup>-1</sup> para CIP e de 0,39 mgC L<sup>-1</sup> para COT. Obtiveram concentrações de CIP abaixo do limite de detecção  $(0,1 \ \mu g \ L^{-1})$  em apenas 10 minutos nos 3 experimentos, e as remoções de COT ao final de 30 minutos para os experimentos 1A, 1B e 1C foram iguais a 67,4%; 57,1% e 67,5%, respectivamente. Foram, também, obtidas curvas de concentração de ozônio ao longo do tempo muito similares, sendo a concentração média do gás à entrada do reator de 17,1 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, com desvio-padrão de 0,6 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>.

As Figuras 29 a 31 apresentam o conjunto de resultados de remoção de concentração de CIP e COT em função do tempo para todos os experimentos.



Figura 29 - Evolução de [CIP] (•) e de COT (•) em função do tempo para os experimentos 1A, 1B, 1C e 2 do planejamento experimental. Condições indicadas na Tabela 10.



**Figura 30** - Evolução de [CIP] (•) e de COT (•) em função do tempo para os experimentos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 do planejamento experimental. Condições indicadas na Tabela 10.



Figura 31 - Evolução de [CIP] (●) e de COT (■) em função do tempo para os experimentos 9, 10, 11, 12 e 13 do planejamento experimental. Condições indicadas na Tabela 10.

Como exemplo, a Figura 32 apresenta o cromatograma correspondente ao experimento 13, realizado com concentração inicial de 25,8 mg L<sup>-1</sup> de antibiótico, pH 4,7 e concentração de ozônio no gás à entrada do reator de 16,2 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. O pico com tempo de retenção de 7,8 minutos corresponde à CIP, rapidamente removida, formando-se o pico à esquerda, que representa o(s) subproduto(s) de degradação, não identificado(s) nesse trabalho. Pode-se observar claramente que a concentração de subprodutos de degradação da CIP passa por um máximo, com consequente remoção de COT, formando outros produtos que não foram identificados pelo método cromatográfico empregado.



**Figura 32** - Cromatograma do experimento 13.  $[CIP]_0 = 25.8 \text{ mg } L^{-1}$ ; pH = 4.7;  $[O]_3 = 16.2 \text{ mg} O_3 L^{-1}$ . Tempos de amostragem: (—) 0 minutos; (—) 1 minutos; (—) 2 minutos; (—) 4 minutos; (—) 6 minutos.

É interessante avaliar o efeito do aumento da concentração de ozônio no gás alimentado ao reator, para experimentos realizados mantendo-se o pH e a concentração inicial de CIP, mas variando-se a concentração de ozônio. Assim, na Figura 33 comparam-se os experimentos 2 e 5, realizados com pH=7 e concentração inicial de CIP intermediária (15,8 mg L<sup>-1</sup> e 15,7 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente). No experimento 2, realizado com máxima concentração de ozônio na entrada do reator (24,9 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), obteve-se remoção praticamente completa de ciprofloxacina (99,4%) em 2 minutos e razoável remoção de COT após 25 minutos (valor final de 2,7 mgC L<sup>-1</sup>, o que equivale a 72,8% de remoção). Por outro lado, no

experimento 5, realizado com mínima concentração de ozônio (8,0 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), a diminuição das concentrações de CIP e de COT foram mais lentas, obtendo-se remoção de CIP em 2 minutos de 48% e sua completa remoção somente após 15 minutos; para o COT, a remoção após 30 minutos foi baixa (18,5%), com variação da concentração de 12,2 mgC L<sup>-1</sup> para 8,9 mgC L<sup>-1</sup>. Como esperado, com o aumento da concentração de ozônio, em um mesmo pH e concentrações iniciais de CIP similares, obteve-se maior remoção tanto de CIP como COT; sendo baixa ou alta a concentração de ozônio, a degradação de CIP é efetiva, porém para se alcançar mineralização apreciável dos subprodutos formados pelo ataque à CIP é necessário maior consumo de ozônio e maior tempo de tratamento. Deve-se observar que em meio neutro (pH=7) ocorre ambas as vias de ataque (ozônio molecular e radicais hidroxila).

Por sua vez, no experimento 1 ( $[O_3]=17,1\pm0,6$  mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) a remoção média de CIP ao final de 2 minutos foi, considerando as três repetições, de 90% e a remoção média de COT ao final de 30 minutos, de 64%, o que representa um ganho significativo em relação ao experimento 5. Em comparação ao experimento 2, porém, observa-se que os ganhos nos aumentos das remoções de CIP e de COT com o aumento de  $[O_3]$  não foi muito importante.



**Figura 33** - Comparação dos experimentos 1 ([CIP]<sub>0</sub> = (15,6±0,2) mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 7,0; [O<sub>3</sub>] = (17,1±0,6) mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (**■**) COT e (**—**) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 2 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,8 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 7,0; [O<sub>3</sub>] = 24,9 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (**■**) COT e (**—**) [O<sub>3</sub>]; Experimento 5 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,7 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 7,0; [O<sub>3</sub>] = 8 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (**■**) COT e (**—**) [O<sub>3</sub>]; Experimento 5 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,7 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 7,0; [O<sub>3</sub>] = 8 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (**■**) COT, (**—**) [O<sub>3</sub>].

Comparando-se as curvas da evolução da concentração de ozônio no gás à saída do reator com o tempo (Figura 33), verifica-se que no experimento 2 a concentração de ozônio diminui rapidamente com o início do experimento (contato do gás com a solução de CIP); para alta concentração de ozônio ocorre rápida degradação de CIP, de modo que a concentração de O<sub>3</sub> à saída também volta a aumentar mais rapidamente em comparação aos experimentos 1 e 5. No caso do experimento 5 observa-se que a baixa concentração de ozônio provoca uma degradação lenta de CIP e de COT, de modo que a concentração no gás à saída do reator não volta a aumentar significativamente, pois durante o avançar do experimento os subprodutos de degradação continuam a ser consumidos. A curva de concentração do ozônio do experimento 1 apresenta comportamento similar à do experimento 2. A tendência das curvas de concentração de ozônio, para esses

experimentos, foi de manter um patamar final constante, porém diferente do patamar inicial correspondente à entrada, como resultado apenas dos efeitos de dissolução e de decomposição do ozônio em água (GOTTSCHALK; LIBRA; SAUPE, 2000) em meio neutro.

A Figura 34 apresenta a comparação dos experimentos 6 e 8, realizados em meio ácido (pH=3,4-3,5) e com concentrações iniciais de CIP similares (15,7 mg L<sup>-1</sup> e 16,5 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente). Verifica-se que para um meio ácido, a degradação de CIP é completa após 15 minutos, e observam-se valores similares de remoção de COT com aumento da concentração de ozônio no gás alimentado ao reator. Assim obteve-se remoção de COT ao final de 30 minutos no experimento 6 de 49% e no experimento 8 de 43%; as remoções de CIP ao final de 2 minutos foram de 68,2% e de 86,3%, respectivamente.

Deve-se observar, que no experimento 5, mesmo com meio reacional neutro, não se obteve maior remoção de CIP (remoção de 48% em 2 minutos) e de COT (remoção de 18,5% em 30 minutos) quando comparado aos experimentos 6 e 8. Isto decorre do fato do experimento 5 ter sido realizado com a mínima concentração de ozônio à entrada do reator.

Em relação às curvas de concentração de ozônio (Figura 34), pode-se dizer o mesmo descrito na comparação dos experimentos 1, 2 e 5 para os experimentos 6 e 8, que as curvas tendem a um patamar de concentração diferente do patamar correspondente à entrada, com diferente [O<sub>3</sub>] na saída devido aos efeitos de dissolução e decomposição do ozônio.


**Figura 34** - Comparação dos experimentos 6 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,7 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 3,5; [O<sub>3</sub>] = 13,9 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (●) CIP, (■) COT e (→) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 8 ([CIP]<sub>0</sub> = 16,5 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 3,4; [O<sub>3</sub>] = 22,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (●) CIP, (■) COT e (→) [O<sub>3</sub>].

A Figura 35 apresenta a comparação dos experimentos 3 e 11, realizados em meio básico (pH 10,5) e com concentrações iniciais de CIP similares (15,2 mg L<sup>-1</sup> e 15,6 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente). Verifica-se, novamente, que para um mesmo pH, a degradação de CIP é completa após 15 minutos, e que a remoção de COT aumenta com o aumento da concentração de ozônio no gás alimentado ao reator. Assim obteve-se melhor remoção de COT ao final de 30 minutos no experimento 3 (64,7%) que no experimento 11 (41,8%); as remoções de CIP ao final de 2 minutos foram de 90,2% e de 70,3%, respectivamente.

Como se utilizou meio reacional básico para os experimento 3 e 11, foi verificado que as curvas de concentração de ozônio no gás indicaram aumento lento de  $[O_3]$  após o início dos experimentos, devido à formação de radicais hidroxila e à

maior decomposição do ozônio, comportamento também observado por Hoigné e Bader (1983).



**Figura 35** - Comparação dos experimentos 3 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,2 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 10,5; [O<sub>3</sub>] = 22,2 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (■) COT e (—) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 11 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,6 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 10,5; [O<sub>3</sub>] = 14,1 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (■) COT e (—) [O<sub>3</sub>].

A seguir realizam-se as comparações cruzadas entre os experimentos 6 e 11 e 3 e 8. Nesse caso, a concentração de ozônio à entrada do gerador foi a mesma e discute-se o efeito do aumento do pH para uma mesma concentração inicial de CIP. A partir da Figura 36, observa-se que a variando o pH de 3,5 para 10,5, nos experimento 6 e 11, obteve-se total degradação de CIP em 15 minutos para ambos os casos, e menor, embora pequena, remoção de COT ao final de 30 minutos no experimento 11 (41,8%), realizado em pH 10,5, quando comparado ao experimento 6 (49,5%), realizado em pH 3,5; as remoções de CIP ao final de 2 minutos foram iguais a 68,2% e 70,3%, respectivamente. Isto indica que o aumento de pH para baixas concentrações de ozônio à entrada do reator (13,9 mg L<sup>-1</sup> e 14,1 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente) não se mostrou significativo quanto ao desempenho do processo de ozonização. A evolução da concentração de ozônio à entrada e saída do reator para ambos os experimentos foi praticamente idêntica.



**Figura 36** - Comparação dos experimentos 6 ( $[CIP]_0 = 15,7 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 3,5$ ;  $[O_3] = 13,9 \text{ mg} O_3 L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT e (--)  $[O_3]$ ; Experimentos 11 ( $[CIP]_0 = 15,6 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 10,5$ ;  $[O_3] = 14,1 \text{ mg} O_3 L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT e (--)  $[O_3]$ .

A Figura 37 apresenta a comparação dos experimentos 3 e 8. Neste caso, para maior concentração de ozônio à entrada do reator observa-se um efeito mais importante do aumento do pH, de 3,4 (experimento 8) para 10,5 (experimento 3), em particular quanto à remoção de COT ao final de 30 minutos (variação de 43% para 64,7%, respectivamente). As remoções de CIP foram totais para os dois

experimentos em aproximadamente 4 minutos; ao final de 2 minutos, foram iguais a 86,3% (experimento 8) e 90,2% (experimento 3). Observa-se que a concentração de ozônio no gás à saída do reator tende a aumentar mais rapidamente no experimento 8, devido à rápida degradação da CIP, pelos mesmos motivos já discutidos anteriormente. No experimento 3 a concentração aumenta mais lentamente devido à formação de radicais hidroxila e maior degradação de ozônio em meio básico (DE WITTE *et al.*, 2009b).



**Figura 37** - Comparação dos experimentos 3 ([CIP]<sub>0</sub> = 15,2 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 10,5; [O<sub>3</sub>] = 22,4 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (■) COT e (—) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 8 ([CIP]<sub>0</sub> = 16,5 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 3,4; [O<sub>3</sub>] = 22,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (■) COT e (—) [O<sub>3</sub>].

Comparando-se todos os experimentos com concentrações iniciais de CIP semelhantes, pode-se dizer que o aumento do pH juntamente com o aumento da concentração de ozônio à entrada do reator favorecem a remoção de COT (HUBER

*et al.*, 2003), embora para a CIP seus efeitos sejam menos evidentes, já que a mesma é rápida e praticamente total em tempo muito curto de contato com o ozônio. DE WITTE *et al.* (2009b) observaram, após calcular as constantes cinéticas, para experimentos realizados em meio ácido, neutro e básico, que a degradação da CIP ocorreu mais rapidamente em pH 3. Em todos os casos, embora a CIP seja rapidamente removida, o COT remanescente é degradado muito lentamente. Nos experimentos em que a remoção de COT é menor, continua havendo consumo de ozônio por espécies orgânicas em solução e sua degradação, de modo que a recuperação da concentração de ozônio no gás à saída do reator ocorre mais lentamente.

As Figuras 38 e 39 apresentam as comparações dos experimentos realizados com concentração de CIP mínima e máxima, respectivamente. Os resultados são equivalentes aos discutidos anteriormente. Nos experimentos 7, 9 e 10 (Figura 38), por terem sido realizados com menor [CIP]<sub>0</sub>, a degradação do fármaco foi praticamente total em 2 minutos (98,3%, 99,5% e 99,5%, respectivamente. Como esperado, o aumento da concentração de ozônio à entrada do reator resulta em maior remoção de COT ao final de 30 minutos para o experimento 10 (59,3%) realizado em meio básico (pH=9,3), em relação aos experimentos realizados em meio ácido (pH=5,7-5,8), experimento 7 (36,8%) e experimento 9 (42,2%).

A comparação das curvas de concentração de ozônio dos experimentos 7, 9 e 10 (Figura 38) indica comportamentos concordantes com a discussão realizada anteriormente; ressalva-se, porém que o experimento 10 foi realizado com pH mais alto.

![](_page_77_Figure_0.jpeg)

**Figura 38** - Comparação dos experimentos 7 ( $[CIP]_0 = 5,3 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 5,8$ ;  $[O_3] = 14,2 \text{ mg}O_3 L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT e (---)  $[O_3]$ ; Experimentos 9 ( $[CIP]_0 = 5,0 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 5,7$ ;  $[O_3] = 22,5 \text{ mg}O_3 L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT e (---)  $[O_3]$ ; Experimento 10 ( $[CIP]_0 = 5,0 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 9,3$ ;  $[O_3] = 17,2 \text{ mg}O_3 L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT e (---)  $[O_3]$ ; Experimento 10 ( $[CIP]_0 = 5,0 \text{ mg } L^{-1}$ ;  $pH_0 = 9,3$ ;  $[O_3] = 17,2 \text{ mg}O_3 L^{-1}$ ): (•)

Finalmente, a Figura 39 compara os experimentos 4, 12 e 13, para os quais se obteve remoção total de CIP em 15 minutos, com remoções ao final de 2 minutos de 85,3%, 51,5% e 68,9%, respectivamente; deve-se ressalvar, porém que o experimento 13 foi feito com pH baixo. As remoções de COT ao final de 30 minutos foram iguais a 66,8%, 30,4% e 34,9%, respectivamente; no experimento 4, realizado em pH alto (8,2), obteve-se grande variação de COT em 30 minutos (11,4 mgC L<sup>-1</sup>) quando comparado ao observado no experimentos 12 (5,4 mgC L<sup>-1</sup>) e 13 (6,2 mgC L<sup>-1</sup>). A comparação direta dos experimentos 12 e 4 indica notável aumento das remoções de CIP e COT em meio básico (pH=8,4 e 8,2, respectivamente) (BESKOW *et al.*, 2008), quando se aumentou [O<sub>3</sub>] à entrada (14,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> e 23,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, respectivamente).

![](_page_78_Figure_0.jpeg)

**Figura 39** - Comparação dos experimentos 4 ([CIP]<sub>0</sub> = 25,9 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 8,2; [O<sub>3</sub>] = 23,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (--) [O<sub>3</sub>]; Experimentos 12 ([CIP]<sub>0</sub> = 24,9 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 8,4; [O<sub>3</sub>] = 14,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT e (--) [O<sub>3</sub>]; Experimento 13 ([CIP]<sub>0</sub> = 25,8 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub> = 4,7; [O<sub>3</sub>] = 16,2 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (•) CIP, (•) COT, (--) [O<sub>3</sub>].

### 5.3.2 Análise estatística

Os valores de  $X_i$  foram recalculados considerando os valores medidos (isto é, reais, não nominais) das variáveis independentes. Dessa forma, os novos valores mínimo, máximo,  $U_0 e \Delta U$  são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11	<ul> <li>Domínio experimental do</li> </ul>	os novos va	lores das v	ariáveis esti	udadas.
Variáveis	Identificação	U <sub>min</sub>	<b>U</b> máx	Uo	ΔU
U <sub>1</sub>	[O <sub>3</sub> ] (mgO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	8,0	24,9	16,5	8,5
$U_2$	рН	3,4	10,5	7,0	3,6
$U_3$	[CIP] (mg L⁻¹)	5,0	25,9	15,5	10,5

79

Foi realizada a análise estatística dos resultados dos experimentos, para diferentes respostas selecionadas (Tabela 12). Valores tabelados de t de student e de F de Fisher apresentados posteriormente foram retirados de Rodrigues e lemma (2005).

N°	Valores Codificados <sup>(a)</sup>			Respostas <sup>(b)</sup>			
exp.	<i>X</i> <sub>1</sub>	<i>X</i> <sub>2</sub>	<i>X</i> <sub>3</sub>	Y <sub>1</sub>	<b>Y</b> <sub>2</sub>	$Y_3$	
1A	0,034	-0,004	0,037	14,6	7,32	10,5	
1B	0,150	0,010	0,008	13,0	10,92	6,6	
1C	0,043	-0,013	0,016	14,6	8,65	7,7	
2	1,000	-0,010	0,038	15,7	7,87	7,2	
3	0,808	0,983	-0,022	13,7	13,70	7,0	
4	0,811	0,338	1,000	22,1	11,06	11,4	
5	-1,000	-0,004	0,024	7,5	3,77	3,3	
6	-0,301	-0,958	0,028	10,7	5,36	6,3	
7	-0,267	-0,282	-0,966	5,2	3,57	1,0	
8	0,689	-1,000	0,102	14,5	7,12	4,9	
9	0,710	-0,363	-0,994	5,0	2,48	1,6	
10	0,090	0,644	-1,000	4,9	4,78	1,8	
11	-0,282	1,000	0,014	11,0	5,94	4,5	
12	-0,260	0,388	0,903	12,8	8,31	5,4	
13	-0,031	-0,624	0,987	17,8	9,82	6,2	

 Tabela 12 - Matriz Doehlert com valores recodificados das variáveis independentes e valores das respostas consideradas para análise estatística.

<sup>(a)</sup> Valores codificados das variáveis independentes, conforme planejamento experimental Doehlert (Figura 22) e recalculados considerando valores medidos (reais).  $X_1$ : concentração de O<sub>3</sub> na corrente gasosa à entrada do reator, [O<sub>3</sub>], correspondente a dada porcentagem da tensão máxima aplicada no gerador de ozônio;  $X_2$ : pH;  $X_3$ : concentração inicial de ciprofloxacina, [CIP]<sub>0</sub>. <sup>(b)</sup>  $Y_1$ : variação da concentração de CIP em 2 minutos (mg L<sup>-1</sup>);  $Y_2$ : taxa inicial de degradação de CIP (mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>);  $Y_3$ : variação de COT em 30 minutos (mgC L<sup>-1</sup>).

A Equação 22 apresenta a forma geral dos modelos de superfície de resposta, em que  $a_0$ ,  $a_i$ ,  $a_{ii}$  e  $a_{ij}$  correspondem aos valores estimados dos parâmetros pelo método de mínimos quadrados,  $X_i$  corresponde aos valores das variáveis codificadas independentes e *Y* corresponde aos valores das variáveis dependentes (respostas) estudadas. A análise foi realizada utilizando o software Statgraphics Plus v. 3.0.

$$Y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{11} X_1^2 + a_{22} X_2^2 + a_{33} X_3^2 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3$$
(22)

Nas análises, desconsiderou-se o experimento 1B, que apresentou resultado ligeiramente diferente em relação às outras duas repetições do ponto central.

#### 5.3.2.1 Variável dependente: variação da concentração de CIP em 2 minutos

A Tabela 13 apresenta a análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de CIP em 2 minutos ( $Y_1$ , mg L<sup>-1</sup>).

**Tabela 13** - Análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de CIP em 2 minutos (*Y*<sub>1</sub>, mg L<sup>-1</sup>). Consideram-se 95% de confiança e 4 graus de liberdade (*t*=2,7765). *X*<sub>1</sub>: variável codificada correspondente à concentração de ozônio no gás à entrada do reator, [O<sub>3</sub>]; *X*<sub>2</sub>: variável codificada correspondente ao pH; *X*<sub>3</sub>: variável codificada correspondente à concentração inicial de CIP, [CIP]<sub>0</sub>.

Variáveis e interações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	р	Efeito	Intervalo de confiança
<i>X</i> <sub>1</sub>	64,601	1	64,601	57,38	0,0016	8,703	3,190
<i>X</i> <sub>2</sub>	0,277	1	0,277	0,25	0,6444	-0,508	2,830
$X_3$	155,532	1	155,532	138,15	0,0003	11,491	2,715
$X_{1}^{2}$	7,247	1	7,247	6,44	0,0642	-4,770	5,220
$X_1X_2$	0,0467	1	0,0467	0,04	0,8485	0,410	5,586
$X_1X_3$	15,582	1	15,582	13,84	0,0205	7,963	5,943
$X_{2}^{2}$	7,372	1	7,372	6,55	0,0627	-4,189	4,546
$X_{2}X_{3}$	1,732	1	1,732	1,54	0,2827	-2,538	5,682
$X_{3}^{2}$	14,879	1	14,879	13,22	0,0221	-5,048	3,855
Erro Total	4,503	4	1,126				
Total Corrigido	342,081	13					
$R^2$	0,9868						

Para a resposta  $Y_1$ , o coeficiente de determinação  $R^2$ =0,9868 indica que o modelo ajustado, Equação 23, explica satisfatoriamente bem a variabilidade dos resultados experimentais em termos de resposta, considerados o erro e o domínio experimental associados.

$$Y_1 = 14,012 + 4,351X_1 - 0,254X_2 + 5,746X_3 - 2,385X_1^2 - 2,095X_2^2 - 2,524X_3^2 + 0,205X_1X_2 + 3,981X_1X_3 - 1,269X_2X_3$$
(23)

A Figura 40(a) compara valores experimentais e calculados, pela Equação 23, da variação da concentração de CIP em 2 minutos. O valor médio dos resíduos absolutos é igual a 0,480 mg L<sup>-1</sup>, com desvio-padrão de 0,313 mg L<sup>-1</sup>. O gráfico dos resíduos, Figura 40(b), mostra a diferença entre os valores experimentais e os calculados da variável dependente, em função dos valores experimentais. Os resíduos estão aleatoriamente distribuídos com média zero em torno da linha de resíduo zero.

![](_page_81_Figure_1.jpeg)

**Figura 40** - (a) Comparação entre valores experimentais e calculados para a variação da concentração de CIP em 2 minutos (*Y*<sub>1</sub>, mg L<sup>-1</sup>). (b) Distribuição de resíduos em função dos valores experimentais da resposta.

A análise de variância apresentada na Tabela 13 separa a variabilidade da resposta, conforme as distribuições de cada efeito, e a significância estatística de cada um é avaliada comparando-se os valores do quadrado médio associado ao efeito com o quadrado médio associado ao erro total. Assim, identificam-se os efeitos significativos positivos das variáveis  $X_3$  (*F*=138,15; *p*=0,0003) e  $X_1$  (*F*=57,38; *p*=0,0016), da interação  $X_1X_3$  (*F*=13,84; *p*=0,0205), bem como o efeito negativo do termo quadrático  $X_3^2$  (*F*=13,22; *p*=0,0221), também apresentados no diagrama de Pareto (Figura 41). Assim, como esperado a concentração inicial de CIP ( $X_3$ ) e a concentração de ozônio no gás à entrada do reator ( $X_1$ ) possuem efeito positivo quanto à variação da concentração de CIP (e logo quanto à quantidade total removida de CIP) em 2 minutos.

![](_page_82_Figure_0.jpeg)

**Figura 41** - Diagrama de Pareto para a variação da concentração de CIP em 2 minutos (*Y*<sub>1</sub>, mg L<sup>-1</sup>). As linhas tracejadas indicam o valor normalizado mínimo (em valor absoluto) para que o efeito de uma variável seja considerado significativo. Consideram-se 95% de confiança e 4 graus de liberdade (*t*=2,7765). *X*<sub>1</sub>: variável codificada correspondente a [O<sub>3</sub>]; *X*<sub>2</sub>: variável codificada correspondente ao pH; *X*<sub>3</sub>: variável codificada correspondente a [CIP]<sub>0</sub>.

A Tabela 14 apresenta a ANOVA para a degradação de CIP em 2 minutos, considerando apenas os efeitos estatisticamente significativos, ou seja, nesta análise os termos estatisticamente não significativos foram eliminados do modelo. A Equação 24 apresenta o novo modelo obtido pelo método dos mínimos quadrados.

Variações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	$F_{calc}$	$F_{tab}^{(a)}$
Modelo	2390,980	4	597,75	202.04	2 62
Resíduo	18,302	9	2,03	293,94	3,03
Total Corrigido	342,081	13			
$R^2$	0,9466				

**Tabela 14** - Análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de CIP em 2 minutos (*Y*<sub>1</sub>, mg L<sup>-1</sup>); o novo modelo considera apenas os efeitos significativos identificados na Tabela 13. Consideram-se 95% de confianca

<sup>(a)</sup> Valor tabelado: *F*<sub>4, 9, 0,05</sub>=3,63.

Nesta análise, para a resposta  $Y_1$  obteve-se coeficiente de determinação  $R^2$ =0,9466, indicando que o novo modelo ajustado (Equação 24), explica satisfatoriamente bem a variabilidade dos resultados experimentais em termos de resposta, considerados o erro e o domínio experimental associados. Comparando-se o valor  $F_{calc}$ =293,93 ao valor tabelado (*F*=3,63), pode-se confirmar que o ajuste é adequado.

$$Y_1 = 12,135 + 3,518X_1 + 5,735X_3 - 1,424X_3^2 + 3,780X_1X_3$$
(24)

A Figura 42(a) compara valores experimentais e calculados, pela Equação 24, da variação da concentração de CIP em 2 minutos. O gráfico dos resíduos, Figura 42(b), mostra a diferença entre os valores experimentais e os calculados da variável dependente, em função dos valores experimentais. Os resíduos estão distribuídos com média zero em torno da linha de resíduo zero.

![](_page_83_Figure_2.jpeg)

**Figura 42** - (a) Comparação entre valores experimentais e calculados para a variação da concentração de CIP em 2 minutos (*Y*<sub>1</sub>, mg L<sup>-1</sup>) segundo o modelo da Equação 24. (b) Distribuição de resíduos em função dos valores experimentais da resposta.

A Figura 43(a) apresenta a superfície de resposta correspondente ao modelo dado pela Equação 24; a Figura 43(b) apresenta as curvas de contorno correspondentes. De acordo com os resultados ANOVA, observa-se que para os valores mínimos de [CIP]<sub>0</sub> ( $X_3$ ) o aumento da concentração de ozônio à entrada do reator ( $X_1$ ) praticamente não apresenta efeito sobre a resposta ( $Y_1$ ). Porém, o efeito positivo do aumento da concentração de ozônio sobre a remoção de CIP é facilmente observado. O mesmo pode-se dizer para a variável  $X_1$  fixada no valor mínimo: o aumento da resposta  $Y_1$  foi pequeno com o aumento de  $X_3$ ; já para a variável  $X_1$  fixada no valor máximo, o aumento da concentração inicial de CIP ( $X_3$ ) permite um aumento importante da resposta. Tal comportamento deve-se à rapidez com o qual a CIP é consumida, assim, em baixas concentrações de CIP e após 2 minutos ocorre total remoção, ao contrário de altas concentrações de CIP,

que requerem maiores concentrações de ozônio à entrada do reator e um maior intervalo de tempo para consumo de CIP e COT.

![](_page_84_Figure_1.jpeg)

**Figura 43** - (a) Superfície de resposta descrita pela Equação 24, que relaciona a variação da concentração de CIP em 2 minutos (*Y*<sub>1</sub>, mg L<sup>-1</sup>) com [O<sub>3</sub>] (variável codificada *X*<sub>1</sub>) e com [CIP]<sub>0</sub> (variável codificada *X*<sub>3</sub>). (b) Curvas de contorno para a superfície do item (a).

Como visto anteriormente, foi verificada influência do pH sobre a remoção de COT. Dessa forma, decidiu-se avaliar o efeito da variável  $X_2$  sobre a resposta  $Y_1$ . A Tabela 15 apresenta a ANOVA para a degradação de CIP em 2 minutos, considerando as variáveis presentes na Equação 24 e acrescentando os termos  $X_1^2$  e  $X_2^2$ , que apresentaram efeito muito próximo da significância estatística (*p*=0,0642 e *p*=0,0627, respectivamente) (cf. Tabela 13).

Variações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	<b>F</b> <sub>calc</sub>	$\textit{F}_{tab}^{(a)}$
Modelo Resíduo	2402,650 6,636	6 7	400,44 0,95	422,22	3,87
Total Corrigido	342,081	13			
$R^2$	0,9806				

**Tabela 15** - Análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de CIP em 2 minutos ( $Y_1$ , mg L<sup>-1</sup>); o modelo considera os efeitos significativos identificados na Tabela 13 e os termos  $X_1^2 e X_2^2$ .

<sup>(a)</sup> Valor tabelado:  $F_{6, 7, 0,05}$ =3,87.

Nesta análise, obteve-se coeficiente de determinação  $R^2$ =0,9806, o qual indica que o novo modelo ajustado, Equação 25, explica bem a variabilidade dos resultados experimentais em termos de resposta.

$$Y_1 = 14,002 + 4,307X_1 + 5,755X_3 - 2,598X_1^2 - 1,861X_2^2 - 2,504X_3^2 + 3,957X_1X_3$$
(25)

A Figura 44(a) apresenta a superfície de resposta correspondente à Equação 25; a Figura 44(b) apresenta as curvas de contorno correspondentes. Com o aumento da concentração inicial de CIP (variável  $X_3$ ) e com valores de pH (variável  $X_2$ ) próximos de 7 verifica-se máxima resposta  $Y_1$ .

![](_page_85_Figure_2.jpeg)

**Figura 44** - (a) Superfície de resposta descrita pela Equação 25, que relaciona a variação da concentração de CIP em 2 minutos ( $Y_1$ , mg L<sup>-1</sup>) com o pH (variável codificada  $X_2$ ) e com [CIP]<sub>0</sub> (variável codificada  $X_3$ ). (b) Curvas de contorno para a superfície do item (a).  $X_1=0$ .

5.3.2.2 Variável dependente: taxa inicial de degradação de CIP

A taxa inicial de degradação de CIP ( $Y_2$ , mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) foi aproximada por  $\Delta$ [CIP]/ $\Delta t$ , considerando o intervalo de tempo entre 0 e 1 minutos; em alguns casos (Experimentos 2, 4, 5, 6, 7, 8 e 9), adotou-se o intervalo entre 0 e 2 minutos. A Tabela 16 apresenta a análise de variância (ANOVA) para essa resposta.

Tabela 16 - Análise de variância (ANOVA) para a taxa inicial de degradação de CIP (Y<sub>2</sub>, mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). Consideram-se 95% de confiança e 4 graus de liberdade (*t*=2,7765). X<sub>1</sub>: variável codificada correspondente à concentração de ozônio no gás à entrada do reator, [O<sub>3</sub>]; X<sub>2</sub>: variável codificada correspondente ao pH; X<sub>3</sub>: variável codificada correspondente à concentração inicial de CIP, [CIP]<sub>0</sub>.

Variáveis e interações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p	Efeito	Intervalo de confiança
<i>X</i> <sub>1</sub>	25,020	1	25,020	10,05	0,0339	5,436	4,761
<i>X</i> <sub>2</sub>	3,725	1	3,725	1,49	0,2899	1,854	4,224
$X_3$	39,839	1	39,839	15,88	0,0163	5,816	4,052
$X_{1}^{2}$	2,840	1	2,840	1,13	0,3473	-2,986	7,791
$X_1 X_2$	12,620	1	12,620	5,03	0,0883	6,735	8,337
$X_1X_3$	0,115	1	0,115	0,05	0,8411	0,683	8,870
$X_{2}^{2}$	0,026	1	0,026	0,01	0,9238	0,249	6,785
$X_{2}X_{3}$	1,395	1	1,395	0,56	0,4972	-2,278	8,481
$X_{3}^{2}$	3,041	1	3,041	1,21	0,3327	-2,282	5,755
Erro Total	10,032	4	2,508				
Total Corrigido	125,789	13					
$R^2$	0,9202						

No caso da resposta  $Y_2$ , o coeficiente de determinação  $R^2$ =0,9202 indica que o modelo ajustado (Equação 26) explica satisfatoriamente a variabilidade dos resultados experimentais em termos de resposta, considerados o erro e o domínio experimental associados.

$$Y_{2} = 7,550 + 2,718X_{1} + 0,927X_{2} + 2,908X_{3} - 1,493X_{1}^{2} + 0,124X_{2}^{2} - 1,141X_{3}^{2} + 3,368X_{1}X_{2} + 0,342X_{1}X_{3} - 1,139X_{2}X_{3}$$
(26)

A Figura 45(a) compara valores experimentais e calculados, pela Equação 26, da taxa inicial de degradação de CIP. O valor médio dos resíduos absolutos é igual a 0,759 mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>, com desvio-padrão de 0,389 mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>. O gráfico dos resíduos, Figura 45(b), mostra a diferença entre os valores experimentais e os calculados da variável dependente, em função dos valores experimentais. Os resíduos estão aleatoriamente distribuídos com média zero em torno da linha de resíduo zero.

![](_page_87_Figure_0.jpeg)

**Figura 45** - (a) Comparação entre valores experimentais e calculados para a taxa inicial de degradação de CIP (*Y*<sub>2</sub>, mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). (b) Distribuição de resíduos em função dos valores experimentais da resposta.

A ANOVA (Tabela 16) permite identificar o efeito significativo positivo das variáveis  $X_3$  (*F*=15,88; *p*=0,0163) e  $X_1$  (*F*=10,05; *p*=0,0339), como mostra o diagrama de Pareto (Figura 46).

![](_page_87_Figure_3.jpeg)

**Figura 46** - Diagrama de Pareto para a taxa inicial de degradação de CIP (*Y*<sub>2</sub>, mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). As linhas tracejadas indicam o valor normalizado mínimo (em valor absoluto) para que o efeito de uma variável seja considerado significativo. Consideram-se 95% de confiança e 4 graus de liberdade (*t*=2,7765). *X*<sub>1</sub>: variável codificada correspondente a [O<sub>3</sub>]; *X*<sub>2</sub>: variável codificada correspondente ao pH; *X*<sub>3</sub>: variável codificada correspondente a [CIP]<sub>0</sub>.

Com base na Tabela 16 e no diagrama de Pareto (Figura 46), o modelo foi simplificado utilizando os termos com efeito significativo ( $X_1$  e  $X_3$ ) e a interação  $X_1X_2$ , que apresentou efeito próximo da significância (p=0,0883). A Tabela 17 apresenta a ANOVA da regressão para a resposta  $Y_2$ .

Considerant-se 95 % de connança.								
Variações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	<b>F</b> <sub>calc</sub>	$m{F}_{tab}^{(a)}$			
Modelo	814,45	3	271,48	122.08	2 71			
Resíduo	22,058	10	2,21	123,00	3,71			
Total Corrigido	125,789	13						
$R^2$	0,8245							

**Tabela 17** - Análise de variância (ANOVA) para a taxa inicial de degradação de CIP ( $Y_2$ , mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). Consideram-se 95% de confiança.

<sup>(a)</sup> Valor tabelado:  $F_{3, 10, 0.05}=3,71$ .

Nesta análise obteve-se  $R^2$ =0,8245, indicando que o novo modelo ajustado, Equação 27, explica razoavelmente a variabilidade dos resultados experimentais. Comparando-se o valor  $F_{calc}$ =123,08 ao valor tabelado (*F*=3,71), pode-se confirmar que o ajuste é adequado.

$$Y_2 = 6,709 + 2,269X_1 + 2,929X_3 + 4,021X_1X_2$$
<sup>(27)</sup>

A Figura 47 apresenta a comparação dos valores calculados e experimentais da taxa inicial de degradação de CIP bem como a distribuição de resíduos.

![](_page_88_Figure_6.jpeg)

**Figura 47** - (a) Comparação entre valores experimentais e calculados para a taxa inicial de degradação de CIP (*Y*<sub>2</sub>, mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>). (b) Distribuição de resíduos em função dos valores experimentais da resposta.

A Figura 48(a) apresenta a superfície de resposta correspondente ao modelo dado pela Equação 27; a Figura 48(b) apresenta as curvas de contorno

correspondentes. Os resultados da ANOVA mostram que a taxa inicial de remoção de CIP aumenta linearmente com  $[CIP]_0(X_3)$  para qualquer valor de pH ( $X_2$ ).

![](_page_89_Figure_1.jpeg)

**Figura 48** - (a) Superfície de resposta descrita pela Equação 27, que relaciona a taxa inicial de degradação de CIP (*Y*<sub>2</sub>, mg L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>) com o pH (variável codificada *X*<sub>2</sub>) e com [CIP]<sub>0</sub> (variável codificada *X*<sub>3</sub>). (b) Curvas de contorno para a superfície do item (a). *X*<sub>1</sub>=0.

5.3.2.3 Variável dependente: variação da concentração de COT em 30 minutos

A Tabela 18 apresenta a análise de variância (ANOVA) para a variação de concentração de COT em 30 minutos ( $Y_3$ , mgC L<sup>-1</sup>).

**Tabela 18** - Análise de variância (ANOVA) para a variação da concentração de COT em 30 minutos  $(Y_3, \text{mgC L}^{-1})$ . Consideram-se 95% de confiança e 4 graus de liberdade (*t*=2,7765). *X*<sub>1</sub>: variável codificada correspondente à concentração de ozônio no gás à entrada do reator,  $[O_3]$ ; *X*<sub>2</sub>: variável codificada correspondente ao pH; *X*<sub>3</sub>: variável codificada correspondente à concentração inicial de CIP,  $[CIP]_0$ .

Variáveis e interações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p	Efeito	Intervalo de confiança
<i>X</i> <sub>1</sub>	23,408	1	23,408	7,43	0,0526	5,239	5,335
<i>X</i> <sub>2</sub>	0,005	1	0,005	0,00	0,9716	-0,065	4,733
<i>X</i> <sub>3</sub>	34,160	1	34,160	10,85	0,0301	5,385	4,540
$X_{1}^{2}$	11,265	1	11,265	3,58	0,1315	-5,947	8,730
$X_1 X_2$	4,476	1	4,476	1,42	0,2990	4,011	9,341
$X_{1}X_{3}$	4,738	1	4,738	1,50	0,2872	4,391	9,938
$X_{2}^{2}$	11,975	1	11,975	3,80	0,1229	-5,339	7,602
$X_{2}X_{3}$	0,096	1	0,096	0,03	0,8628	0,597	9,503
$X_{3}^{2}$	24,870	1	24,870	7,90	0,0483	-6,527	6,448
Erro Total	12,595	4	3,149				
Total Corrigido	126,293	13					
$R^2$	0,9003						

No caso da resposta  $Y_3$ , o coeficiente de determinação  $R^2$ =0,9003 indica que o modelo ajustado (Equação 28) explica satisfatoriamente a variabilidade dos resultados experimentais.

$$Y_{3} = 8,479 + 2,619X_{1} - 0,032X_{2} + 2,693X_{3} - 2,974X_{1}^{2} - 2,670X_{2}^{2} - 3,263X_{3}^{2} + 2,006X_{1}X_{2} + 2,196X_{1}X_{3} + 0,299X_{2}X_{3}$$
(28)

A Figura 49(a) compara valores experimentais e calculados, pela Equação 28, da resposta  $Y_3$ . O valor médio dos resíduos absolutos é igual a 0,825 mgC L<sup>-1</sup>, com desvio-padrão de 0,485 mgC L<sup>-1</sup>. O gráfico dos resíduos, Figura 49(b), mostra a diferença entre os valores experimentais e os calculados da variável dependente, em função dos valores experimentais. Os resíduos estão aleatoriamente distribuídos com média zero em torno da linha de resíduo igual a zero.

![](_page_91_Figure_0.jpeg)

**Figura 49** - (a) Comparação entre valores experimentais e calculados para a variação de concentração de COT em 30 minutos (*Y*<sub>3</sub>, mgC L<sup>-1</sup>). (b) Distribuição de resíduos em função dos valores experimentais da resposta.

A ANOVA (Tabela 18) permite identificar o efeito significativo positivo da variável  $X_3$  (*F*=10,85; *p*=0,0301) e o efeito negativo do termo quadrático  $X_3^2$ . (*F*=7,90; *p*=0,0483), como mostra o diagrama de Pareto (Figura 50); observa-se que o efeito positivo de  $X_1$  é muito próximo da significância estatística. Como esperado, a concentração inicial de CIP possui um efeito positivo quanto à variação de COT em 30 minutos, porém o efeito negativo para seu valor quadrático indica que há um limite, a partir do qual o aumento de concentração inicial de CIP começa a afetar negativamente a remoção de COT em 30 minutos. Nesse caso, os experimentos indicaram maior concentração remanescente de COT, isto é, maior concentração remanescente de produtos de degradação.

![](_page_91_Figure_3.jpeg)

Figura 50 - Diagrama de Pareto para a variação de concentração de COT em 30 minutos (Y<sub>3</sub>, mgC L<sup>-1</sup>). As linhas tracejadas indicam o valor normalizado mínimo (em valor absoluto) para que dado efeito seja considerado significativo. Consideram-se 95% de confiança e 4 graus de liberdade (*t*=2,7765). X<sub>1</sub>: variável codificada correspondente a [O<sub>3</sub>]; X<sub>2</sub>: variável codificada correspondente ao pH; X<sub>3</sub>: variável codificada correspondente a [CIP]<sub>0</sub>.

A partir da Tabela 18 e do diagrama de Pareto (Figura 50), elaborou-se um modelo simplificado utilizando apenas os termos com efeito significativo ( $X_3 e X_3^2$ ) e o termo  $X_1$ , que apresentou efeito próximo da significância (p=0,0526). A Tabela 19 apresenta a ANOVA da regressão para a resposta  $Y_3$ .

Tabela 19 - Análise de variância (ANOVA) para a variação de COT em 30 minutos ( $Y_3$ , mg L $^{-1}$	<sup>1</sup> ).
Consideram-se 95% de confiança.	

Variações	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	<b>F</b> <sub>calc</sub>	$F_{tab}^{(a)}$			
Modelo	526,955	3	175,65	11 16	2 71			
Resíduo	42,644	10	4,26	41,10	3,71			
Total Corrigido	126,293							
$R^2$	0,6623							
<sup>(a)</sup> Valor tobolog	10: E 2.71							

<sup>(a)</sup> Valor tabelado:  $F_{3, 10, 0,05}$ =3,71.

Nesta análise obteve-se  $R^2$ =0,6623, indicando que o novo modelo ajustado, Equação 29, explica menos adequadamente a variabilidade dos resultados experimentais. Em que pese o coeficiente de determinação, comparando-se o valor  $F_{calc}$ =41,16 ao valor tabelado (*F*=3,71), pode-se confirmar que o ajuste é adequado.

$$Y_3 = 6,068 + 1,863X_1 + 3,148X_3 - 1,834X_3^2$$
<sup>(29)</sup>

A Figura 51 apresenta a comparação dos valores calculados e experimentais da variação de concentração de COT em 30 minutos, bem como a distribuição de resíduos.

![](_page_93_Figure_0.jpeg)

**Figura 51** - (a) Comparação entre valores experimentais e calculados para variação de concentração de COT em 30 minutos (*Y*<sub>3</sub>, mgC L<sup>-1</sup>). (b) Distribuição de resíduos em função dos valores experimentais da resposta.

A Figura 52(a) apresenta a superfície de resposta correspondente ao modelo dado pela Equação 29; a Figura 52(b) apresenta as curvas de contorno correspondentes. Os resultados mostram que a variação de concentração de COT em 30 minutos ( $Y_3$ ) tem aumento pouco acentuado para valores mínimo e máximo de concentração inicial de CIP ( $X_3$ ) com o aumento da concentração de ozônio à entrada do reator ( $X_1$ ). Já com valores mínimo e máximo da concentração de ozônio à entrada do reator ( $X_1$ ) observa-se maior valor da resposta  $Y_3$  com a variação da concentração inicial de CIP ( $X_3$ ).

![](_page_93_Figure_3.jpeg)

Figura 52 - (a) Superfície de resposta descrita pela Equação 29, que relaciona a variação de concentração de COT em 30 minutos com o [O<sub>3</sub>] (variável normalizada X<sub>1</sub>) e com a [CIP]<sub>0</sub> (variável normalizada X<sub>3</sub>). (b) Curvas de nível para a superfície do item (a).

#### 5.3.3 Resultados de degradação de CIP e COT em 120 minutos

Utilizando-se as condições do experimento 3, realizou-se um experimento prolongado, com duração de 120 minutos, para verificar o comportamento do COT com a permanente alimentação da corrente contendo ozônio ao reator. O experimento 3 foi escolhido como condição para o experimento prolongado por ser realizado em meio básico (pH=10,5) e ter alta concentração de ozônio à entrada do reator (22,3 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>). A Figura 53 mostra que o COT manteve-se constante entre 30 e 120 minutos, não ocorrendo mineralização dos subprodutos durante esse intervalo de tempo. Vasconcelos *et al.* (2009) estudaram a degradação de CIP, pelos processos de ozonização e fotocatálise heterogênea, verificando a mesma tendência das curvas de COT a formarem um patamar estável com o tempo.

Realizou-se apenas a análise de COT por tempo prolongado, pois em 15 minutos de experimento obteve-se concentração de CIP abaixo do limite de detecção do método cromatográfico (0,1 µg L<sup>-1</sup>). Nota-se claramente a persistência dos subprodutos de degradação após aproximadamente 30 minutos, sendo recalcitrantes ao ataque mesmo em meio favorável à geração de radicais hidroxila (via indireta). Dessa forma, a eficiência do tratamento não pode ser avaliada apenas pela remoção de CIP, mas também pela qualidade da solução tratada em termos de sua biodegradabilidade e/ou toxicidade.

![](_page_95_Figure_0.jpeg)

**Figura 53** - Resultados do experimento 3 prolongado ( $[CIP]_0=15,1 \text{ mg } L^{-1}$ ; pH=10,5;  $[O_3]=22,3 \text{ mg}O_3$  $L^{-1}$ ): (•) CIP, (•) COT, (--)  $[O_3]$ .

Observa-se também que a concentração de ozônio no gás à saída do reator varia muito pouco ao longo do tempo após 40 minutos, o que se deve à decomposição do ozônio em meio básico pela ação dos íons OH<sup>-</sup> e reações em cadeia associadas (cf. item 3.8.3.2), podendo-se dizer que não permanece constante como resultado apenas da operação do gerador (oscilações na tensão alimentada, na vazão do gás de entrada etc.).

#### 5.3.4 Resultados de degradação de CIP em pH livre e pH constante

A Figura 54 compara resultados de dois experimentos realizados com concentrações iniciais de CIP e concentrações de ozônio no gás à entrada do reator similares. Em um deles ajustou-se inicialmente o pH em 10,5 e foi deixado livre, enquanto no outro manteve-se o pH controlado manualmente em 10,5 ao longo do tempo. A Figura 55 indica que, quando não controlado, após o início da ozonização o pH tende a diminuir, o que é resultado da formação de ácidos orgânicos a partir da mineralização do antibiótico, sendo possível evidenciar a diferença nos resultados de degradação de CIP e COT nos dois experimentos. No experimento em que o pH foi deixado livre, o meio tornou-se ácido (variação de pH de 10,5 para 6,7 em 10 minutos, conforme a Figura 55), modificando pouco a pouco a via de reação indireta, por ação de radicais hidroxila, para via direta, por ação principalmente do ozônio molecular, que é menos reativo; em meio neutro, as duas vias ocorrem. Como já discutido, para a degradação de CIP a via de reação não é de fundamental importância, já que o antibiótico é degradado totalmente para os dois experimentos, com pH livre ou controlado, em apenas 4 minutos; de gualquer modo, nota-se que a remoção de CIP foi bem mais rápida em meio com pH controlado, aproximando-se do valor correspondente ao limite de detecção em cerca de 1 minuto apenas. Observa-se também que para obter maiores e mais rápidas remoções de COT é necessário realizar a ozonização em meio básico, em que a geração de radicais hidroxila é promovida.

![](_page_97_Figure_0.jpeg)

**Figura 54** - Experimento 3 realizado com pH livre ([CIP]<sub>0</sub>=15,6 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub>=10,5; [O<sub>3</sub>]=22,8 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (●) CIP, (■) COT, (—) [O<sub>3</sub>]; experimento 3 realizado com pH controlado ([CIP]<sub>0</sub>=15,2 mg L<sup>-1</sup>; pH=10,5; [O<sub>3</sub>]=22,4 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>): (●) CIP, (■) COT, (—) [O<sub>3</sub>].

A partir da Figura 55 observa-se que no experimento realizado com pH livre a concentração de ozônio no gás à saída do reator aumenta mais rapidamente. Sugere-se que ocorre a mudança da via de reação à medida que o pH do meio cai, com menor decomposição de O<sub>3</sub>; outro fato é a baixa reatividade deste frente aos compostos orgânicos quando em relação à reatividade dos radicais hidroxila. A curva de concentração de ozônio referente ao experimento com pH=10,5 controlado mostra que há menor concentração de ozônio molecular no gás à saída do reator, e a tendência a subir mais lentamente deve-se à decomposição mais rápida do ozônio em meio básico.

![](_page_98_Figure_0.jpeg)

Figura 55 - Evolução do pH em função do tempo de ozonização. Experimento 3 realizado com pH livre ([CIP]<sub>0</sub>=15,6 mg L<sup>-1</sup>; pH<sub>0</sub>=10,5; [O<sub>3</sub>]=22,8 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>).

### 5.3.5 Resultados de degradação de CIP na presença de DMPO

O composto químico 5,5-dimetil-1-pirrolina-N-óxido (DMPO) é, usualmente, utilizado em espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (ERP), a fim de caracterizar e detectar espécies com elétrons desemparelhados, radicais livres e metais de transição, cujos fundamentos estão baseados no momento magnético de spin do elétron (AUGUSTO, 2006). Neste trabalho, foi empregado exclusivamente para detecção de radicais hidroxila. A Figura 56 apresenta a reação entre DMPO e radicais hidroxila. O produto da reação é o composto DMPO-OH, que apresenta molécula estável e fácil detecção por ERP (OPPENLANDER, 2000).

![](_page_98_Figure_4.jpeg)

avançados (Adaptado de OPPENLANDER, 2000).

O experimento 10 foi realizado, primeiramente sem DMPO e após, em duplicata na presença de DMPO; em todos os casos o pH foi controlado e mantido constante, por ajuste manual, e o reator foi trocado por uma coluna cilíndrica,

detalhada no item 4.7. Não foi utilizada a técnica ERP, apenas foi utilizado o DMPO para capturar radicais hidroxila, e quantificar a diferença de concentração de CIP ao longo do tempo, durante a ozonização em meio básico. Na Figura 57 comparam-se resultados de experimentos realizados com e sem DMPO. Esse resultado sugere que, em meio básico e durante a ozonização, há radicais hidroxila e que estes reagem com o DMPO ocorrendo desaceleração na degradação de CIP. A eventual reação direta entre DMPO e ozônio deve, contudo, ser verificada (UTSUMI *et al.*, 1994).

![](_page_99_Figure_1.jpeg)

**Figura 57** - Resultado de degradação de CIP sem adição de DMPO ([CIP]<sub>0</sub>=5,0 mg L<sup>-1</sup>; pH=9,5;  $[O_3]=16,7 \text{ mgO}_3 \text{ L}^{-1}$ ): (•); Com adição de DMPO ([CIP]<sub>0</sub>=4,5 mg L<sup>-1</sup>; pH=9,7;  $[O_3]=16,7 \text{ mgO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) (•) e sua duplicata ([CIP]<sub>0</sub>=4,9 mg L<sup>-1</sup>; pH=9,7;  $[O_3]=16,7 \text{ mgO}_3 \text{ L}^{-1}$ ): (•).

#### 5.4 ENSAIOS DE RESPIROMETRIA

Os ensaios de respirometria foram realizados em duplicata e tiveram como objetivo avaliar a inibição da atividade microbiana, através da medida do oxigênio utilizado para a degradação bioquímica de material orgânico presente em soluções aquosas de ciprofloxacina, antes e após tratamento por ozonização, ao longo de cinco dias de incubação a  $20^{\circ}$ C. Essa medida foi expressa como demanda bioquímica de oxigênio média (DBO<sub>5</sub>). Avaliou-se a solução aquosa tratada nas condições do experimento 3 do planejamento Doehlert, realizado com [CIP]<sub>0</sub>=15,3 mg L<sup>-1</sup>, pH=10,7 e [O<sub>3</sub>]=22,6 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>.

Os resultados da Figura 58 mostram que após o segundo dia os microorganismos conseguiram metabolizar o carbono disponível na solução de CIP tratada, enquanto somente no terceiro dia foi possível a degradação biológica da solução não tratada. Ao fim dos cinco dias, o consumo de O<sub>2</sub> pelos microorganismos foi igual para a solução padrão de glicose-ácido glutâmico e solução de CIP tratada e menor para a solução de CIP não tratada. Dessa forma, esses resultados sugerem que a degradação da ciprofloxacina com ozônio permite obter subprodutos mais favoráveis à oxidação biológica, apesar da remoção parcial do COT.

![](_page_100_Figure_1.jpeg)

Figura 58 - Resultados de DBO<sub>5</sub> (médios de ensaios em duplicata) (▲) DBO<sub>P</sub>: demanda bioquímica de oxigênio da solução padrão glicose-ácido glutâmico; (▲) DBO<sub>T</sub>: demanda bioquímica de oxigênio da solução de CIP tratada por ozônio nas condições do experimento 3 ([O<sub>3</sub>]=22,6 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; pH=10,7; [CIP]<sub>0</sub>=15,3 mg L<sup>-1</sup>; (▲) DBO<sub>N</sub>: demanda bioquímica de oxigênio da solução de CIP não tratada ([CIP]<sub>0</sub>=15,3 mg L<sup>-1</sup>).

Com os resultados médios de DBO<sub>5</sub> e a Equação 30 foi possível calcular a porcentagem de inibição da atividade microbiana para os ensaios realizados com soluções de ciprofloxacina não tratada e tratada com ozônio. O valor experimental médio da demanda bioquímica de oxigênio do inóculo (DBO<sub>s</sub>), na ausência de substrato orgânico, foi de apenas 1 mg  $O_2$  L<sup>-1</sup>.

$$Inibição (\%) = \frac{(DBO_P - DBO_S) - (DBO_T ou N - DBO_S)}{DBO_P - DBO_S}$$
(30)

A Figura 59 mostra que a solução de CIP não tratada inibiu a atividade microbiana até o segundo dia de incubação e as porcentagens de inibição associadas são superiores ao longo dos cinco dias quando comparadas às porcentagens de inibição obtidas no ensaio realizado com solução de CIP tratada com ozônio.

![](_page_101_Figure_1.jpeg)

**Figura 59** - Curva de inibição (%); (▲) Solução tratada de CIP; (▲) Solução não tratada de CIP. Tratamento por ozônio realizado nas condições do experimento 3 ([O<sub>3</sub>]=22,6 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; pH=10,7; [CIP]<sub>0</sub>=15,3 mg L<sup>-1</sup>).

## 6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

No presente trabalho estudou-se a ação do ozônio na degradação do antibiótico ciprofloxacina em solução aquosa. A ciprofloxacina (CIP) foi escolhida dentre os fármacos, por ser largamente utilizada no tratamento de infecções urinárias, respiratórias, gastrointestinais, além de infecções na pele, ossos e articulações e pelo fato de haver poucos estudos na literatura quanto à sua degradação por processos de oxidação com ozônio, embora sua presença na água e em efluentes de estações de tratamento, bem como seu efeito quanto ao aumento da resistência bacteriana, sejam documentados.

Os resultados deste trabalho indicam que soluções de ciprofloxacina com concentração inicial entre 8 e 40 mg L<sup>-1</sup> não sofrem o efeito de hidrólise em ampla faixa de pH nos tempos analisados (0 h, 1 h e 24 h), assim tal efeito pode ser desconsiderado na análise dos demais experimentos realizados no trabalho.

Os resultados de degradação indicam que o processo oxidativo avançado baseado em ozônio é efetivo para degradação de ciprofloxacina, permitindo sua total oxidação em apenas 15 minutos, porém não é eficaz para a degradação dos subprodutos formados, isto é, para mineralização completa do fármaco, mesmo após 2 horas de tratamento. Obtiveram-se, no melhor caso, 72,8% de remoção de carbono orgânico total (COT), quando se utilizou máxima concentração de ozônio à entrada do reator (24,9 mgO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) em pH 7,0.

Os efeitos da concentração de ozônio e do pH quanto à remoção da ciprofloxacina e de COT devem-se ao ataque via O<sub>3</sub> molecular, em pH baixo, sendo eficiente por ter rápida remoção do antibiótico, embora resulte em subprodutos resistentes à degradação posterior, com mineralização muito lenta. Por outro lado, a operação em meio neutro ou básico, em que prevalece o mecanismo via radicais hidroxila, permite remover o antibiótico rapidamente e aumentar claramente a taxa de remoção de COT.

A análise estatística indicou resultados satisfatórios para todas as variáveis dependentes analisadas. Na variação de concentração de CIP em 2 minutos, identificaram-se efeitos positivos da concentração inicial de CIP, da concentração de ozônio à entrada do reator, e da interação entre essas variáveis; e também efeito quadrático negativo da variável [CIP]<sub>0</sub>. Pode-se concluir que para valores mínimos

de concentração inicial de CIP a remoção do antibiótico em 2 minutos de tratamento é menor quando comparada à observada para valores máximos, mesmo variando a concentração de ozônio a entrada do reator, já que a CIP é removida praticamente em sua totalidade em tempos muito curtos.

Na análise para a taxa inicial de degradação de CIP também se observaram efeitos positivos da concentração inicial de CIP e da concentração de ozônio, indicando que a taxa de remoção de CIP aumenta linearmente com o aumento da concentração de ozônio à entrada do reator.

Por último, a análise realizada para a variação de concentração de COT em 30 minutos indicou efeito positivo da concentração inicial de CIP e efeito negativo do termo quadrático associado a essa variável, mostrando que o aumento da concentração do antibiótico, a partir de determinado valor, afeta negativamente a mineralização dos subprodutos formados, pois quanto maior a concentração inicial de CIP maior a formação de subprodutos de degradação persistentes.

A existência dos radicais hidroxila, na via indireta, foi verificada através do ensaio de degradação de ciprofloxacina na presença e ausência do composto DMPO, em meio básico. Pode-se evidenciar que na presença de DMPO, os radicais hidroxila deixam de reagir com o fármaco, desacelerando o decaimento da sua concentração inicial, sendo consumidos pelo composto DMPO.

Com o ensaio respirométrico, concluiu-se que após dois dias de incubação os microorganismos metabolizaram o carbono disponível na solução tratada de CIP, com resultados superiores de oxigênio consumido quando comparados aos obtidos para o ensaio realizado com a solução de CIP não tratada. Esta mostrou forte inibição do metabolismo microbiano até o segundo dia e porcentagens de inibição ao longo de cindo dias de incubação superiores a da solução tratada. Em outras palavras, apesar da remoção parcial de COT, a solução obtida após tratamento por ozonização apresenta biodegradabilidade adequada a um pós-tratamento biológico.

É possível utilizar a técnica da ozonização para tratamento de águas e efluentes contaminadas com ciprofloxacina, porém em escala industrial outros fatores devem ser analisados. Principalmente, para remoção do carbono orgânico associado aos subprodutos remanescentes, após a total degradação do fármaco, é necessária a aplicação de tratamento biológico posterior ao POA baseado na ozonização.

## **Recomendações:**

- Acompanhamento da concentração de ozônio no líquido durante os experimentos;
- Identificação direta do adulto formado pela reação entre o composto DMPO e radicais HO<sup>•</sup> por meio de ERP;
- Obtenção da cinética de degradação de ozônio por meio ácido e básico;
- Identificação de subprodutos de degradação por meio de espectrometria de massas.

# REFERÊNCIAS

ABRAHAM, D. J. Burger's Medicinal Chemistry & Drugs Discovery. Chemotherapepeutic Agents, São Francisco: John Wiley & Sons, 2003.

ADAMS, C.; WANG, Y.; LOFTIN, K.; MEYER, M. Removal of antibiotics from surface an distilled water in conventional water treatment processes. Journal Environmental Engineering-ASGE, v. 128, n. 3, p. 253-260, 2002.

ALVARES, A. B. C; DIAPER, C.; PARSONS, S. A. Partial oxidation by ozone to remove recalcitrance from wastewater – Review. Environmental Technology, v. 22, n. 4, p. 409-427, 2001.

ANA. GEO Brasil: recursos hídricos: componente da série de relatórios sobre o estado e perspectivas do meio ambiente no Brasil: resumos executivos. Brasília, 2007.

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. Catalysis Today, v.53, n. 1, p. 51-59, 1999.

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; MAROTTA, R.; VOGNA, D. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and  $H_2O_2/UV$  system. Water Resarch, v. 37, n. 5, p. 993-1004, 2003.

ANDREOZZI, R.; MAROTTA, R.; PAXÉUS, N. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. Chemosphere, v. 50, n. 10, p. 1319-1330, 2003.

ANDREOZZI, R.; CANTERINO, M.; MAROTTA, R.; PAXÉUS, N. Antibiotic removal from wastewaters: the ozonation of amoxicillin. Journal of Hazardous Material, v. 122, n. 3, p. 243-250, 2005.

AUGUSTO, O. Radicais livres: bons, maus e naturais. 1ª Ed.; São Paulo: Oficina do texto, 2006.

APPELBAUM, P. C.; HUNTER, P. A. The Fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. Internacional Journal Antimicrobial Agents, v. 16, n. 1, p. 5-15, 2000.

ARSLAN-ALANTON, I.; DOGRUEL, S. Pre-treatment of penicillin formulation effluent by advanced oxidation processes. Journal Hazardous Materials, v. 112, n. 1-2, p. 105-113, 2004.

BALAKRISHNAN, P. A.; ARUNAGIRI, A.; RAO, P. G. Ozone generation by silent discharge and its application in tertiary treatment of tannery effluent. Journal Electrostatics, v. 56, n. 1, p. 77-86, 2002.

BATTINO, R.; RETTICH, T. R.; TOMINAGA, T. The solubility of oxygen and ozone in liquids. Journal of Physical and Chemical Reference Data, v. 12, n. 2, p. 163-178, 1983.

BELTRÁN, F. J. **Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater Systems.** US: Lewis Publishers, 2004.

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

BESKOW, G. C.; ROHLFES, A. L. B.; DORNELLES, L.; MACHADO, E. L.; SILVA, F. W. G.; ZERWES, F. Avaliação dos processos oxidativos avançados na degradação do ciprofloxacino. XVI Encontro de Química da Região Sul (16-SBQSul), 2008.

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

BURNS, N. L.; Ozone. In: BLACK & VEATCH. White's handbook of chlorination and alternative disinfectants. 5<sup>th</sup> Ed., New Jersey: Wiley, 2010.

CASTIGLIONI, S.; BACAGNATI, R.; FANELLI, R.; POMATI, F.; CALAMARI, D.; ZUCCATO, E. Removal of Pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy Environmental Science & Technology, v. 40, n. 1, p. 357-363, 2006.

CHEREMISINOFF, N. P. Handbook of water and wastewater treatment **Technologies.** U.S: Butterworth-Heinemann, 2002.

CROLL, B. T. The installation of GAC and ozone surface water treatment plants in Anglian water, UK. Ozone: Science & Engineering: The Journal of International Ozone Association, v. 18, n. 1, p. 19-40, 1996.

DAVISON, J. Genetic exchange between bacteria in the environment. Plasmid, v. 42, n. 2, p. 73-91, 1999.

DE SOUZA, M. V. N.; ALMEIDA, M. V.; LE HYARIC, M.; CARDOSO, S. H.; AMARANTE, G. W. Métodos de preparação e atividade biológica do ácido quinolínico e derivados. Química Nova, v. 26, n. 5, p. 694-698, 2003.

DE WITTE, B.; DEWULF, J.; DEMEESTERE, K.; LANGENHOVE, H. V. Ozonation and advanced oxidation by the peroxone process of ciprofloxacin in water. Journal of Hazardous Materials, v. 161, n. 2-3, p. 701-708, 2009a.

DE WITTE, B.; LANGENHOVE, H. V.; HEMELSOET, K.; DEMEESTERE, K.; DE WISPELAERE, P.; SPEYBROECK, V. V.; DEWULF, J. Levofloxacin ozonation in water: Rate determining process parameters and reaction pathway elucidation. Chemosphere, v. 76, n. 5, p. 683-689, 2009b.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água.** 2ª ed.; São Carlos: RiMa, 2005.

DUSSERT, B. W.; KOVACIC, S. L. Impact of drinking water preozonation on activated carbon quality and performance, Ozone: Science & Engineering: The Journal of International Ozone Association, v. 19, n. 1, p. 1-12, 1997.

FERREIRA, S. L. C.; DOS SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; NETO, B. B.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry-review, Talanta, v. 63, n. 4, p. 1061-1067, 2004.

FUKUDA, S.; KISHII, R.; TAKEI, M.; HOSAKA, M. Contributions of the 8-methoxy group of gatifloxacin to resistance selectivity, target preference and antibacterial activity against streptococcus pneumonia. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 45, n. 6, p. 1649-1653, 2001.

GEBHARDT, W.; SCHROEDER, H. F. Liquid chromatography – (tandem) mass spectrometry for the follow-up of the elimination of persistent pharmaceuticals during wastewater treatment applying biological wastewater treatment and advanced oxidation. Journal Chromatography A, v. 1160, n. 1-2, p. 34-43, 2007.

GOLET, E. M.; ALDER, A. C.; HARTMANN, A.; TERNES, T. A.; GIGER, W. Trace determination of Fluoroquinolone antibacterial agents in urban wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detector. Analytical Chemistry, v. 73, n. 15, p. 3632-3638, 2001.
GOTTSCHALK, C.; LIBRA, J. A.; SAUPE, A. **Ozonation of Water and Waste Water: A Practical Guide to Understanding Ozone anits Application.** Weinheim: Wiley-VCH, 2000.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. Química Nova, v. 33, n. 3, p. 66-679, 2010.

GUROL, M. D.; VATISTAS, R. Oxidation of phenolic compounds by ozone and ozone + u.v. radiation: A comparative study. Water Research, v. 21, n. 3, p. 895-900, 1987.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. Toxicology Letters, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, 2002.

HOIGNÉ, J.; BADER, H. The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions. Water Research, v. 10, n. 5, p. 377-386, 1976.

HOIGNÉ, J.; BADER, H. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water-I: Non-dissociating organic compounds. Water Research, v. 17, n.2, p. 173-183, 1983.

HUA W.; BENNETT E. R.; LETCHER R. J. Ozone treatment and the depletion of detectable pharmaceuticals and atrazine herbicide in drinking water sourced from the upper Detroit River, Ontario, Canada. Water Research, v. 40, n. 12, p. 2259-2266, 2006.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. Waste Management, v. 13, n. 5-7, p. 361-377, 1993.

HUBER, M. M.; CANONICA, S.; PARK, G. Y.; GUTEN, U. V. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. Environmental Science & Technology, v. 37, n. 5, p. 1016-1024, 2003.

HUBER, M. M.; GOBEL, A.; JOSS, A.; HERMANN, N.; LOFFLER, D.; MCARDELL, C. S.; RIED, A.; SIEGRIST, H.; TERNES, T. A.; GUNTEN, U. V. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: A pilot study. Environmental Science & Technology, v.39, n. 11, p. 4290-4299, 2005.

IKEHATA, K.; NAGHASHKAR, N. J.; EI-DIN, M. G. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. Ozone-Science & Engineering, v. 28, n. 6, p. 358-414, 2006.

JORGENSEN, S. E.; HALLING-SORENSEN, B. Drugs in the environment. Chemosphere, v. 7, n. 7, p. 691-699, 2000.

KLAVARIOTI, M.; MANTAZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. Review article. Environment International, v. 35, n. 2, p. 402-417, 2009.

KOLÁR, M.; URBÁNEK, K.; LÁTAL, T. Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. International Journal of Antimicrobial Agents, v. 17, n. 5, p. 357-363, 2001.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. Environment Science Technology, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, 2002.

KÜMMERER K. Resistance in the environment. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 54, n. 2, p. 311-320, 2004.

KÜMMERER K.; ALAHMAD A.; MERSCHSUNDERMANN V. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in sample test. Chemosphere, v. 40, n. 7, p. 701-710, 2000.

LAZAROVA V.; SAVOYER, P.; JANEX, M. L.; BLATCHLEY, E. R., POMMEPUY, M. Advanced wastewater disinfection technologies: State of the art and perspectives. Water Science and Technology, v. 40, n. 4-5, p. 203-214, 1999.

LESHER, G. Y.; FROELICH, E. J.; GRUETT, M. D.; BAILEY, J. H.; BRUNDAGE, R. P. 1-8-Naphthyridine Derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. Journal of Medicinal Chemistry, v. 5, n. 5, p. 1063-1065, 1962.

LI, B.; ZHANG, T. Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. Environmental Science & Technology, v. 44, n. 9, p. 3468-3473, 2010.

LOCATELLI, M. A. F; SODRÉ, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Environmental Contamination Toxicology, v. 60, n. 3, p. 385-393, 2011.

MANTZAVINOS, D.; PSILLASKIS, E. Review: Enhancement of biodegradability of industrial wastewaters by chemical oxidation pre-treatment. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 79, n. 5, p. 431-454, 2004.

MELO, S. A. S.; TROVÓ, A. G.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. Química Nova, v. 32, n. 1, p. 188-197, 2009.

MIERZWA, J. C.; HESPANHOL, I. Água na Indústria: uso racional e reuso. São Paulo: Oficina de textos, 2005.

OPPENLANDER, T., Photochemical Purification of Water and Air: Advanced Oxidation Processes (AOPs): Principles, Reaction Mechanisms, Reactor Concepts, Weinhein: Wiley-VCH, 2003.

PATRICK, G. L. An Introduction to Medicinal Chemistry. New York: Oxford University Press, 1995.

PUPO, M. T.; GUIMARÃES, D. O.; FURTADO, N. A. J. C.; BORGES, W. S. Microbial natural products: a promising source of bioactive compounds. In: TAFT, C. A. **Modern Biotechnology in medicinal chemistry and industry.** Kerala: Research Signpost, 2006.

RIVAS, F. X.; SAGASTI, J.; ENCINAS, A.; GIMENO, O. Contaminants abatement by ozone in secondary effluent. Evaluation of second-order rate constant. Journal of Chemical, Technology and Biotechnology, v. 86, n. 8, p. 1055-1066, 2011.

ROCHA, D. P.; PINTO, G. F.; RUGGIERO, R.; DE OLIVEIRA, C. A.; GUERRA, W. Coordenação de metais a antibióticos como estratégia de combate à resistência bacteriana. Química Nova, v. 34, n. 1, p.111-118, 2011.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos: Uma estratégia sequencial de planejamento, 1<sup>ª</sup> Ed.; Campinas: Casa do Pão, 2005.

SINGER, P. C.; RECKHOW, D. A. Chemical Oxidation. In: LETTERMAN, R. D. Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies, 5<sup>th</sup> Ed.; U.S.: McGram-Hill, 1999.

SCHWARTZ, T.; KOHNEN, W.; JANSE, B.; OBST, U. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistence genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS Microbiology Ecology, v. 43, n. 3, p. 325-335, 2003.

TAVARES, W. Quinolonas. In: **Manual de antibióticos e Quimioterápicos Antiinfecciosos**. 2<sup>ª</sup> ed., São Paulo: Atheneu, 1996.

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

TERNES, T. A.; MEISENHEIMER, M.; MCDOWELL, D.; SACHER, F.; BRAUCH, H. J.; GULDE, B. H.; PREUSS, G.; WILME, U; SEIBER, N. Z. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. Environmental Science & Technology, v. 36, n. 17, p. 3855-3863, 2002.

TERNES, T. A.; STUBER, J.; HERRMANN, N.; MCDOWELL, D.; RIED, A.; KAMPMANN, M.; TEISER, B. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? Water Research, v. 37, n. 8, p. 1976-1982, 2003.

TUNDISI, J. G. Água no Século XXI: Enfrentando a Escassez. São Carlos: RiMa, IIE, 2003.

UTSUMI, H.; HAKODA, M.; SHIMBARA, S.; NAGAOKA, H.; CHUNG, Y. S.; HAMADA, A. Active oxygen species generated during chlorination and ozonation. Water Science and Technology, v. 30, n. 9, p. 91-99, 1994.

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

VÁZQUEZ, J. L.; BERLANGA, M.; MERINO, S.; DOMÈNECH, Ò.; VINAS, M.; MONTERO, M. T.; HERNÁNDEZ-BORRELL, J. Determination by fluorimetric titration of the ionization constants of ciprofloxacin in solution and in the presence of liposomes. Photochemistry and Photobiology, v. 73, n. 1, p.14-19, 2001.

ZHANG, Y.; ZHOU, J. L.; NING, B. Photodegradation of estrone and 17β-estradiol in water. Water Research, v. 41, n. 1, p. 19-26, 2007.

WANG, P.; HE, Y. L.; HUANG, C. H. Oxidation of fluoroquinolone antibiotics and structurally related amines by chlorine dioxide: reaction kinetics, product and pathways evaluation. Water Research, v. 44, n. 20, p. 5989-5998, 2010.

WALSH, C. Antibiotics: actions, origins, resistance. Washington: ASM Press, 2003.