

## Biossorção do antibiótico ciprofloxacino empregando biomassa de macrófita aquática

## Biosorption of the antibiotic ciprofloxacin using aquatic macrophyte biomass

**Leonardo Tofolo**

[leotofolo@hotmail.com](mailto:leotofolo@hotmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR  
Medianeira, Paraná, Brasil.

**Kevin Augusto Ferreira**

[kevin.af.sh@gmail.com](mailto:kevin.af.sh@gmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR  
Medianeira, Paraná, Brasil.

**Cesar Augusto Kappes**

[cesarkappes00@gmail.com](mailto:cesarkappes00@gmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR  
Medianeira, Paraná, Brasil.

**Ismael Laurindo Costa Junior**

[cesarkappes00@gmail.com](mailto:cesarkappes00@gmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR  
Medianeira, Paraná, Brasil.

### RESUMO

Antibióticos residuais podem causar o fenômeno da resistência antimicrobiana, caracterizada pela capacidade das bactérias presentes no meio serem tolerantes aos efeitos dos antibióticos. As técnicas avançadas destinadas a tratamentos específicos ou a contaminantes persistentes apresentam alto custo de implantação e operação, com isso vêm sendo preteridos por sistemas alternativos ou pelo uso de biomassas mediante os processos de bioacumulação e biossorção. A biossorção é um processo passivo, onde a captura é realizada mesmo estando à biomassa inativa. Sendo assim, propõem-se a aplicação de biomassa de macrófita aquática visando a biossorção do antibiótico ciprofloxacina. As plantas foram colhidas em reservatórios da Região Oeste do Paraná e após devidamente limpas e secas foram trituradas e tratadas por imersão em KOH,  $H_3PO_4$  e  $ZnCl_2$  1,0 mol.L<sup>-1</sup> por 24 h. Após sucessivas lavagens e nova secagem foram acondicionadas para uso. Foi determinado o ponto de carga zero (PCZ) para cada tratamento incluindo a biomassa *in natura*. Foram aplicados os delineamentos experimentais do tipo fatorial completo 2<sup>3</sup> como inicial e DCCR 2<sup>3</sup> para otimização. Os ensaios ocorreram em batelada a temperatura ambiente e sob agitação durante 20h seguindo os valores definidos para cada planejamento. Os valores do pH no ponto de carga zero foram de 6,5 para a casca sem tratamento e  $ZnCl_2$ , 2,5 para o  $H_3PO_4$  e 9,0 para o KOH. Houve melhor resposta para a biossorção do CIP em pH alcalino e menores quantidades de biomassa. Para a biomassa sem tratamento e com KOH a remoção sugerida foi de 60% (pH de 9 a 12 e massa em torno de 0,04 g). Para esses mesmos valores observou-se que o biossorvente contendo  $H_3PO_4$  chegou a remoções de 30%. O tratamento com  $ZnCl_2$  atingiu remoções também de 60% em pH na faixa de 10 a 12 e massa de até 0,2 g. A utilização de biomassa de macrófita aquática no processo de adsorção de CIP mostrou-se atrativa conforme os resultados obtidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biossorção, Microcontaminantes Emergentes, Antibióticos Residuais.

### ABSTRACT

Residual antibiotics can cause the phenomenon of antimicrobial resistance, characterized by the ability of the bacteria present in the environment to be tolerant to the effects of antibiotics. Advanced techniques for specific treatments or persistent contaminants present a high cost of implantation and operation, with which they have been neglected by alternative systems or the use of biomasses through the processes of bioaccumulation and biosorption. Biosorption is a passive process, where the capture is performed even though the biomass is inactive. Therefore, we propose the application of aquatic macrophyte biomass for the biosorption of the antibiotic ciprofloxacin. The plants were harvested in reservoirs in the Western Region of Paraná and after being cleaned and dried, they were ground and treated by immersion in KOH,  $H_3PO_4$  and  $ZnCl_2$  1.0 mol.L<sup>-1</sup> for 24 h. After successive washing and re-drying were conditioned for use. The zero loading point (PCZ) was determined for each treatment including *in natura* biomass. Experimental designs of full factorial type 2<sup>3</sup> were applied as initial and DCCR 2<sup>3</sup> for optimization. The

**Recebido:** 30 ago. 2018.

**Aprovado:** 04 out. 2018.

#### Direito autorial:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.





tests were carried out in batch at room temperature and under agitation for 20h following the values defined for each planning. The pH values at the zero loading point were 6.5 for untreated peel and  $ZnCl_2$ , 2.5 for  $H_3PO_4$  and 9.0 for KOH. There was better response for CIP biosorption at alkaline pH and lower amounts of biomass. For biomass without treatment and with KOH the suggested removal was 60% (pH 9 to 12 and mass around 0.04 g). For these same values it was observed that the biosorbent containing  $H_3PO_4$  reached 30% removals. Treatment with  $ZnCl_2$  also reached 60% removals in pH in the range of 10 to 12 and mass up to 0.2g. The use of aquatic macrophyte biomass in the CIP adsorption process was attractive according to the results obtained.

**KEYWORDS:** Biosorption, Emerging Microcontaminants, Residual Antibiotics.



## INTRODUÇÃO

Poluentes orgânicos emergentes (POE) referem-se a qualquer composto químico presente numa variedade de produtos comerciais como medicamentos, produtos de uso veterinário, embalagens de alimentos, produtos de higiene, agrotóxicos, etc. Não são usualmente monitorados ou que ainda não possuem legislação regulatória correspondente, mas que apresentam risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente (KÜMMERER, 2009; SILVA e COLLINS, 2011).

Especificamente no grupo dos microcontaminantes de origem farmacológica, existe a crescente preocupação quanto à ocorrência de estirpes bacterianas resistentes aos antibióticos convencionais, fenômeno estes diretamente relacionado a ocorrência de antimicrobianos residuais no ambiente. Os tratamentos sanitários usuais de água e esgoto não são suficientes para eliminar microcontaminantes e eles estão presentes no ecossistema aquático e isto influencia diretamente o desenvolvimento da resistência bacteriana. O ciprofloxacino (CIP) pertence ao grupo das quinolonas, apresenta dois grupos cromóforos: uma amina e um grupo carboxílico (JALL et al, 2015).

As técnicas avançadas destinadas a tratamentos específicos ou a contaminantes persistentes apresentam alto custo de implantação e operação, com isso vêm sendo preteridos por sistemas alternativos ou pelo uso de biomassas mediante os processos de bioacumulação e biossorção. O processo baseia-se em diferentes mecanismos e é relativamente rápido, podendo ser reversível, sendo afetado por diferentes fatores operacionais como: pH, força iônica, concentração da biomassa, temperatura, tamanho de partícula, presença de outros íons na solução, entre outros (ESPOSITO, 2001). Sendo assim, propõem-se a aplicação dessa biomassa, tendo por princípio os processos biossorção, visando remoção do antibiótico ciprofloxacina, a fim de subsidiar estudos e potencialidades para a proposição de alternativas de baixo custo com biossorvente preparado a partir de biomassa de macrófitas aquáticas

## METODOLOGIA

A CIP foi adquirida na forma de padrão analítico para cromatografia com pureza de 99,98%. A concentração de trabalho adotada foi de  $25\text{mg.L}^{-1}$ . Para ajuste do pH das soluções foram utilizadas soluções de ácido clorídrico (HCl, Vetec) e hidróxido de sódio (NaOH, Biotec)  $0,1\text{mg.L}^{-1}$ . As medidas analíticas foram obtidas em espectrofotômetro de absorção molecular UV-VIS de varredura com feixe duplo, marca PerkinElmer, modelo Lambda 45. A quantificação ocorreu por meio de curva de calibração na faixa de 5 a  $30\text{mg.L}^{-1}$ .

As macrófitas foram colhidas em reservatórios da região do Reservatório de Itaipu. Foram lavadas com água abundante e passaram por separação das raízes e folhas. A biomassa fresca foi levada a estufa com recirculação para secagem na temperatura de  $80^{\circ}\text{C}$  durante 48h. Na sequência foram trituradas em moinho de facas até obtenção de um sólido fino e homogêneo. Os tratamentos consistiram na lavagem de 1,0kg de biomassa moída com água destilada por imersão durante 24h. A massa foi dividida em quatro porções iguais. Uma delas foi reservada como branco e as outras três submetidas à imersão em KOH,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e  $\text{ZnCl}_2$   $1,0\text{mol.L}^{-1}$  por 24h. Foram novamente lavadas com água destilada, secas em estufa e acondicionadas em recipientes fechados para uso posterior. Na

determinação do PCZ amostras compostas de 0,25g de biomassa foram levadas a erlemeyers com 50 ml de solução de NaCl 0,1mol.L<sup>-1</sup> e o pH ajustado previamente a diferentes valores (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) e medido após 24h. A variação nos valores de pH final e inicial foram plotados em função dos valores pH inicial. O ponto de carga zero foi indicado graficamente.

Um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com 3 repetições no ponto central foi utilizado com a finalidade de verificar a influência dos fatores pH e massa de cada biossorvente na remoção de CIP, usando o *software Statistica 7.0*. Foram realizados ensaios em batelada sob agitação de 300 rpm durante 20 h, utilizando 50mL de CIP a 25mg.L<sup>-1</sup> com pH ajustado e a massa definida para cada ensaio de acordo com o delineamento. A variável resposta (dependente) a ser utilizada na análise estatística foi a porcentagem de remoção de CIP e seu ajuste ao modelo mediante a ANOVA de regressão ao nível de 95% de confiança. A faixa de pH foi definida com base no PCZ.

A fim de otimizar as condições obtidas com o planejamento inicial 2<sup>2</sup> foi expandido para um DCCR 2<sup>2</sup> com 3 repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios (Tabela 01).

Tabela 01. Valores codificados e reais do planejamento inicial 2<sup>2</sup> e do DCCR 2<sup>2</sup>

Tratamento	Fatores	Fatorial Completo 2 <sup>2</sup>			DCCR 2 <sup>3</sup>				
		Variáveis codificadas			Variáveis Codificadas				
		-1	0	-1	-α	-1	0	+1	+α
Branco	pH	3,5	6,5	9,5	5,7	6,5	8,5	10,5	11,3
	Massa (g)	0,02	0,06	0,10	0,003	0,01	0,04	0,07	0,08
ZnCl <sub>2</sub>	pH	3,5	6,5	9,5	5,7	6,5	8,5	10,5	11,3
	Massa (g)	0,02	0,06	0,10	0,018	0,1	0,3	0,5	0,58
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	pH	1,5	3,0	4,5	1,6	3,5	6,5	9,5	11,4
	Massa (g)	0,02	0,06	0,10	0,003	0,01	0,04	0,07	0,08
KOH	pH	7,0	9,0	11,0	1,6	3,5	6,5	9,5	11,4
	Massa (g)	0,02	0,06	0,10	0,003	0,01	0,04	0,07	0,08

$$\alpha = (2^N)^{1/4} = 1,41; N = \text{número de variáveis independentes.}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores do pH no ponto de carga zero foram de aproximadamente 6,5 para a casca sem tratamento e com cloreto de zinco, 2,5 para o tratamento com ácido fosfórico e 9,0 para o tratamento com hidróxido de potássio. Abaixo desses valores o sólido apresenta uma carga superficial positiva favorecendo a adsorção de ânions e acima deste valor a superfície está carregada negativamente, favorecendo a adsorção de cátions.

A aplicação do delineamento experimental inicial 2<sup>2</sup> (Tabela 01) como planejamento inicial apontou necessidade de deslocamento nas faixas de pH e massa para que a remoção fosse melhorada. Após estas verificações, realizou-se o deslocamento do planejamento inicial por meio de um DCCR 2<sup>2</sup> (Tabela 1). Com os resultados experimentais obtidos na Biossorção do CIP a partir do DCCR, obtiveram-se os valores dos efeitos estimados de cada parâmetro (pH e massa de biossorvente) sobre as variáveis resposta apresentadas na Tabela 3. Os valores que apresentaram p-valor inferior a 0,05 foram considerados significativos para o intervalo de confiança de 95% de confiança. A partir dos valores significativos,

obteve-se a equação matemática do modelo de regressão quadrático e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) (Tabela 2).

Tabela 02. Modelo quadrático e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) do modelo ajustados para remoção de CIP pelo DCCR 2<sup>3</sup>

Tratamento	Modelo	$R^2$ (%)
Branco	Remoção (%) = $-139,1 + 35,2\text{pH} - 1,7(\text{pH})^2 + 4802,0 (\text{massa})^2 - 9,3 (\text{pH})(\text{massa})$	92
ZnCl <sub>2</sub>	Remoção (%) = $102,5 - 23,8\text{pH} - 1,6(\text{pH})^2 + 50,5(\text{massa}) + 27,3 (\text{massa})^2 - 10,3 (\text{pH})(\text{massa})$	65
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Remoção (%) = $8,2 + 0,1(\text{pH})^2 - 92,1 (\text{massa})$	92
KOH	Remoção (%) = $-56,9 + 11,6\text{pH} - 0,4(\text{pH})^2 + 995,6(\text{massa}) - 4047,3(\text{massa})^2 - 100,6(\text{pH})(\text{massa})$	78

Para a remoção de CIP com a biomassa sem tratamento o  $R^2$  mostra que 92% da resposta foi explicada pelo modelo, sendo que os efeitos lineares de pH e massa do biossorvente foram os mais importantes para explicar tal resposta. Para o tratamento com ZnCl<sub>2</sub> o  $R^2$  apresenta que 65% do comportamento de remoção foi explicada pelo modelo. Este valor é baixo sugerindo falta de ajuste, entretanto para as condições testadas verificou-se que os efeitos quadráticos foram mais significativos. Quanto à remoção empregando biossorvente preparado com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> verificou-se um  $R^2$  de 92%, o que indicou um bom ajuste. OS efeitos mais significativos foram os termos quadráticos para o pH e linear para massa. O tratamento com KOH apresentou  $R^2$  de 78% e como principal efeito a massa de biomassa.

A interação binária do pH com a biomassa (pH x massa) foi antagônica para todos os tratamentos. O principal efeito sinérgico observado para todos os tratamentos foi o pH linear mostrando que em valores alcalinos a remoção por Biossorção foi favorecida. A Figura 1 apresenta o comportamento do processo de biossorção quanto a eficiência de remoção de CIP por meio da superfície de resposta.

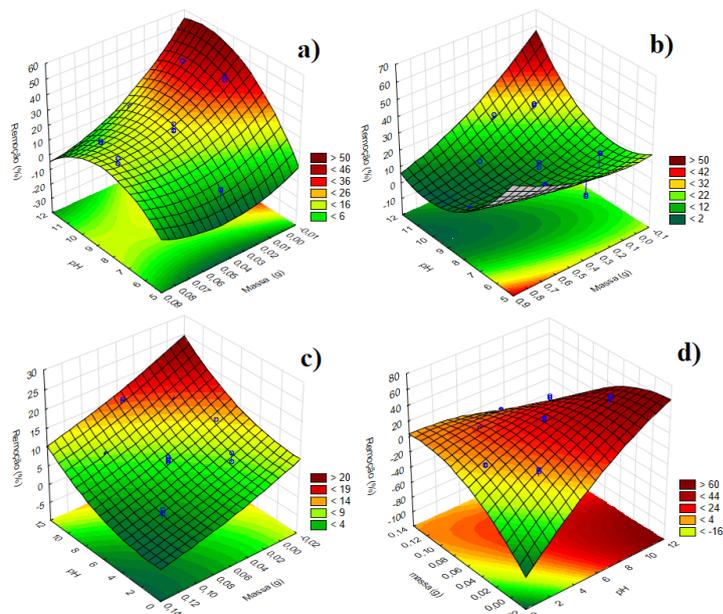


Figura 04. Superfície de Resposta para a remoção (%) do CIP de acordo com cada tratamento realizado para a biomassa para o DCCR 2<sup>2</sup>. (a) Branco, (b) ZnCl<sub>2</sub>, (c) H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e (d) KOH.



De acordo com a Figura 1, houve melhor resposta para a bio sorção do CIP em pH alcalino e menores quantidades de biomassa. Para a biomassa sem tratamento e com KOH a remoção sugerida foi de 60% e ocorre para pH na faixa de 9 a 12 e massa de bio sorvente de em torno de 0,04g. Para esses mesmos valores observou-se que o bio sorvente contendo  $H_3PO_4$  chegou a remoções de até 30%. O tratamento com  $ZnCl_2$  pode atingir remoções também de 60% em pH na faixa de 10 a 12 e massa de até 0,2 g. A molécula de CIP apresenta dois grupos cromóforos: uma amina e um grupo carboxílico.

Em pH inferior a 6,1 a molécula da CIP encontra-se como um cátion devido a uma protonação do grupo amina. Na faixa de pH entre 6,1 e 8,7, a molécula é um íon dipolar, pois ocorre a protonação do grupo amina e a desprotonação do grupo ácido carboxílico. E em pH acima de 8,7, a molécula da CIP torna-se um ânion, devido à perda de um próton do grupo amina (JIANG et al, 2013).

Entretanto, nas faixas de pH observadas como favoráveis, em todos os tratamentos a carga predominante da superfície do bio sorvente será negativa, bem como a molécula de CIP apresentará comportamento aniônico para os mesmos valores. A natureza de mesma carga indica que o processo possivelmente não seja eletrostático e que se dê por interações hidrofóbicas de menor força e que justificaria menor quantidade de sorção. Foi verificado também que apenas para o tratamento com KOH a superfície de resposta (Figura 1d) atingiu a forma de cela permitindo a identificação de valores ótimos. Para os demais tratamentos existe a necessidade de deslocamentos de faixas a fim de que sejam alcançados resultados mais favoráveis.

## CONCLUSÕES

Neste trabalho investigou-se o processo de bio sorção do antibiótico ciprofloxacino (CIP) empregando como bio sorvente a biomassa de macrófita aquática sob diferentes tratamentos químicos. A melhor condição experimental obtida para a remoção foi nos tratamentos com KOH e  $ZnCl_2$ , em torno de 60% após 20h de ensaio.

O processo de bio sorção do CIP foi favorecido em meios alcalinos. A continuidade do estudo demanda da avaliação de algumas faixas de pH e massa para uma melhor otimização e da realização dos estudos cinéticos e de isotermas. A utilização de biomassa de macrófita aquática no processo de adsorção de CIP mostrou-se atrativa conforme os resultados obtidos.

## REFERÊNCIAS

KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment—review—part I. **Chemosphere**, v. 75, n. 4, p. 417-434, 2009.

SILVA, C. G. A. da; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.



JALL, M. E. R.; BASCHINI, M.; SAPAG, K. Influence of pH and antibiotic solubility on the removal of ciprofloxacin from aqueous media using montmorillonite. **Applied Clay Science**, v. 114, p. 69-76, 2015.

ESPOSITO, A.; PAGNANELLI, F.; LODI, A.; SOLISIO, C. AND VEGLIÒ, F.; Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: an equilibrium study at different pH and biomass concentration, **Hydrometallurgy**, v. 60 p. 129-141, 2001.

JIANG, Wei-Teh et al. Removal of ciprofloxacin from water by birnessite. *Journal of hazardous materials*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 250-251, p. 362-369, 2013

### AGRADECIMENTOS

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) campus Medianeira pelo espaço e equipamentos cedidos. À UTFPR campus Apucarana pela promoção do evento Sichte XXIII.