

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CERRO LARGO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E TECNOLOGIAS
SUSTENTÁVEIS

ANDRIELI SCHMITZ

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE E GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS
NA DEGRADAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE CIPROFLOXACINA PELO
PROCESSO UV-C/H₂O₂

CERRO LARGO

2018

ANDRIELI SCHMITZ

**AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE E GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS
NA DEGRADAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE CIPROFLOXACINA PELO
PROCESSO UV-C/H₂O₂**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Processos e Tecnologias

Orientador: Prof. Dr. Fernando Henrique Borba
Coorientador: Prof. Dr. Bruno München Wenzel

CERRO LARGO

2018

PROGRAD/DBIB – Divisão de Bibliotecas

Schmitz, Andrieli

Avaliação da genotoxicidade e geração de subprodutos na degradação e mineralização de ciprofloxacina pelo Processo UV-C/H₂O₂ / Andrieli Schmitz. – 2018.

113 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Henrique Borba

Co-orientadora: Prof. Dr. Bruno München Wenzel

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis - PPGATS, Cerro Largo, RS, 2018.

1. Ciprofloxacina. 2. Contaminantes emergentes. 3. Processos oxidativos. 4. Genotoxicidade I. Borba, Fernando Henrique, orient. II. Wenzel, Bruno Münchel, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ANDRIELI SCHMITZ

**AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE E GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS
NA DEGRADAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE CIPROFLOXACINA PELO
PROCESSO UV-C/H₂O₂**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

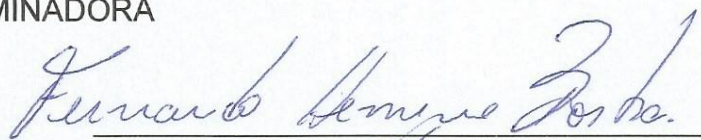
Área de Concentração: Monitoramento, Controle e Gestão Ambiental

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de Processos e Tecnologias

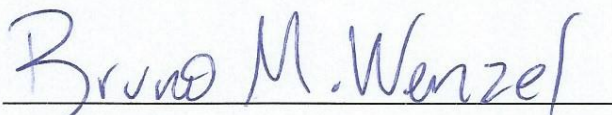
Orientador: Prof. Dr. Fernando Henrique Borba

Coorientador: Prof. Dr. Bruno München Wenzel

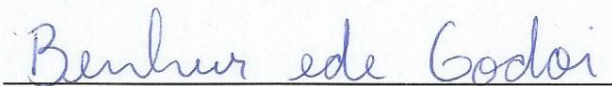
BANCA EXAMINADORA



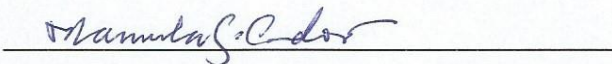
Prof. Dr. Fernando Henrique Borba - UFFS



Prof. Dr. Bruno München Wenzel - UFFS



Prof. Dr. Benhur de Godói - UFFS



Prof^a. Dr^a. Manuela Gomes Cardoso - UFFS

“Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar; não apenas planejar, mas também acreditar.”

(Anatole France)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, autor do meu destino e meu guia, pela força, coragem e saúde ao longo da caminhada da vida.

Aos meus pais Cleci Nelci Immig Schmitz e Guido Aloísio Schmitz, pela força, apoio e incentivos prestados.

A minha irmã Diana Schmitz, por estar sempre presente nesta importante fase da minha vida.

Ao meu companheiro Roger Luan Speth, por estar sempre me apoiando, dando forças e incentivo, pela compreensão e palavras de carinho.

Ao orientador Professor Dr. Fernando Henrique Borba, por não medir esforços neste trabalho, pela orientação, confiança, amizade e tempo dedicado.

Ao coorientador Professor Dr. Bruno München Wenzel, pelo auxílio, dedicação e disponibilidade.

Ao professor Diego Ricieri Manenti (*in memoriam*), criador do Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis (PPGATS), por toda dedicação durante sua caminhada conosco.

Aos colegas e amigos Francine Bueno, Natan Kasper, Jonas Inticher e Bianca Antes, por auxiliarem nas análises laboratoriais.

A Isabella Cristina Dall'Oglio, pela realização das análises de atividade antimicrobiana.

Aos amigos Júnior Staudt, Mateus Sausen, Paola Muniz e Professor Fernando Henrique Borba por levarem as amostras ao laboratório da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) para realização de algumas análises.

Aos colegas do PPGATS, pelas alegrias e momentos compartilhados.

A Juliane Wolkmer, pela amizade construída ao longo dos trabalhos experimentais realizados no laboratório.

A Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), seu corpo docente, direção e administração, pela oportunidade de estudo e formação superior.

A equipe técnica dos laboratórios da UFFS, *campus* Cerro Largo, pelo apoio prestado. A UNIOESTE, pela realização de algumas análises experimentais deste trabalho.

A todos que de uma ou de outra forma apoiaram e auxiliaram na realização deste trabalho, meu muito obrigada!

RESUMO

Neste trabalho, o processo UV-C/H₂O₂ foi otimizado por uma metodologia de superfície de resposta (MSR) para a degradação e mineralização de Ciprofloxacina (CIP) em solução aquosa. Os parâmetros operacionais do reator (POR), concentração inicial de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (58,6 - 341,4 mg L⁻¹), pH da solução (3,2 - 8,8) foram investigados em 600 min de tempo de irradiação. Testes actinométricos mostraram que a fonte de irradiação suspensa (UV-C_{254nm}) e os refletores utilizados no módulo experimental do reator UV-C/H₂O₂ apresentaram uma irradiação UV-C incidente de 6,2577 x 10⁻⁹ Einstein L⁻¹ s⁻¹ e comprimento do caminho de 98,5 cm, que podem ser tomados como base para comparação da eficiência do processo. As condições ótimas dos POR foram concentração inicial de 200 mg H₂O₂ L⁻¹ e pH da solução 3,2 atingindo, em tempo de irradiação de 600 min, uma degradação e mineralização de CIP de 97 e 44%, respectivamente. A análise de Cromatografia gasosa - espectrometria de massas (CG-EM) identificou a formação de subprodutos intermediários, como antioxidantes fenólicos e ftalatos. Uma avaliação de genotoxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* mostrou um aumento no índice mitótico (IM) das amostras de CIP tratadas nos tempos de irradiação de 420 e 600 min, respectivamente e indicou uma redução no potencial tóxico e citotóxico deste composto *in natura* no meio aquático. Ao mesmo tempo a realização de testes antimicrobianos apresentou uma inibição do diâmetro de halo, contribuindo para a redução dos efeitos adversos deste contaminante. O processo UV-C/H₂O₂ apresentou bom desempenho na descontaminação de CIP em solução aquosa, sendo sugerido como uma alternativa interessante para redução dos efeitos tóxicos, carcinogênicos e mutagênicos causados pelo descarte inadequado de contaminantes emergentes (CE) em corpos d'água.

Palavras-chave: Ciprofloxacina. Contaminantes emergentes. Processos Oxidativos Avançados. Genotoxicidade. Subprodutos intermediários.

ABSTRACT

In this work, the UV-C/H₂O₂ process was optimized by a response surface methodology (RSM) for degradation and mineralization of Ciprofloxacin (CIP) in aqueous solution. The reactor operation parameters (ROP) initial hydrogen peroxide (H₂O₂) concentration (58.6 - 341.4 mg L⁻¹), solution pH (3.2 - 8.8) were investigated in 600 min irradiation time. Actinometric tests showed that the suspended irradiation source (UV-C_{254nm}) and the reflectors used in the experimental module of the UV-C/H₂O₂ reactor presented an incident UV-C irradiation of 6.2577 x 10⁻⁹ Einstein L⁻¹ s⁻¹ and path length of 98.5 cm, which can be taken as basis for comparison of the process efficiency. The optimal conditions of the ROPs were initial concentration of 200 mg H₂O₂ L⁻¹ and solution pH 3.2 reaching in 600 min irradiation time, presenting a CIP degradation and mineralization of 97 and 44%, respectively. Analysis Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) identified the formation of intermediary byproducts, such as, phenolic antioxidants and phthalates. A genotoxicity evaluation using the bioindicator *Allium cepa* showed an increase in the mitotic index (MI) of the treated CIP samples in irradiation times 420 and 600 min, respectively, indicated a reduction in the toxic and cytotoxic potential of this compound *in natura* in the aquatic environment. At the same time the performance of antimicrobinan tests showed an inhibition of the halo diameter, contributing to the reduction of the adverse effects of this contaminant. The UV-C/H₂O₂ process presented good performance in decontamination of CIP in aqueous solution, being suggested as an interesting alternative for reduction of the toxic, carcinogenic and mutagenic effects caused by the inappropriate disposal of emerging contaminants (EC) in water bodies.

Keywords: Ciprofloxacin. Emerging contaminants. Advanced oxidative processes. Genotoxicity. Intermediary by-products.

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Classificação das quinolonas de acordo com as gerações.	23
Tabela 3.1 - Variáveis utilizadas no planejamento e seus respectivos níveis.	55
Tabela 3.2 - Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).	55
Tabela 4.1 - Valores dos parâmetros físico-químicos obtidos para uma solução contendo 25 mg CIP L ⁻¹	64
Tabela 4.2 - Dados experimentais do DCCR para a degradação e mineralização de CIP.	70
Tabela 4.3 - Teste ANOVA two-way do modelo previsto para a degradação e mineralização de CIP pelo processo UV-C/H ₂ O ₂ em 600 min de irradiação, para um nível de confiança de 95% (p<0,05).	71
Tabela 4.4 - Identificação de subprodutos intermediários formados durante o processo UV-C/H ₂ O ₂ na degradação e mineralização de CIP.	80
Tabela 4.5 - Quantificação do Índice Mitótico (IM) (%) nas células das raízes de Allium cepa expostas a solução de CIP tratada e não tratada pelo processo UV-C/H ₂ O ₂	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Rota dos fármacos no ambiente.	22
Figura 2.2 - Estrutura molecular da Ciprofloxacina.	25
Figura 2.3 - Fração de cada espécie da CIP em função do pH da solução.	27
Figura 2.4 - Espectro UV-vis da CIP em função do pH.	28
Figura 2.5 - Principais tipos de Processos Oxidativos Avançados.	32
Figura 3.1 - Módulo experimental do sistema de irradiação UV-C.	53
Figura 4.1 - Testes actinométricos: (a) reação do Ferrioxalato; (b) fotólise de H ₂ O ₂	65
Figura 4.2 - Testes preliminares do processo UV-C/H ₂ O ₂ na degradação de CIP.	67
Figura 4.3 - Influência da adição única ou contínua da concentração de H ₂ O ₂ , em função do tempo de irradiação. Degradação de CIP (%).	69
Figura 4.4 - Gráficos de Pareto dos efeitos lineares (q_1 e q_2), quadráticos (q_1^2 e q_2^2) e sua interação linear ($q_1.q_2$). Sendo, q_1 a concentração inicial de H ₂ O ₂ e q_2 o pH da solução. (a) Degradação e (b) Mineralização da CIP (%).	72
Figura 4.5 - Correlação entre os valores observados da degradação de CIP (a) e da mineralização de CIP (b) e seus valores correspondentes previstos pelo modelo estatístico proposto para o tratamento da solução pelo processo UV-C/H ₂ O ₂	73
Figura 4.6 - Superfícies de resposta 3D para os dados de (a) degradação e (b) mineralização de CIP (%) pelo processo UV-C/H ₂ O ₂ em 600 min. de irradiação.	74
Figura 4.7 - Perfis da concentração inicial de H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹) e do pH da solução em função de desejabilidade na degradação e mineralização de CIP (%).	75
Figura 4.8 - Dados experimentais da cinética do DCCR do processo UV-C/H ₂ O ₂ na degradação e mineralização de CIP.	76
Figura 4.9 - Dados experimentais da cinética do DCCR do processo UV-C/H ₂ O ₂ na degradação e mineralização de CIP.	78
Figura 4.10 - Aberrações cromossômicas da amostra tratada pelo processo UV-C/H ₂ O ₂ em tempo de irradiação de 60 min. (a) brotos nucleares, (b) c-mitose, (c) núcleos irregulares e brotos nucleares, (d) ponte telófase, (e) apoptose, (f) stickness.	82

Figura 4.11 - Performance do diâmetro do halo de inibição em função do tempo de irradiação para os microrganismos *E. coli* e *S. aureus*. Controle positivo: 25 mg CIP L⁻¹; Controle negativo: água purificada estéril; 1 - 5 min; 2 - 30 min; 3 - 60 min; 4 - 120 min; 5 - 180 min; 6 - 300 min; 7 - 420 min; 8 - 600 min.83

Figura 4.12 - Performance do diâmetro do halo de inibição em função do tempo de irradiação para os microrganismos *E. coli* e *S. aureus*.84

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação (2.1) - Reação de degradação aplicada em POA.....	31
Equação (2.2) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	35
Equação (2.3) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	35
Equação (2.4) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	36
Equação (2.5) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	36
Equação (2.6) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	36
Equação (2.7) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	37
Equação (2.8) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	37
Equação (2.9) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	37
Equação (2.10) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	37
Equação (2.11) - Cálculo do rendimento quântico	40
Equação (2.12) - Cálculo do rendimento quântico	40
Equação (2.13) - Cálculo do rendimento quântico	40
Equação (3.1) - Modelo polinomial de segunda ordem	56
Equação (3.2) - Degradação de CIP.....	56
Equação (3.3) - Mineralização de CIP.....	57
Equação (3.4) - Porcentagem de consumo de H ₂ O ₂	58
Equação (3.5) - Taxa de reação de Beer-Lambert.....	59
Equação (3.6) - Reação de ferrioxalato aplicada em sistema batelada	60
Equação (3.7) - Reação de ferrioxalato aplicada em sistema batelada.....	60
Equação (3.8) - Reação da fotólise de H ₂ O ₂ aplicada em sistema batelada.....	60
Equação (3.9) - Reação da fotólise de H ₂ O ₂ aplicada em sistema batelada.....	60
Equação (3.10) - Determinação do Índice Mitótico.....	62
Equação (4.1) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	68
Equação (4.2) - Mecanismo da reação do processo UV/H ₂ O ₂	68
Equação (4.3) - Modelo ajustado para a degradação de CIP	71
Equação (4.4) - Modelo ajustado para a mineralização de CIP	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA: Análise de Variância

CAS: *Chemical Abstracts Service*

CE: Contaminantes Emergentes

CG-EM: Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetria de Massas

CIP: Ciprofloxacina

COD: Carbono Orgânico Dissolvido

COT: Carbono Orgânico Total

DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DCCR: Delineamento Composto Central Rotacional

DQO: Demanda Química de Oxigênio

EC: Eletrocoagulação

ETE: Estação de Tratamento de Esgoto

FDA: *Food and Drug Administration*

FQ: Fluoroquinolonas

H₂O₂: Peróxido de Hidrogênio

HO₂⁻ : Ânions hidroperoxila

IM: Índice Mitótico

k: Constante da taxa de reação

k_a: Constante de dissociação

k_{obs}: Constante da taxa de degradação

MSR: Metodologia de Superfície de Resposta

nm: nanômetros

OH•: Radical hidroxila

•O₂H: Radical hidroperoxila

OR: Osmose Reversa

POA: Processos Oxidativos Avançados

POR: Parâmetros Operacionais do Reator

USEPA: Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

UV: Radiação Ultravioleta

UV-C: Radiação Ultravioleta emitida em 254 nm

λ_{máx}: Comprimento de onda de máxima absorção

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Objetivo geral.....	18
1.1.2 Objetivos específicos	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES	19
2.2 FÁRMACOS.....	20
2.3 QUINOLONAS E FLUOROQUINOLONAS	23
2.4 CIPROFLOXACINA	25
2.5 PROCESSOS DE TRATAMENTO APLICADOS NA DEGRADAÇÃO DE CIP	28
2.6 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS	30
2.7 PROCESSO UV/H ₂ O ₂	32
2.7.1 Influência da concentração de H ₂ O ₂	35
2.7.2 Influência do pH	36
2.7.3 Influência da fonte de irradiação	38
2.8. ACTINOMETRIA E RENDIMENTO QUÂNTICO.....	39
2.9 COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS	40
2.10 EFEITOS DA GENOTOXICIDADE E TOXICIDADE	41
2.11 GENOTOXICIDADE.....	45
2.12 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	48
3 MATERIAL E MÉTODOS	50
3.1 AMOSTRAS E REAGENTES.....	50
3.2 MATERIAIS DE BIOENSAIOS.....	51
3.3 CURVAS DE CALIBRAÇÃO	52
3.4 FOTOREATOR	52
3.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	54
3.6 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	54
3.7 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	56
3.7.1 Ciprofloxacina	56
3.7.2 Carbono Orgânico Total.....	57
3.7.3 Condutividade Elétrica	57

3.7.4 H ₂ O ₂ residual	58
3.7.5 pH da solução	58
3.8 TESTES DE ACTINOMETRIA	59
3.8.1 Cálculos de actinometria	59
3.8.2 Análises e procedimentos	61
3.9 IDENTIFICAÇÃO DOS SUBPRODUTOS	61
3.10 TESTES DE GENOTOXICIDADE	62
3.11 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	63
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.1 CARACTERIZAÇÃO INICIAL DA SOLUÇÃO DE CIPROFLOXACINA	64
4.2 RESULTADOS DE ACTINOMETRIA	65
4.3 TRATAMENTO DA SOLUÇÃO DE CIP ATRAVÉS DO PROCESSO UV-C/H ₂ O ₂	66
4.3.1 Testes Preliminares	66
4.3.2 Design experimental e análise estatística	69
4.3.3 Avaliação cinética	76
4.4 IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS	79
4.5 TESTES DE GENOTOXICIDADE	81
4.6 PERFORMANCE DA AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA	82
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
REFERÊNCIAS	86
APÊNDICES	111

1 INTRODUÇÃO

Os contaminantes emergentes apresentam riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde humana. Sua presença em recursos hídricos, especialmente em águas superficiais, tornou-se uma questão ambiental relevante, exigindo grandes esforços da comunidade científica na gestão de água potável, águas residuais e sistemas de reutilização de água (PETRIE et al., 2015). Esses contaminantes orgânicos, que são geralmente encontrados em águas residuais municipais e liberados em corpos hídricos após seus tratamentos podem vir de uma grande variedade de fontes, como suprimentos médicos e veterinários, embalagens de alimentos, plastificantes, produtos para cuidados pessoais, drogas ilícitas e pesticidas (PETRIE et al., 2015; MACHADO et al., 2016).

Entre todos os tipos de CE, produtos farmacêuticos, incluindo antibióticos, são uma grande variedade de substâncias orgânicas encontradas em corpos d'água que afetam sistematicamente e progressivamente organismos vivos em todos os compartimentos ambientais, apesar de serem essenciais para o tratamento de doenças humanas e outras aplicações. Por essa e outras razões, os produtos farmacêuticos têm recebido grande preocupação mundial por sua redução nas águas superficiais antes de sua disposição final (BOXALL, 2004). Os efeitos desses compostos no ambiente são cumulativos e ligados a questões como a feminização de peixes machos na vida selvagem, infertilidade e endometriose em humanos, assim como o aumento da incidência de câncer de mama, testicular e próstata, entre outros problemas de saúde (MACHADO et al., 2016; NAIDU et al., 2016). Devido a ter sido associado a uma série de efeitos graves sobre a biota, mais de 200 tipos de fármacos já foram identificados em água doce e águas residuárias, tornando-se uma preocupação ambiental importante (HUGHES et al., 2013).

Em particular, a Ciprofloxacina (CIP), que é um antibiótico do grupo das fluoroquinolonas, é utilizada mundialmente no tratamento de doenças infecciosas humanas e animais (GOOSSENS et al., 2005; ZHANG; HUANG, 2005). A CIP é comumente usada no tratamento de infecções bacterianas urinárias, respiratórias, gastrointestinais, cutâneas, ósseas e articulares em humanos, bem como, para medicação antraz (TAVARES, 1996). Quando os antibióticos são ingeridos pelas pessoas, uma parte deles geralmente não é metabolizada por seus corpos e, portanto, liberada para o meio ambiente através de águas residuais (KÜMMERER et al., 2000;

KÜMMERER, 2009; MASCARELLI, 2010). Apesar das águas residuais serem tratadas por métodos convencionais em sistemas de tratamento urbanos, todos os tipos de fármacos, incluindo a CIP, foram inefetivamente removidos (LAPWORTH et al., 2012; HUGHES et al., 2013; BU et al., 2013).

É notável que a presença de antibióticos em ambientes aquáticos pode causar sérios impactos ecológicos pela inibição da regeneração de nutrientes, ciclo de carbono, degradação microbiana de poluentes ou contaminantes, e outros processos importantes mediados por microrganismos, bem como, problemas de saúde humana, incluindo aumento da resistência de antibióticos a bactérias (MARTINS et al., 2014; MARTI et al., 2014; XIONG et al., 2015).

De modo a remediar um ambiente aquático poluído e reduzir as substâncias orgânicas recalcitrantes, foram propostos novos métodos alternativos mais eficientes para a remoção de fármacos das águas residuais. Entre esses métodos, processos de oxidação eletroquímica (WANG et al., 2016), peroxidação eletroquímica (BUENO et al., 2018), eletro-Fenton (YAHYA et al., 2014), foto-Fenton (PERINI et al., 2013), UV e UV/H₂O₂ (GUO et al., 2013), radiação gama/H₂O (SAYED et al., 2015, 2016), microalga de água doce (XIONG et al., 2017), peroxidissulfato (LIN; WU, 2014), ferrato de potássio (VI) (JIANG et al., 2012), processos sonoro-láticos (HASSANI et al., 2017), fotolíticos e fotocatalíticos (SALMA et al., 2016) têm sido aplicados na remoção e/ou degradação da CIP. Além disso, processos oxidativos avançados (POAs) baseados na geração *in situ* de radical hidroxila (OH•) têm sido aplicados na degradação de poluentes tóxicos, recalcitrantes e de baixa biodegradabilidade (BRILLAS et al., 2009).

No contexto dos POAs, os radicais OH• tem alta reatividade e potencial de oxidação e baixa seletividade de radicais OH•, provocando degradação e mineralização de CE com alta eficiência, bem como convertendo poluentes orgânicos em CO₂, água e íons inorgânicos (OTURAN; AARON, 2014). Em um processo de UV/H₂O₂, os radicais OH• são basicamente obtidos a partir da decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) por fotólise com radiação UV (200 a 300 nm). É notável que a técnica de UV/H₂O₂ mostrou-se potencialmente eficiente na degradação e/ou mineralização de CIP (PERINI et al., 2013; GUO et al., 2013; YAHYA et al., 2014; SAYED et al., 2016). No entanto, ainda faltam informações sobre a identificação de subprodutos formados e sua genotoxicidade no ambiente (RANK; NIELSEN, 1993).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi aplicar e otimizar o processo UV-C/H₂O₂ na degradação e mineralização do fármaco CIP, através de uma metodologia de

superfície de resposta (MSR). Neste sentido, os efeitos da concentração inicial de H_2O_2 (58,6 - 341,4 mg L^{-1}) e pH da solução (3,2 - 8,8) foram investigados na redução da quantidade de CIP no processo de longa duração UV-C/ H_2O_2 (600 min), sendo monitoradas as quantidades residuais de CIP e Carbono Orgânico Total (COT). Adicionalmente, aplicando as melhores condições de processo UV-C/ H_2O_2 , realizou-se a identificação de subprodutos via Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM), análises de genotoxicidade, utilizando o bioindicador *Allium cepa*, bem como, testes antibacterianos com os microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência do processo oxidativo avançado UV-C/H₂O₂ na degradação e mineralização do fármaco Ciprofloxacina (CIP).

1.1.2 Objetivos específicos

Avaliar a influência dos parâmetros operacionais do reator de UV-C/H₂O₂, tais como: pH da solução, concentrações iniciais de H₂O₂ e CIP.

Determinar as melhores condições do processo UV-C/H₂O₂ pela Metodologia de Superfície de Resposta (MSR).

Realizar testes actinométricos para determinação da irradiação UV-C incidente e comprimento do caminho no reator UV-C/H₂O₂.

Identificar compostos intermediários formados na degradação e mineralização da CIP pelo processo UV-C/H₂O₂.

Realizar testes de genotoxicidade com o bioindicador *Allium cepa* das amostras de CIP tratadas e não tratadas pelo processo UV-C/H₂O₂.

Aplicar testes antibacterianos com os microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* para aferir o grau de ação do antibiótico CIP na solução antes e após o tratamento via processo UV-C/H₂O₂.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

De acordo com Silva e Collins (2011), os CE 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, ou ainda qualquer microorganismo, que podem ser encontrados em matrizes ambientais e biológicas. Estes não são usualmente monitorados ou ainda não possuem legislação regulatória correspondente, mas apresentam risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente.

Outra definição, com um enfoque maior nas possíveis legislações pertinentes, é dada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA). Segundo a USEPA (2015), os CE são poluentes (bióticos e abióticos) que, atualmente, não são incluídos em programas de monitoramento e que podem se tornar candidatos para legislações futuras dependendo de pesquisas sobre (eco) toxicidade, efeitos sobre a saúde, percepção pelo público e dados sobre sua ocorrência em vários compartimentos ambientais.

Atualmente esses compostos vêm sendo estudados por inúmeros pesquisadores devido a sua detecção em águas superficiais e subterrâneas, bem como na água potável (MACHADO et al., 2016).

Os CE podem derivar de uma fonte conhecida, por exemplo, liberada para o meio aquático de descargas diretas, como as de estações de tratamento de águas residuais. Embora, na maioria dos casos, a fonte direta não pode ser identificada, os CE são detectados no ambiente natural de praticamente todos os países e, como consequência, representam um problema global. A falta de informações sobre o destino e o transporte de tais produtos químicos novos, incluindo suas potencialidades de toxicidade para os receptores, dificultam as agências reguladoras a desenvolver políticas que possam auxiliar sua gestão no meio ambiente. Não se sabe se os CE interagem uns com os outros, ou com vários contaminantes (NAIDU et al., 2016).

Em um estudo realizado por Machado et al. (2016), em 22 capitais brasileiras, onde foram coletadas amostras de água potável, foram identificados a presença de dois principais compostos, sendo a atrazina (herbicida usado na agricultura) e a

caféina. Estes resultados mostram que a presença de CE na água tratada é uma realidade no Brasil e revelam deficiências no saneamento e no tratamento de água.

A presença de CE em águas superficiais tem sido recorrente, porque esses corpos d'água recebem a maior parte dos poluentes liberados para o meio ambiente. Fontes possíveis incluem deposição atmosférica, lixiviação de compostos a partir do solo, drenagem de águas pluviais em áreas rurais e urbanas, entre outros (SUMPTER, 2005). No entanto, a descarga de esgoto bruto e tratado tem sido apontada como a principal fonte de contaminantes nas águas superficiais (GOMÉZ et al., 2006; ORT et al., 2010). Isso ocorre porque muitos poluentes não são completamente eliminados pelos processos atuais comumente empregadas em sistemas de tratamento de água e de esgoto.

De acordo com Naidu et al. (2016), as concentrações utilizadas para testar os efeitos tóxicos são consideravelmente maiores que as encontradas nos CE no meio ambiente, sugerindo que os resultados observados podem não ocorrer em concentrações ambientais. Além disso, os efeitos sutis sobre sistemas aquáticos e organismos terrestres (uma vez que muitos animais inferiores possuem sistemas receptores semelhantes aos humanos e animais superiores) podem ser causados por CE, mas ainda não são detectados por testes de toxicidade padrão. No caso de medicamentos humanos, que são liberados no meio ambiente continuamente, os organismos serão expostos por períodos mais longos aos utilizados no teste padrão e, como resultado, os efeitos relatados podem variar.

De acordo com Naidu e Wong (2013), existem lacunas críticas de conhecimento, tais como: i) Falta de materiais de referência certificados e métodos analíticos precisos para identificar CE; ii) Falta de limites ambientais e de saúde humana para CE; e iii) Conhecimento insuficiente sobre os impactos de longo prazo (crônicos) sobre a saúde, de CE.

2.2 FÁRMACOS

De acordo com a Portaria nº 3961 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998), define-se fármaco como a substância principal na formulação do medicamento, responsável pelo efeito terapêutico. É um composto químico obtido por extração, purificação, síntese ou semi-síntese.

Os fármacos são de fundamental importância, sendo utilizados no combate a diversas enfermidades, além de atuar no prolongamento da longevidade humana (UEDA, 2009). São produzidos na escala de toneladas ao ano e aplicados tanto na medicina humana, como veterinária (BILA; DEZOTTI, 2003).

Na maioria das vezes, a produção exata não é publicada na literatura. Em um estudo realizado por Giger (2002) foram registradas 100.000 substâncias químicas diferentes na União Europeia, das quais 30.000 são produtos comercializados em quantidades superiores a 1 tonelada. Entre eles, estão os compostos farmacêuticos, utilizados para consumo humano, como analgésicos, anti-inflamatórios, preservativos, antibióticos, β -bloqueadores e reguladores de lipídios (FENT et al., 2006).

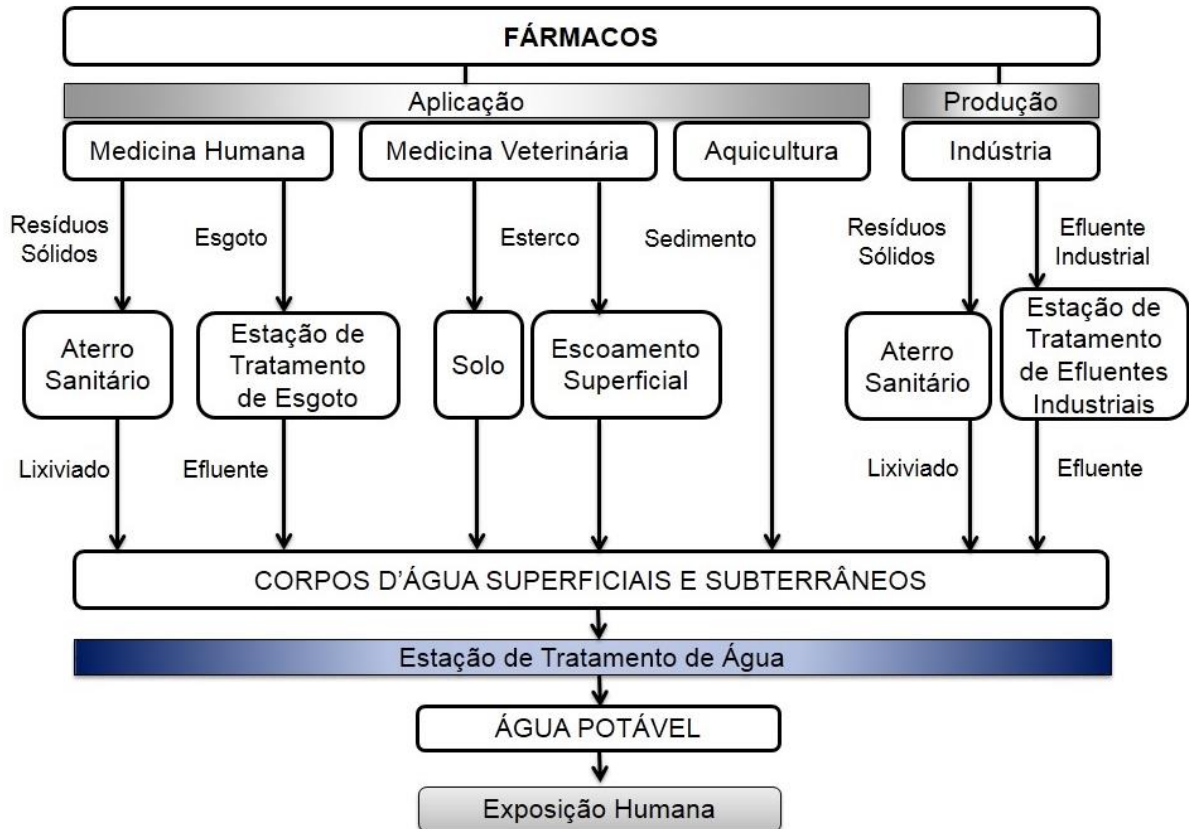
Os fármacos são desenvolvidos para serem persistentes, mantendo suas propriedades químicas o bastante para servir a um propósito terapêutico (BILA; DEZOTTI, 2003). Após o seu uso, quando em contato com o organismo, liberam o princípio ativo responsável por agir no local do tratamento. Parte acaba não reagindo, sendo excretado via fezes/urina no esgoto doméstico. De acordo com Mulroy (2001), 50% a 90% de uma dosagem do fármaco é excretado inalterado e persiste no meio ambiente.

Uma vez liberados para o ambiente, os produtos farmacêuticos serão transportados e distribuídos para o ar, água, solo ou sedimento. Uma série de fatores, como as propriedades físico-químicas do composto e as características do ambiente receptor, afetarão sua distribuição. O grau em que um produto farmacêutico é transportado entre os diferentes meios ambientais depende principalmente do comportamento de sorção da substância em solos, sistemas de sedimentação e plantas de tratamento, que variam muito em produtos farmacêuticos (BOXALL, 2004).

Os fármacos são considerados contaminantes ambientais devido suas moléculas serem biologicamente ativas. Além disso, a grande maioria deles possui características lipofílicas e frequentemente apresenta baixa biodegradabilidade. Estas propriedades intrínsecas apresentam um grande potencial para bioacumulação e persistência no ambiente (CHRISTENSEN, 1998). De acordo com Halling-Sorensen et al. (1998), 30% de todos os fármacos desenvolvidos são lipofílicos (hidrossolubilidade < 10%), sedimentando-se em ambientes aquáticos ou transferindo-se para a fase biótica.

Investigações sobre a contaminação de diferentes ambientes aquáticos por fármacos residuais revelam que esses contaminantes estão presentes em faixas de concentrações de $\mu\text{g/L}$ e ng/L (BILA; DEZOTTI, 2003).

Pouco se conhece sobre as rotas dos fármacos no meio ambiente. A Figura 2.1 apresenta um esquema que sugere possíveis caminhos para os fármacos, quando descartados.



Fonte: Adaptado de BILA; DEZOTTI, 2003.
 Figura 2.1 - Rota dos fármacos no ambiente.

De maneira que seja possível identificar as possíveis rotas de exposição no meio ambiente, é necessário dividir as substâncias quanto ao seu uso (tratamento humano ou tratamento veterinário), visto que o local de aplicação e as rotas tomadas após a excreção das substâncias são diferentes de um grupo para outro.

Fármacos de uso humano, normalmente atingem as Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) através das fezes e urina. A partir de então a destinação do fármaco pode ser dada de diferentes formas, sendo uma, a mineralização de compostos. Comumente, os fármacos são persistentes nas ETE, o que implica que parte da substância seja retida no lodo. Se este lodo for utilizado como adubo, esta substância

alcançará o solo. Espécies que apresentam mobilidade no solo podem contaminar lençóis freáticos ou águas superficiais. Se o composto possuir baixa capacidade de se ligar a lodos, sedimentos e solos, não são retidas, nem degradadas em ETE, alcançando rapidamente ambientes aquáticos (SOUZA, 2016).

Além disso, os antibióticos são usados como promotores de crescimento na produção de gado, na produção avícola e são intensivamente usados como aditivos de alimento de peixe na aquicultura. Sendo assim, podem contaminar o solo, águas de subsolo e superficiais (AMÉRICO et al., 2013).

Outra fonte de contaminação ambiental que tem sido observada é consequente da disposição de resíduos provenientes de indústrias farmacêuticas em aterros sanitários, contaminando as águas de subsolo nos arredores do aterro (BILA; DEZOTTI, 2003).

2.3 QUINOLONAS E FLUOROQUINOLONAS

Os antibióticos são substâncias químicas naturais ou sintéticas, utilizados no combate de microrganismos patogênicos. Seu consumo anual é estimado entre 100.000 e 200.000 toneladas, dos quais 50 a 75% são utilizados na medicina veterinária (BARAN et al., 2011).

Entre os antibióticos, destacam-se as quinolonas, que são divididas em famílias, classificadas em quatro gerações, conforme apresentado na Tabela 2.1. Cada uma, em ordem crescente de geração, apresenta maior ação antimicrobiana e atividade bactericida, além de diferentes propriedades farmacológicas (SOUZA et al., 2016).

Tabela 2.1 - Classificação das quinolonas de acordo com as gerações.

Quinolonas	Componentes	Microrganismos combatidos	Indicações
1ª geração	Ácido Nalidixíco Ácido Oxolínico	Enterobactérias	Infecções urinárias
2ª geração	Ácido Pipemídico Cinoxacina	Pseudomonas	Infecções urinárias, respiratórias, gastrointestinais, ginecológicas, oculares.
3ª geração	Ciprofloxacina Norfloxacina	Bactérias Gram (+) e Gram (-)	Pneumonia, bronquite, infecções urinárias, gastrointestinais.
4ª geração	Moxifloxacina Gatifloxacina	Bactérias Gram (+) e Gram (-)	Todas as indicações anteriores.

Fonte: Adaptado de SOUZA et al., 2016.

Por meio da síntese de cloroquina, foram descobertas em 1962, as quinolonas da primeira geração, sendo logo após as de segunda geração. Como os compostos pertencentes a estas famílias não eram capazes de alcançar níveis antibacterianos eficientes, foram utilizados somente como antissépticos urinários. Devido a necessidade de obter antibióticos com maior potencial, o flúor foi incorporado aos antibióticos já existentes. A fluoração destes compostos resultou nas fluoroquinolonas, a 3ª geração das quinolonas, dentre as quais encontram-se a norfloxacin, a CIP e a enrofloxacin. Estas apresentam atividade antibacteriana muito maior, possuem menor toxicidade e atingem níveis bactericidas no sangue e nos tecidos. São agentes bactericidas extremamente úteis, principalmente pelo seu potencial de ação e por apresentar boa absorção oral (SOUZA et al., 2016).

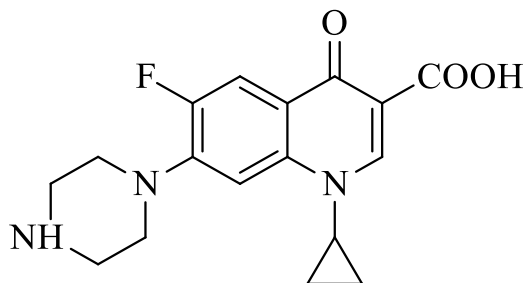
As fluoroquinolonas são um grupo de compostos sintéticos derivados do ácido nalidíxico e têm atividade antimicrobiana. São amplamente utilizadas em medicina humana e veterinária, sendo considerados recursos importantes contra organismos Gram-negativos e Gram-positivos, sendo as últimas gerações desses agentes antimicrobianos ativos contra bactérias anaeróbias (SILVA; HOLLENBACH, 2010). Além disso, são potentes antibióticos sintéticos utilizados no tratamento de problemas do trato urinário, gastrointestinal e infecções da pele (MARKMAN et al., 2005).

Fluoroquinolonas não são facilmente biodegradáveis. Lindberg et al. (2006), relataram que mais de 70% de CIP e norfloxacin, tratadas através de tratamento biológico, ficaram adsorvidos no lodo. Isso indica que o lodo é o principal reservatório de fluoroquinolonas, e que estes antibióticos são potencialmente liberados para o ambiente quando os lodos tem sido aplicados na agricultura (CARDOZA et al., 2005; BELDEN et al., 2007).

A discussão sobre a importância da remoção de antibióticos a partir de sistemas de tratamento de águas residuais resulta do fato de que eles promovem resistência bacteriana. Os genes de resistência antimicrobiana podem rapidamente se mover através de populações bacterianas e emergir nas bactérias patogênicas através de transferência genética horizontal (WRIGHT, 2012).

2.4 CIPROFLOXACINA

A CIP é um medicamento desenvolvido pela empresa BAYER AG na Alemanha. Possui massa molecular de $331,4 \text{ g mol}^{-1}$ e fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$ (Figura 2.2). Faz parte do grupo da terceira geração das quinolonas, as fluoroquinolonas, sendo amplamente utilizada no tratamento de infecções urinárias, respiratórias, gastrintestinais e infecções da pele, ossos e articulações (PATRICK, 1995; TAVARES, 1996). Seu nome químico é, de acordo com a IUPAC, ácido 1-ciclopropil-6-flúor-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolona carboxílico. O cloridrato de ciprofloxacina (CIP (HCl)), sal encontrado para a CIP, tem registro no *Chemical Abstracts Service* (CAS) com o número 86393-32-0, NCM 2933.5919, DCI 5446 e DCB 1463-02-0. É descrito como um pó cristalino amarelo claro, ligeiramente higroscópico. Sua fórmula empírica é $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ e sua massa molecular é de $385,5 \text{ g mol}^{-1}$. A CIP (HCl) é solúvel em água, levemente solúvel em metanol, muito pouco solúvel em etanol e praticamente insolúvel em acetona, diclorometano e em acetato de etila (PATRICK, 1995).



Fonte: Adaptado de ZHANG et al., 2011.

Figura 2.2 - Estrutura molecular da Ciprofloxacina.

O fármaco tem propriedades antibacterianas e é um inibidor de síntese de ácido nucleico. A Bayer AG patenteou pela primeira vez a droga em 1983 e foi aprovada em 1987 pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos. Desde a aprovação pela FDA, a CIP tem sido empregada tanto como tratamento, como profilaxia contra infecções graves, bem como medicação antraz (DODD-BUTERA; BRODERICK, 2014).

De acordo com Rocha et al. (2011), a CIP é utilizada no tratamento de infecções de uma vasta gama de microorganismos gram-positivos e gram-negativos aeróbios. É usada em infecções respiratórias selecionadas, infecções do trato urinário, febre

tifoide, algumas doenças sexualmente transmissíveis e septicemia. É eficaz contra os organismos que podem contribuir para a diarreia infecciosa, tais como *Escherichia coli* (estirpes enterotoxigênicas), *Campylobacter jejuni* e estirpes selecionadas de *Shigella*; e é utilizada quando a terapia antibacteriana é clinicamente indicada. A CIP também tem sido usada como agente secundário no tratamento da tuberculose.

Após a administração oral, a CIP é absorvida a partir do trato gastrointestinal, distribuída nos tecidos e excretada na urina, bile e fezes, em altas concentrações (ROCHA et al., 2011). A biodisponibilidade oral do fármaco é de 50 a 85% em adultos saudáveis em jejum, com concentrações séricas máximas atingidas em 0,5 a 2 h. A meia-vida de eliminação do soro de CIP em adultos com função renal normal é de aproximadamente 3 a 5 h (DODD-BUTERA; BRODERICK, 2014).

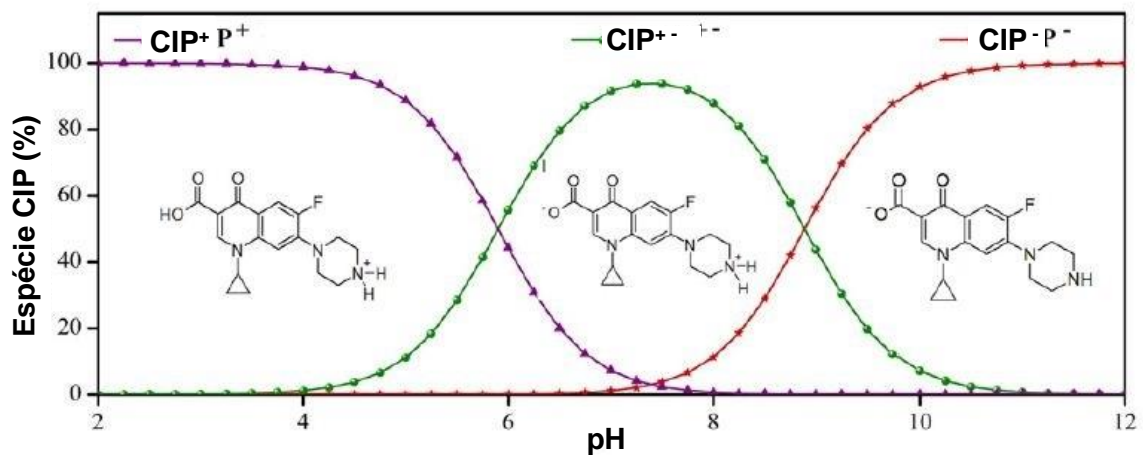
Na primeira pesquisa nacional de reconhecimento de contaminantes orgânicos emergentes, o Serviço Geológico dos Estados Unidos, considerou a CIP como uma das fluoroquinolonas mais frequentemente encontradas no meio ambiente (KOLPIN et al., 2002). De acordo com Dodd-Butera e Broderick (2014), a CIP foi detectada em estações de tratamento de efluentes e em efluentes hospitalares. O fármaco não é facilmente biodegradável e, se liberado na água, espera-se adsorver ao solo e aos sedimentos. Soluções aquosas podem fotolizar na luz solar. Se liberada para o ar, espera-se que a CIP permaneça na fase de partículas na atmosfera.

A molécula de CIP apresenta dois grupos cromóforos: uma amina e um grupo carboxílico (JIANG et al., 2013). Ou seja, ela possui dois sítios protonados que determinam suas constantes de dissociação (pK_a). O primeiro sítio corresponde ao grupo do ácido carboxílico com $pK_{a1} = 6,09$ e o segundo sítio corresponde a um grupo básico da amina secundária com $pK_{a2} = 8,80$ (JALIL et al., 2015).

Sendo assim, a solubilidade da CIP pode variar em função do pH da solução. Conforme é apresentado na Figura 2.3, valores de solubilidade mais baixos são obtidos na região de pH próxima a 7,5. Isso ocorre devido à molécula apresentar três espécies diferentes nesta gama de pH, entre 5,9 (pK_{a1}) e 8,89 (pK_{a2}), sendo a espécie anfotérica (zwitteriônica) a menos solúvel devido a sua carga neutra (JALIL et al., 2015).

Nos valores de pH em meio ácido, o grupo carboxílico e a amina presentes na molécula de CIP apresentam-se protonados, mantendo-se com carga positiva (CIP⁺), sendo que seu percentual diminui gradativamente do pH 3 ao 5,9. Da mesma forma, em pHs mais elevados, normalmente acima de 8,5 a 9,0, os mesmos grupos

apresentam-se desprotonados, mantendo a molécula com carga negativa (CIP⁻). Ou seja, quando mantida a pHs extremos, a CIP é bastante solúvel em meio aquoso. Em pHs intermediários (próximos a neutralidade), a CIP se mantém na sua forma zwitteriônica, com carga total igual a 0. Portanto, a CIP é mais solúvel quando a sua molécula se comporta como um íon (cátion ou ânion), o que só ocorre a um valor de pH diferente de 7,5 (JALIL *et al.*, 2015).

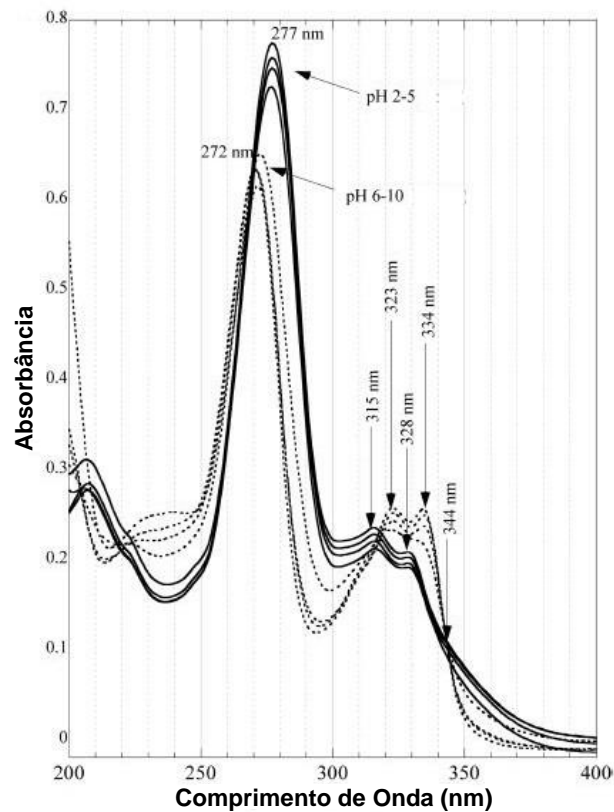


Fonte: Adaptado de JALIL *et al.*, 2015.

Figura 2.3 - Fração de cada espécie da CIP em função do pH da solução.

Logo, pode-se perceber que o pH da solução tem influência sobre os valores de absorvância no comprimento de onda de máxima absorção. Trivedi e Vasudevan (2007) avaliaram amplas faixas de pH e perceberam que entre os pHs 2 e 5 e entre os pHs 6 e 10 há um deslocamento do pico de maior absorção da CIP, variando de 277 a 272 nm, respectivamente, conforme apresentado na Figura 2.4.

Portanto, o pH pode desempenhar um papel importante para o mecanismo de eliminação dos produtos farmacêuticos no meio ambiente. No que diz respeito à fotólise, as diferentes espécies podem ter várias vias de degradação fotolítica, produtos de transformação e cinética de degradação baseada em diferentes mecanismos. Em um estudo realizado por Salma *et al.* (2016), foi observado que a modificação do pH leva a mudanças estruturais que podem aumentar ou dificultar a degradação da CIP, neste caso avaliados por fotólise direta através de radiação UV e fotocatalise UV/TiO₂.



Fonte: Adaptado de Trivedi e Vasudevan, 2007.

Figura 2.4 - Espectro UV-vis da CIP em função do pH.

2.5 PROCESSOS DE TRATAMENTO APLICADOS NA DEGRADAÇÃO DE CIP

Diversos processos de tratamento são atualmente utilizados na remoção e degradação do fármaco CIP. Dentre eles destacam-se processos físicos, processos de oxidação avançada, processos biológicos, dentre outros. Na literatura, aplicações dos mais variados processos são relatadas.

Gupta e Garg (2018) aplicaram o processo de oxidação Fenton na degradação da CIP. As melhores condições experimentais foram reportadas em uma razão estequiométrica de 1:10 ($[H_2O_2]:[Fe^{2+}]$), considerando uma concentração inicial de 14,2 mM de H_2O_2 e pH inicial da solução 3, alcançando uma eficiência de degradação da CIP e mineralização do Carbono Orgânico Total (COT) de 70 e 55%, respectivamente.

Perini et al. (2018), avaliaram o processo foto-Fenton assistido com UV-C (comprimento de onda na faixa de 100-280 nm) aplicado a águas residuais hospitalares que foram submetidas a tratamento anaeróbico. Foram utilizadas

concentrações de ferro ($10 \mu\text{M}$: $0,56 \text{ mg L}^{-1}$) e H_2O_2 ($500 \mu\text{M}$: 17 mg L^{-1}) ao pH natural do efluente (pH $\approx 7,4$). O ácido cítrico foi utilizado como agente de complexação, com uma proporção de 1:1, para manter Fe^{3+} solúvel a este pH. O processo anaeróbio reduziu quantitativamente a demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5), a demanda química de oxigênio (DQO) e o COT, com baixa remoção de antibióticos. A degradação dos antibióticos foi estudada com CIP, amoxicilina, sulfatiazol e sulfametazina, utilizando o efluente anaeróbio em concentrações iniciais de $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Os antibióticos foram eficientemente degradados (80-95%) usando radiação UV-C isoladamente, embora sob essa condição, não houve remoção de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) observado após 90 min. Adições de H_2O_2 e citrato de ferro aumentaram a constante de taxa de degradação (k_{obs}) e 8% de COD foi removido. Um pH mais baixo resultou em k_{obs} maiores, embora isso não fosse essencial para a aplicação do processo foto-Fenton. A irradiação com uma lâmpada germicida resultou em maior degradação dos antibióticos, em comparação com o uso de uma lâmpada de luz negra ou luz solar, uma vez que a degradação geral foi influenciada pela fotólise dos antibióticos, UV/ H_2O_2 e a reação de Fenton. O processo foto-Fenton sob UV-A e radiação solar reduziu coliformes totais e *Escherichia coli* após 90 min. No entanto, a desinfecção quantitativa destas bactérias presentes no efluente hospitalar só foi realizada sob radiação UV-C.

Mondal et al. (2018), investigaram a degradação de CIP utilizando vários processos de oxidação avançada, tais como UV, H_2O_2 , UV/ H_2O_2 , Fenton modificado (nZVI/ H_2O_2) e foto-Fenton modificado estudado a pH quase neutro. A fotólise direta (UV) resultou em 60% de degradação com 4% de remoção do COT em 120 min. O H_2O_2 resultou em 40% de remoção de CIP em 100 min. No entanto, diferentes combinações de partículas de ferro com UV, H_2O_2 e nano zero (nZVI) resultaram em eficiência de remoção de 100% em 30 e 40 min. com maior mineralização. O estudo da metodologia de superfície de resposta (MSR) mostra que uma relação nZVI: H_2O_2 de 5:1 permite obter uma remoção de 99,30% em 120 min., reduzindo assim o uso de H_2O_2 . A combinação otimizada na presença de luz UV resultou em 100% de degradação em 25 minutos.

Alonso et al. (2018), utilizaram o processo de separação por membranas, osmose reversa (OR) para a remoção do antibiótico CIP presente na água do mar. Nos testes realizados foi utilizada água de alta força iônica. Os experimentos foram realizados sob condições de pressão constante, empregando água do mar sintética

em uma unidade de escala piloto como uma membrana comercial de OR enrolada em espiral. Os resultados são mostrados em termos de seletividade do processo de OR para remoção de antibiótico. O elemento de membrana de OR rejeita com sucesso a maior parte de CIP (taxa de remoção >90%), com valor máximo de rejeição de 99,96%.

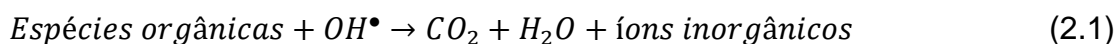
Li et al. (2018), aplicaram o processo de adsorção na remoção de CIP de soluções aquosas, através de um biocarvão obtido a partir de folhas de chá usadas. Experimentos em batelada foram conduzidos para investigar o desempenho e mecanismo de adsorção de CIP. Os resultados mostraram que a capacidade de adsorção de CIP primeiro aumentou e depois diminuiu, à medida que a temperatura de pirólise do biocarvão aumentou. O biocarvão obtido a 450°C apresentou excelente capacidade de absorção de CIP em pH 6 e 40°C. A capacidade máxima de adsorção em monocamada foi de 238,10 mg g⁻¹ com base no modelo isotérmico de Langmuir. A análise de caracterização revelou que os grupos -OH, ligações C=C de anéis aromáticos, grupos C-H em anéis aromáticos e ligações fenólicas C-O desempenham papéis vitais no processo de adsorção de CIP, e que os grupos N-C, N-O, O-C=O e C-OH do biocarvão foram consumidos em grandes quantidades. As interações π - π , ligação de hidrogênio e atração eletrostática são inferidas como os principais mecanismos de adsorção.

2.6 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Entre as tecnologias de tratamento de água e efluentes empregadas até o momento, os processos oxidativos avançados (POAs) apresentam grande potencial para o tratamento de uma ampla gama de CE (KANAKARAJU et al., 2018). Sua aplicação é uma opção atrativa, pois permite a remoção de compostos não biodegradáveis/tóxicos e a inativação de uma ampla série de microorganismos.

Os POAs são baseados na geração de radicais hidroxila (OH^{*}) de reações envolvendo oxidantes como peróxido de hidrogênio ou ozônio, irradiação UV-vis e catalisadores, incluindo íons metálicos ou semicondutores (PERINI et al., 2018). São processos limpos e não seletivos podendo degradar inúmeros compostos. Podem ser utilizados para destruir compostos orgânicos tanto em fase aquosa, como em fase gasosa ou adsorvidos numa matriz sólida (TEIXEIRA; JARDIM, 2004; BETHI et al., 2016).

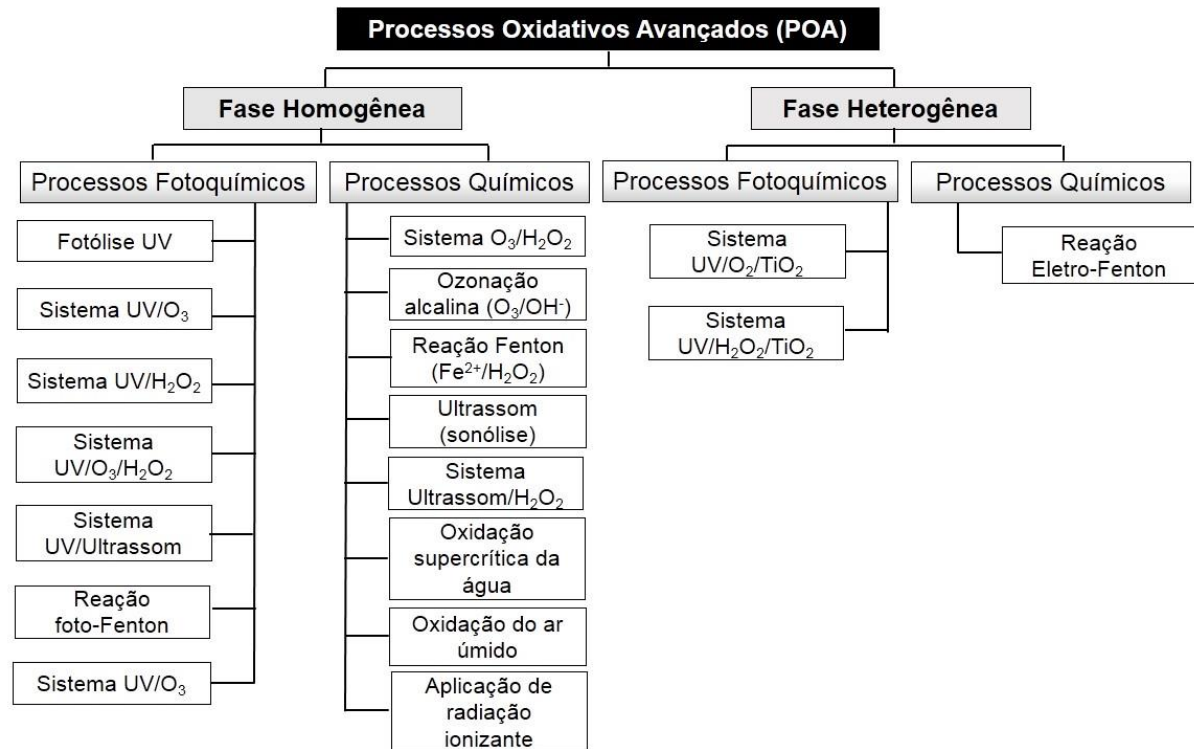
Estes processos transformam a grande maioria dos contaminantes orgânicos, produzindo compostos mais curtos e simples, ou no caso de mineralização completa, em dióxido de carbono (CO₂), água (H₂O) e íons inorgânicos, através de reações de degradação que envolvem espécies transitórias oxidantes, principalmente os radicais hidroxila (OH•) (SHAHIDI et al., 2015), conforme descrito na Equação 2.1 (POYATOS et al., 2010; SHAHIDI et al., 2015; AMETA et al., 2013).



O OH• tem alta oxidação ou potencial de redução padrão (2,8 V), superior aos radicais de sulfato, cloro, permanganato, ânion persulfato, peróxido de hidrogênio e ozônio (O₃), apenas com menor valor que o flúor (3,03 V). As principais características do OH• são de curta duração, simples obtenção, oxidantes poderosos, comportamento eletrofílico, de natureza ubíqua, altamente reativas e praticamente não seletivas (MOTA et al., 2008; SHAHIDI et al., 2015).

Existem quatro mecanismos de reação do radical OH•, que são adição, transferência de átomos de hidrogênio, transferência de elétrons e interação radicalar (AMETA et al., 2013). Os compostos contendo ligações duplas de carbono em sua estrutura são mais reativos em relação ao ataque de OH• que as moléculas saturadas. Além disso, a reatividade em relação aos compostos oxidativos diminui com a diminuição do peso molecular e o aumento do nível de oxidação (SHAHIDI et al., 2015). No entanto, a degradação dos compostos orgânicos pode ser influenciada pela variação da constante da taxa de reação (k). Em valores de pH básico, os valores da k podem diminuir significativamente devido à presença de íons de carbonato e bicarbonato, que atuam como eliminadores (MOTA et al., 2008). Esses íons reagirão com o OH• diminuindo a quantidade de OH• disponível para degradar os compostos orgânicos e, portanto, diminuir os valores de k.

Diversos são os sistemas de POAs, podendo ser classificados como homogêneos ou heterogêneos. Os heterogêneos se diferem dos homogêneos devido à presença de catalisadores semicondutores em sua forma sólida (TEIXEIRA; JARDIM, 2004), conforme apresentados na Figura 2.5 (BIÑ; SOBERA-MADEJ, 2012; TROJANOVICZ et al., 2018).



Fonte: Adaptado de BIÑ; SOBERA-MADEJ, 2012; TROJANOVICZ et al., 2018.

Figura 2.5 - Principais tipos de Processos Oxidativos Avançados.

Os POAs oferecem diversas vantagens em relação aos métodos convencionais (MOTA et al., 2008; DEZOTTI, 2008; POYATOS et al., 2010; AMETA et al., 2013): i) além de realizar a transformação de compostos orgânicos em compostos mais simples ou para CO_2 e H_2O , não geram lodo, descartando a necessidade de outro estágio de tratamento; ii) são úteis para o tratamento de poluentes refratários resistentes a outros tratamentos como, tecnologias biológicas; iii) possuem capacidade de tratar efluentes com cargas orgânicas muito baixas (em ppb) e que contêm compostos orgânicos dissolvidos difíceis de remover; iv) tem forte poder oxidante, com cinética de reação elevada; v) decomposição dos reagentes utilizados como oxidantes em produtos de menor impacto ao meio ambiente; vi) condições operacionais de temperatura e pressão ambiente.

2.7 PROCESSO UV/ H_2O_2

O processo oxidativo avançado UV/ H_2O_2 parte do princípio da obtenção de radicais hidroxila (OH^\bullet) a partir da decomposição do oxidante peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela ação da radiação ultravioleta (254 nm) (FREIRE et al., 2000), que podem

degradar rápida e não seletivamente uma ampla gama de contaminantes orgânicos (LOPEZ et al., 2003; LIN et al., 2016).

O mecanismo mais comumente aceito para a fotólise de H_2O_2 com UV (200 a 300 nm) é a quebra da molécula em radicais hidroxila com um rendimento de dois OH^\bullet para cada molécula de H_2O_2 , sendo que também pode existir a possibilidade de recombinação desses radicais transformando-se em H_2O_2 (HUANG et al., 1993; LEGRINI et al., 1993; HERNANDEZ et al., 2002).

O processo UV/ H_2O_2 possui várias vantagens: (i) é aplicável a uma ampla gama de poluentes; (ii) não há formação de lodo durante o tratamento; e (iii) pode ser realizada em condições ambientais (MURUGANANDHAM; SWAMINATHAN, 2004; SANTOS et al., 2015). Embora o processo UV/ H_2O_2 tenha provado ser eficaz para o tratamento de uma ampla gama de poluentes orgânicos (VILHUNEN et al., 2010), raramente é aplicado para o tratamento de poluentes inorgânicos.

Aplicações do processo UV/ H_2O_2 em outras matrizes tóxicas também são relatadas. Lin et al. (2016), estudaram a eficácia do processo UV/ H_2O_2 na degradação de ofloxacina em solução aquosa usando um foto-reator grande. Foram investigados os efeitos do comprimento de onda UV, dosagem de H_2O_2 e pH na eficiência de degradação da ofloxacina. O processo UV/ H_2O_2 exibiu cinética de pseudo-primeira ordem. O valor de k em UV-254 nm era 10,3 vezes superior a UV-365 nm a uma dosagem de H_2O_2 de $0,07 \text{ g L}^{-1}$ e pH 3. O valor de k a pH 3 foi 12,7 vezes superior ao pH 11 quando a dosagem de H_2O_2 era de $0,47 \text{ g L}^{-1}$. Uma maior dosagem de H_2O_2 foi associada a uma maior eficiência de degradação da ofloxacina. Contudo, uma dosagem excessiva de H_2O_2 inibiu a degradação da ofloxacina. A eficiência de degradação da ofloxacina foi de 97% em 30 min a pH 3 utilizando uma dosagem de H_2O_2 de $0,27 \text{ g L}^{-1}$ sob UV-254 nm. Nas mesmas condições, a eficiência de mineralização da ofloxacina foi de 89% após 180 min.

Afonso-Olivares et al. (2016), investigaram a eficiência de UV e UV/ H_2O_2 para degradar vinte e três compostos farmacêuticos presentes no efluente secundário microfiltrado de uma estação de tratamento de águas residuais urbanas. A constante cinética aparente e as doses de UV necessárias para a remoção efetiva dos compostos estudados foram calculadas usando um reator fotoquímico com capacidade de 25 litros e uma irradiação de $15,47 \text{ W m}^{-2}$. Foi determinada uma dosagem ótima de $20 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$. Os compostos anti-inflamatórios, como o metamizol, o diclofenaco e o cetoprofeno, foram principalmente removidos por fotólise.

A cafeína e seu metabólito paraxantina foram os compostos que apresentaram maior resistência à oxidação por radicais hidroxila gerados nesse processo. A CIP, o diclofenaco, o cetoprofeno e o metamizol foram degradados com doses UV inferiores a 100 mJ cm^{-2} . No entanto, doses UV de 2369 e 4318 mJ cm^{-2} foram necessárias para reduzir a quantidade de cafeína e seu metabólito paraxantina para um décimo dos valores iniciais. A mineralização do carbono orgânico e a absorvância a 254 nm da água reciclada também foram monitoradas. Embora nenhuma alteração na concentração de COD tenha sido observada após o tratamento com UV/H₂O₂, a absorvância de UV a 254 nm diminuiu 43%.

Liao et al. (2016) avaliaram a decomposição de Sulfaquinoxalina de sódio (SQ-Na) (amplamente utilizada para prevenir a coccidiose em aves de capoeira, suínos e ovelhas), em soluções aquosas no processo de oxidação UV/H₂O₂. Os resultados mostram que a SQ-Na foi completamente decomposta durante o processo de oxidação UV/H₂O₂, sendo que o processo ajustado em um modelo cinético de pseudo-primeira ordem baseado em fluência quando a concentração inicial de H₂O₂ variou de 0 a 160 mg L^{-1} com a $k_{\text{obs}} = 0.802 \times [\text{H}_2\text{O}_2] + 0,206 \times 10^{-3}$, ($R^2 = 0,990$). A decomposição de SQ-Na através do processo UV/H₂O₂ foi favorável em condições ácidas e neutras, mas foi inibida em condições alcalinas fortes ($\text{pH} \geq 11$). A presença de íons de bicarbonato, cloreto e nitrato demonstrou uma ligeira inibição na decomposição, mas os ácidos húmicos diminuíram significativamente a taxa de decomposição. Em comparação com a água deionizada, a taxa de decomposição de SQ-Na em águas superficiais e efluentes das estações de tratamento de águas residuais diminuiu significativamente em 80 mg L^{-1} de H₂O₂, mas a diminuição foi mitigada com mais adição de H₂O₂.

Parquer et al. (2017), analisaram o uso do processo UV/H₂O₂ para o tratamento de inseticidas organofosforados (contaminantes comuns de água potável), acoplando ferramentas biológicas e analíticas para seguir a redução da concentração dos compostos alvo. Foram explorados quatro inseticidas para o tratamento avançado de oxidação: acefato, dicrotofos, fenamifos e metamidofos. Todos os quatro compostos reagiram rapidamente com o radical OH•, reagindo com constantes de taxa de segundo grau $\geq 5.5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Foram estudados três principais parâmetros de toxicidade: estrogenicidade, genotoxicidade (mutagenicidade) e neurotoxicidade. Nenhum dos compostos alvo apresentou atividade estrogênica, enquanto todos os compostos apresentaram uma resposta genotóxica (mutagênica) ativa (ensaio AMES

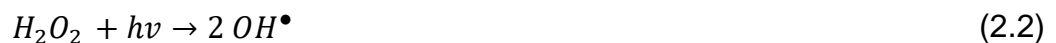
II) e a maioria dos compostos possui algum nível de atividade neurotóxica. O tratamento com o processo não induziu atividade estrogênica e reduziu a neurotoxicidade e a genotoxicidade dos compostos em todos, exceto em um caso. A degradação de metamidofos por UV/H₂O₂ resultou em um aumento da genotoxicidade, provavelmente devido à formação de produtos de transformação tóxicos. O aumento da toxicidade diminuiu gradualmente com o tempo, possivelmente devido à hidrólise dos produtos de transformação formados.

Urbano et al. (2017), estudaram a peroxidação assistida por radiação ultravioleta (UV/H₂O₂) para verificar se o processo foi capaz de degradar os antimicrobianos sulfaquinoxalina e ofloxacina e remover a toxicidade e a atividade antimicrobiana da solução. Este processo foi eficaz na degradação dos antimicrobianos, mas a toxicidade da solução aumentou ao longo do tempo de reação.

2.7.1 Influência da concentração de H₂O₂

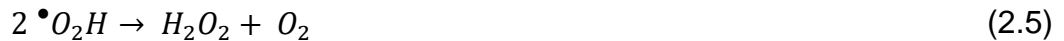
A utilização do H₂O₂ é muito comum no tratamento de diversas águas residuárias devido a várias vantagens que este apresenta: (i) é disponível como uma solução facilmente manipulada que pode ser diluída em água para se obter uma vasta gama de concentrações; (ii) não há emissões atmosféricas; (iii) um elevado rendimento quântico de OH• é gerado (BLANCO; MALATO, 2003).

De acordo com Chen et al. (2006) e Araújo et al. (2016), todo processo UV/H₂O₂ é iniciado pela geração de radicais OH• por meio das reações apresentadas nas Equações 2.2 e 2.3:



Dois efeitos concorrentes podem contribuir para a relação entre a concentração de H₂O₂ e a constante de oxidação resultante. Em baixas concentrações, o H₂O₂ não gera OH• suficiente, portanto, a taxa de oxidação é limitada. Com o aumento da concentração de H₂O₂, são formados mais OH• e, assim, levam a um aumento na taxa de reação. No entanto, na presença de H₂O₂ em excesso, os radicais OH• gerados

passam por duas rotas de reação, reagindo com H₂O₂ através das seguintes etapas, apresentadas nas Equações 2.4 a 2.6 (BOCZKAJ et al., 2017):



O aumento da concentração inicial de H₂O₂ aumenta o processo de oxidação até certo ponto, no qual o H₂O₂ começa a inibir a degradação fotolítica de compostos orgânicos. Com uma concentração mais elevada de H₂O₂ que atua como um eliminador de radicais livres, são formados radicais hidroperoxila ($\bullet O_2H$) de menos reatividade (BUXTON et al., 1988; ZHANG et al., 2009; HAJI et al., 2011).

Em outras palavras, o aumento da concentração de H₂O₂ promove a reação do OH \bullet com as moléculas locais de H₂O₂ em excesso. Portanto, menos OH \bullet está disponível para a oxidação do contaminante. Ou seja, uma concentração de H₂O₂ muito baixa ou muito alta afetará negativamente a eficiência da oxidação (LIU et al., 2013).

A estabilidade na velocidade de reação está associada com excesso de H₂O₂ no meio reacional, de tal modo que um aumento na sua concentração não aumentaria a sua velocidade. O uso excessivo de H₂O₂ pode levar a uma reação competitiva entre o OH \bullet e o H₂O₂, produzindo um efeito inibitório sobre a degradação de compostos (SANTOS et al., 2015).

Portanto, existe uma dosagem ótima de H₂O₂ para a degradação do contaminante pelo processo UV/H₂O₂. A esta dosagem favorável, a taxa de degradação é maximizada (LIN et al., 2016).

2.7.2 Influência do pH

Segundo Mills et al. (1993), e Gálvez et al. (2001), um POA pode sofrer alteração em função do pH, devido as mudanças nas propriedades dos substratos orgânicos a serem degradados. Cabe lembrar que para o processo UV/H₂O₂, o pH em torno de 3-4 é fundamental para a eficiência do processo. Isso ocorre porque o pH da

reação influencia a reatividade dos compostos e pode aumentar ou diminuir a velocidade da reação (BOJANOWSKA-CZAJKA et al., 2006).

Conforme as Equações 2.7 e 2.8, se o meio tiver valores elevados de pH, os íons carbonato e bicarbonato reagirão com OH^\bullet , atuando como eliminadores, portanto o pH não pode ser muito alto. A concentração destes íons diminui juntamente com a diminuição do pH, aumentando a quantidade de OH^\bullet livre na fase líquida e, portanto, aumenta a eficiência da oxidação (LITTER, 2005).



De acordo com Lin et al. (2016), os valores da k em condições ácidas excedem acentuadamente aqueles em condições básicas. Em soluções alcalinas, o H_2O_2 é dissociado para formar ânions hidroperoxila (HO_2^-) (Equação 2.9). HO_2^- reage com H_2O_2 (Equação 2.10), produzindo O_2 , H_2O e OH^- , em vez de OH^\bullet , sob irradiação UV. Assim, a concentração instantânea de OH^\bullet é menor do que a esperada.



A taxa de auto decomposição de H_2O_2 é maior em soluções alcalinas do que em soluções ácidas, portanto a quantidade de OH^\bullet formada é menor (GHODBANE; HAMDAR, 2010; ZHOU et al., 2012). Portanto, em soluções alcalinas a degradação do contaminante é muito mais fraca do que em soluções ácidas.

A estreita faixa de pH utilizada para que ocorra a máxima eficiência do processo é uma das grandes limitações do processo, pois há necessidade de ajuste de pH para a máxima eficiência do tratamento e a necessidade de neutralização após o tratamento antes do descarte em corpos d'água (NOGUEIRA et al., 2007). Além disso, há um aumento dos custos adicionais com correções de pH pela adição de reagentes, tais como NaOH e HCl (MANENTI, 2013).

2.7.3 Influência da fonte de irradiação

A radiação ultravioleta (UV) é subdividida nas faixas de comprimento de onda, de acordo com seus efeitos anedóticos, UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm), UV-C (100-280 nm) e UV em vácuo (> 200 nm). As lâmpadas germicidas UV-C são frequentemente usadas para purificar a água devido à sua capacidade de eliminar bactérias (BLANCO; MALATO, 2003).

Conforme Blanco e Malato (2003), a luz pode ser usada de diversas maneiras e sob certas condições, para incentivar produtos químicos a quebrar os poluentes para a formação de subprodutos inofensivos. Alguns contaminantes são capazes de se dissociar apenas na presença de luz.

Diferentes comprimentos de onda da radiação podem ser utilizados, dependendo da natureza das espécies envolvidas no processo de oxidação. De acordo com Rodrigues-Silva et al. (2014), as quinolonas possuem duas faixas características de banda de absorção na região do ultravioleta, uma entre 240 e 300 nm e outra, de menor intensidade, entre 300 a 380 nm, devido aos anéis aromáticos presentes na estrutura desses compostos. Ao mesmo tempo, para a ativação do H₂O₂ no caso do processo UV/H₂O₂, somente a radiação de onda curta da faixa UV-C é utilizável (MANENTI, 2013).

Em um estudo realizado por Lin et al. (2016), foi investigado o efeito do comprimento de onda UV, sobre a eficiência da degradação da ofloxacina, através do processo UV/H₂O₂. Utilizando valor de pH 3 e 0,07 g H₂O₂ L⁻¹ foram avaliados os comprimentos de onda UV de 365 nm e 254 nm. Foi observado após 30 min, eficiências de degradação de 26% e 94%, respectivamente, mostrando que o comprimento de onda influenciou fortemente na eficiência da degradação de ofloxacina. Este resultado é explicado pelo fato de que a radiação UV em 254 nm forneceu mais energia do que a radiação UV em 365 nm, então grandes quantidades de OH• foram geradas, e mais moléculas de ofloxacina em solução aquosa foram degradadas.

2.8. ACTINOMETRIA E RENDIMENTO QUÂNTICO

A intensidade de radiação ultravioleta está relacionada com a quantidade de energia recebida por uma unidade de área. Sua determinação só é possível por meio de radiometria ou actinometria (AGUIAR et al., 2002).

De acordo com Braslavsky (2007), a actinometria é definida como um sistema químico que determina o número de fótons em um feixe de luz integralmente ou por unidade de tempo, a partir de uma substância fotossensível, chamada actinômetro, de rendimento quântico conhecido.

Em um actinômetro químico, a conversão fotoquímica está relacionada diretamente ao número de fótons absorvidos, devido à ação química da luz no meio ou por haver uma mudança reversível da substância química, decaimento ou formação de moléculas, modificando sua concentração ou suas propriedades espectrais. Assim, o cálculo do número de fótons incidentes pode ser feito a partir da medição da taxa de reação (MOTA, 2005; MOTA, 2010).

O campo de intensidade dentro do reator pode ser bastante variável, o que torna difícil a determinação da intensidade média relativa ao volume de líquido no reator. Desta forma, para esta determinação, utilizam-se substâncias actinométricas que sofrem reações fotoquímicas em comprimentos de onda específicos (AGUIAR et al., 2002).

Os actinômetros mais usuais são o ferrioxalato de potássio e oxalato de uranila. Com a medição da taxa de reação, o cálculo do número de fótons incidentes pode ser realizado. A determinação da conversão para os produtos permite calcular o número total de fótons absorvido pelo volume de gás ou líquido, ou a superfície do sólido que podem ter qualquer forma ou geometria (MOTA, 2005; MOTA, 2010).

A cinética do procedimento de actinometria por ferrioxalato de potássio pode ser acompanhada medindo-se a concentração de Fe^{2+} formado ao longo do tempo de exposição à radiação UV. A concentração molar de Fe^{2+} é medida por meio da absorbância de um complexo de Fe^{2+} - fenantrolina - de cor vermelha a 510 nm. Íons férricos formam somente um leve complexo com fenantrolina, transparente a 510 nm (AGUIAR et al., 2002).

O rendimento quântico é o número de eventos definidos que ocorrem por fóton absorvido pelo sistema, definido através das Equações 2.11 a 2.13 (BRASLAVSKY, 2007). O rendimento quântico integral é:

$$\phi(\lambda) = \frac{\text{número de eventos}}{\text{número de fótons absorvidos}} \quad (2.11)$$

Para uma reação fotoquímica,

$$\phi(\lambda) = \frac{\text{quantidade de reagente consumida ou produto formado}}{\text{número de fótons absorvidos}} \quad (2.12)$$

O rendimento quântico diferencial é

$$\phi(\lambda) = \frac{dx/dt}{q_{n,p}^0 [1 - 10^{-A(\lambda)}]} \quad (2.13)$$

Onde dx/dt é a taxa de alteração de uma quantidade mensurável (espectral ou qualquer outra propriedade) e $q_{n,p}^0$ a quantidade de fótons incidentes (mol ou equivalente *einstein*) (antes da absorção) por intervalo de tempo (fluxo de fótons, montante). $A(\lambda)$ é a absorvância no comprimento de onda de excitação. Pode ser usado para processos fotofísicos ou reações fotoquímicas.

2.9 COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS

De acordo com Melo et al. (2009), a degradação de fármacos por POAs envolve diferentes etapas e várias reações que resultam em diferentes subprodutos, que podem apresentar maior ou menor toxicidade comparativamente ao fármaco original. Estes intermediários podem manter ou não a atividade funcional do composto original.

Uma vez que vários intermediários podem ser formados durante o tratamento, é importante identificar uma rota de degradação, bem como avaliar a toxicidade e o destino destes no ambiente (MELO et al., 2009).

Para que os produtos formados das reações entre os radicais OH^\bullet e as quinolonas possam ser identificados, normalmente utiliza-se a espectrometria de massas. As estruturas dos possíveis produtos formados são propostas baseando-se na composição elementar dos fármacos e mecanismos de reações orgânicas apresentados na literatura especializada. Salienta-se que a identificação dos produtos formados durante os processos de degradação é uma etapa bastante trabalhosa

devido às baixas concentrações em que esses intermediários se encontram (RODRIGUES-SILVA et al., 2014).

Gupta e Garg (2018), aplicaram o processo Fenton na degradação de CIP, onde cinco produtos principais de degradação puderam ser identificados por cromatografia líquida de alta resolução - espectrometria de massas. Os produtos podem ser resultado da ocorrência de descarboxilação, desfluoração, hidroxilação e clivagem do anel de piperazina.

Bueno et al. (2018) aplicaram a Peroxidação Eletroquímica na degradação da CIP. Durante o tempo de eletrólise (15 a 45 min.), três compostos foram identificados, chamados ésteres (ácido benzeno-1,2-dicarboxílico), sendo estes produtos conhecidos como ftalatos. Estes subprodutos foram identificados através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). Sugere-se que as estruturas moleculares identificadas sejam caracterizadas pela clivagem do anel aromático presente na molécula de CIP pela interação com os radicais OH^\bullet .

Visto que os POAs podem formar subprodutos na degradação de contaminantes, a realização de testes de toxicidade complementa as análises químicas, pois fornecem uma resposta global da amostra, identificando possíveis efeitos sinérgicos e biodisponibilidade dos compostos (MELO et al., 2009).

Além disso, a otimização dos processos de tratamento é indispensável para garantir a completa mineralização dos compostos-alvo, minimizando assim a formação de intermediários tóxicos. Nesse contexto, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis que permitam identificar os intermediários e testes de toxicidade confiáveis para dimensionar o impacto dessas substâncias no ambiente.

2.10 EFEITOS DA GENOTOXICIDADE E TOXICIDADE

Atualmente, inúmeras substâncias que conferem periculosidade à saúde pública e ao meio ambiente vêm sendo estudadas. Conseqüentemente, o desenvolvimento de testes rápidos e simples na identificação de substâncias com atividade tóxica e genotóxica tem trazido grande interesse no meio científico.

Há um amplo número de testes, podendo o organismo de prova variar desde vírus, bactérias, fungos, plantas e insetos até mamíferos, incluindo células humanas. A utilização de organismos experimentais e bioensaios para a detecção de danos no

material genético têm permitido a quantificação e reconhecimento de uma ampla gama de substâncias com atividade genotóxica (OBE et al., 2004).

A CONSEMA 129 (RIO GRANDE DO SUL, 2006), define genotoxicidade como a capacidade de uma amostra simples ou composta alterar a estrutura ou função da molécula de DNA, ou seja, o potencial que uma substância tem de reagir com o DNA da célula.

Isso pode ocasionar quebras de fita simples e/ou dupla do DNA, que, caso sejam reparadas por enzimas endógenas de reparo do DNA, diz-se que a substância que gerou tais alterações no DNA tem efeito genotóxico. Caso as alterações no DNA de uma célula não sejam passíveis de reparação, elas são transmitidas de modo estável às células filhas no processo de divisão celular. Assim, a substância que causou esse efeito é chamada mutagênica (GONTIJO; TICE, 2003).

Os indicadores de genotoxicidade permitem avaliar os efeitos de exposições ao material genético por meio da avaliação de mutação gênica, dano cromossômico ou lesão no DNA. Alguns ensaios de avaliação de genotoxicidade compreendem aberrações cromossômicas, troca de cromátides irmãs, mutações pontuais e oncogênicas, micronúcleos e o ensaio cometa, sendo este último utilizado para avaliar lesões no DNA (RIBEIRO et al., 2003; COLLINS; AZQUETA, 2012; HAYS et al., 2012; MORO et al., 2013).

Ao mesmo tempo, testes para verificar a toxicidade fornecem uma estimativa dos efeitos letais e subletais, medem a toxicidade quando o agente tóxico não é identificado quimicamente e podem prever os potenciais danos ambientais.

Os testes de toxicidade são ensaios realizados para avaliar a capacidade de uma amostra em produzir efeitos deletérios nos organismos-teste (RIO GRANDE DO SUL, 2006). Nesses ensaios, organismos-testes são expostos a diferentes concentrações de amostra e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e quantificados (RONCO et al., 2004).

Os testes de toxicidade podem ser classificados como agudos ou crônicos, sendo diferenciados pelo tempo de exposição do organismo-teste a substância em estudo. De acordo com Sobrero e Ronco (2004), a toxicidade aguda é o efeito adverso (letal ou subletal) induzido em organismos-teste durante um período de exposição do material de teste, geralmente alguns dias. A toxicidade crônica são os efeitos tóxicos a longo prazo relacionados a mudanças no metabolismo, crescimento ou capacidade de sobrevivência (RIO GRANDE DO SUL, 2006).

A CIP é um antibiótico comumente detectado no ambiente aquático, mas a informação sobre a sua toxicidade em relação às comunidades microbianas naturais está em grande parte ausente (JOHANSSON et al., 2014). Sendo assim, diversos pesquisadores vêm investigando a genotoxicidade e a toxicidade da CIP, através de diversos organismos-teste.

Johansson et al. (2014), avaliaram a toxicidade crônica de CIP em biofilmes marinhos naturais (periphyton), comunidade ecológica complexa, que compreende uma variedade de espécies bacterianas e de algas. Os biofilmes foram amostrados ao longo da costa oeste sueca e subsequentemente expostos ao longo de 4 dias em um sistema semi-estático para uma série de concentrações de antibiótico. Os efeitos na parte bacteriana da comunidade perifítica foram avaliados usando ecoplacas biológicas, refletindo respiração total e diversidade funcional da comunidade bacteriana. A exposição ao antibiótico foi avaliada em uma relação concentração-resposta clara com os valores EC10 e EC50 para a inibição da utilização total de fontes de carbono de 46,1 nmol L⁻¹ e 490,7 nmol L⁻¹ para a CIP. A Concentração de Efeito Não Observado para CIP foi de 26 nmol L⁻¹, com uma diferença mínima significativa de 19,24%. Os dados indicaram que a exposição à CIP leva a uma reorganização do padrão de utilização de carbono na região de 20 a 50% de efeito. Isso corresponde à maior especificidade da CIP para certas espécies bacterianas. Os efeitos na parte das algas das comunidades foram avaliados analisando a quantidade e composição de pigmentos fotossintéticos, em que a CIP não causou quaisquer efeitos inibitórios até a concentração máxima testada de 9000 nmol L⁻¹.

Abreu et al. (2011), avaliaram a atividade genotóxica da CIP através do Teste para Detecção de Mutação e Recombinação Somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*. Os resultados obtidos indicaram que a CIP, nas concentrações avaliadas de 3,0 e 6,0 mM, aumentou a frequência de manchas em relação ao controle negativo, evidenciando o seu papel mutagênico.

Mansano et al. (2012), avaliaram e compararam a toxicidade aguda da CIP sobre as espécies de Cladocera *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia silvestrii*. Para isso, realizaram-se testes de toxicidade aguda, com concentrações nominais do fármaco. Para o dafinídeo *C. silvestrii*, os valores de CE50: 24 h e CE50: 48 h foram de 43,80 mg L⁻¹ e 9,17 mg L⁻¹, respectivamente. Para *D. magna*, os valores de CE50: 24 e 48 h não foram possíveis de calcular, pois um número menor que 50% dos organismos apresentaram imobilidade na maior concentração testada (100 mg L⁻¹). Os resultados

obtidos mostraram que a espécie tropical *C. silvestrii* foi mais sensível a CIP do que a espécie exótica *D. magna*.

Khadra et al. (2012), avaliaram a genotoxicidade da quinolona (ácido nalidíxico) e das fluoroquinolonas (CIP e enrofloxacina) utilizando o teste do micronúcleo nas raízes de *Vicia faba* por exposição direta ao contato com uma matriz sólida. As plantas foram expostas a quinolona e fluoroquinolonas sozinhas ou misturadas com solos contaminados artificialmente. Foram testadas quatro concentrações diferentes de cada antibiótico, sendo 0,01, 0,1, 1 e 10 mg Kg⁻¹ para ácido nalidíxico e 0,005; 0,05; 0,5 e 5 mg Kg⁻¹ para CIP e enrofloxacina. Esses antibióticos também foram utilizados como mistura dinâmica. Na exposição de plantas *Vicia faba* a cada antibiótico, as duas maiores concentrações apresentaram indução significativa de micronúcleo. As duas concentrações mais baixas não apresentaram efeito genotóxico significativo. A mistura dos três compostos induziu uma indução significativa de micronúcleo, independentemente da mistura testada, de 0,02 a 20 mg Kg⁻¹. Os resultados indicaram que um efeito genotóxico semelhante foi obtido com a mistura a 0,2 mg Kg⁻¹ em comparação com cada molécula isolada em 5 - 10 mg Kg⁻¹.

Richard et al. (2014), aplicaram um POA para a remoção de produtos químicos das águas residuais. O estudo foi aplicado para combinar análises químicas e toxicológicas da oxidação avançada (O₃ [5 mg L⁻¹] ou UV/H₂O₂ [lâmpada Hg-LP, 15 W; 1 g L⁻¹ H₂O₂]) de efluentes da fábrica de tratamento de águas residuais e água pura. As amostras de efluentes do tratamento convencional de águas residuárias de lodo ativado (tratamento mecânico, bacia de lodo ativado e etapas de tratamento primário e secundário) e água deionizada de alta pureza (água pura) foram adotadas com Bisfenol A, CIP, Metoprolol ou Sulfametoxazol e tratados com O₃ ou UV/H₂O₂. Para as análises toxicológicas, as células de mamíferos (CHO-9, T47D) foram expostas às amostras de água durante 24 h e foram testadas quanto à citotoxicidade (Teste MTT), genotoxicidade (Alkaline Comet Assay) e estrogeneidade (ER Calux®). Os resultados indicam que o tratamento oxidativo (O₃ ou UV/H₂O₂) de Bisfenol-A, Metoprolol, Sulfametoxazol ou CIP em águas residuais não resultou em produtos de oxidação tóxicos, enquanto que o tratamento UV/H₂O₂ de Bisfenol A e CIP em água pura resultou produtos inibitórios com efeitos citotóxicos, mas não estrogênicos após 60 min.

Souza et al. (2015), aplicaram o processo de eletrocoagulação (EC) em condições otimizadas para a degradação do cloridrato de ciprofloxacina (CIP (HCl))

em solução sintética. Amostras da solução sintética de CIP (HCl) tratadas por diferentes tempos de tratamento EC, foram submetidas a testes de ecotoxicidade com o bioindicador *Artemia salina*, visando identificar-se a presença de toxicidade do composto ou dos subprodutos de degradação gerados durante o tratamento. Para realização do teste levou-se em consideração a quantidade de organismos testes que morreram ou perderam a mobilidade após 24 horas de exposição nas amostras testadas. Por meio da análise HPLC notou-se que a partir de 40 minutos de tratamento a degradação da CIP (HCl) atingiu aproximadamente 98%. O teste de toxicidade indicou que as amostras tratadas com tempos de eletrólise inferior a 40 minutos apresentaram alta carga tóxica, evidenciando que o tratamento de EC não é eficaz para a degradação da CIP (HCl) em curtos tempos de tratamento. Portanto, devido ao alto nível de toxicidade presente nas soluções estoque e com tempo de tratamento inferior a 40 min., onde há formação de subprodutos de degradação tóxicos, o processo EC não é adequado para ser usado como um único tratamento de efluentes em curtos períodos de tempo.

2.11 GENOTOXICIDADE

De acordo com Leme e Marin-Morales (2009), a crescente descarga de produtos químicos perigosos no ambiente afetou o equilíbrio dos ecossistemas naturais e, conseqüentemente, chamou a atenção de vários pesquisadores e agências governamentais para a saúde dos organismos vivos. Entre os danos causados por agentes químicos aos organismos expostos, os efeitos genotóxicos e mutagênicos mostraram-se preocupantes, devido à sua capacidade de induzir danos genéticos, o que pode levar a vários problemas de saúde e também afetar as gerações futuras, uma vez que estas alterações podem ser hereditárias (THEODORAKIS et al., 1998).

Assim, a necessidade de identificar compostos que reagem com o DNA para garantir a qualidade ambiental levou ao desenvolvimento de vários ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade em uma ampla gama de organismos. Estes ensaios podem ser divididos em grupos com base no sistema biológico empregado e seu ponto final genético detectado (HOUK, 1992).

Dentre os ensaios de genotoxicidade, os de plantas são relativamente baratos, rápidos e proporcionam resultados confiáveis, além de identificar produtos químicos que causam alterações cromossômicas (GRANT, 1978). As plantas, sendo recipientes

diretos de substâncias tóxicas, tornam-se materiais importantes para o teste genético e para o monitoramento ambiental de casos afetados por estes produtos (SHARMA; PANEERSERVAN, 1990). Vários sistemas de teste de plantas já estão em uso e são tão sensíveis e confiáveis quanto outros testes de curto prazo (FATMA et al., 2018).

Entre as espécies de plantas mais altamente utilizadas para avaliar a contaminação ambiental, as mais frequentes são *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Tradescantia*, *Nicotiana tabacum*, *Crepis capillaris* e *Hordeum vulgare* (GRANT, 1994).

O *Allium cepa* (cebola) foi considerado como o sistema de teste mais bem estabelecido para indicar a presença de produtos químicos mutagênicos devido à dinâmica sensível do crescimento da raiz, fase mitótica clara, boas condições cromossômicas, como cromossomos grandes e em um número reduzido ($2n = 16$), estável com características cinéticas de proliferação adequadas para o estudo citogenotóxico (LEME; MARIN-MORALES, 2009; BARBERIO et al., 2011; SHARMA; VIG, 2012; FIRBAS; AMON, 2013; PATHIRATNE et al., 2015; HAQ et al., 2017). É uma bioferramenta simples, sensível e rápida e mostra alta sensibilidade aos compostos tóxicos (OLORUNFEMI et al., 2015).

O teste genotóxico que utiliza o *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (GRIPPA et al., 2010). É qualificado como padrão ouro para avaliação de índice mitótico, formação de micronúcleos, anormalidades cromossômicas e nucleares na detecção de contaminantes, além de permitir a avaliação da ação de um agente e seus efeitos clastogênicos ou aneugênicos sobre o material genético (FERETTI et al., 2007; AUIB; FELZENSWALB, 2011; BRAGA; LOPES, 2015).

Diferentes parâmetros do teste com *Allium cepa* podem ser utilizados para estimar a citotoxicidade e mutagenicidade de poluentes ambientais (WIGHTWICK et al., 2008; KOMAREK et al., 2010), conforme apresentados (LEME; MARIN-MORALES, 2009):

Índice Mitótico (IM): caracterizado pelo número total de células em divisão do ciclo celular, tem sido utilizado como parâmetro para avaliar a citotoxicidade de vários agentes. IM significativamente menores que aqueles do controle negativo podem indicar alterações provenientes da ação de substâncias químicas no crescimento e desenvolvimento dos organismos expostos e IM maiores que o controle negativo resultam do aumento na divisão celular, podendo ser prejudicial as células, levando a

proliferação celular desordenada e, eventualmente, a formação de tumores. Tanto a redução, como o aumento do IM são indicadores importantes no monitoramento da poluição ambiental, especialmente para a avaliação de contaminantes tóxicos que apresentam potencial citotóxico. De acordo com Quinzan-Jordão (1987), testes com *Allium cepa* são adequados por oferecer parâmetros microscópicos como anáfases prematuras, aderência cromossômica, pontes e fragmentação cromossômica, C-mitoses e micronúcleos, que são indicadores de eventuais mutações no conteúdo genético celular.

Alterações relacionadas com o crescimento da raiz e o IM são parâmetros indicativos de citotoxicidade. Por outro lado, alterações como anomalias cromossômicas (stickiness, micronúcleos, pontes cromossômicas, entre outras), indicam genotoxicidade. A mutagenicidade pode estar relacionada com a frequência de quebras cromossômicas, dessa forma, os riscos de eventos mutagênicos podem ser avaliados pela frequência desses danos genéticos (FISKESJÖ, 1985).

Aberrações cromossômicas: caracterizam-se por alterações na estrutura cromossômica ou no número total de cromossomos, que podem ocorrer de forma espontânea e como resultado da exposição a agentes físicos ou químicos (RUSSEL, 2002). As alterações cromossômicas estruturais podem ser induzidas por vários fatores, como quebras de DNA, inibição da síntese de DNA e replicação de DNA alterado. Para avaliar anormalidades cromossômicas pelo teste de *Allium cepa*, vários tipos de aberrações são considerados nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase).

Anormalidades nucleares: alterações morfológicas nos núcleos interfásicos, como resultado da ação do agente testado. Geralmente, essas alterações são observadas no teste de *Allium cepa* como núcleos lobulados, núcleos portadores de células nucleares, células polinucleares, minicélulas, entre outros (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008).

Micronúcleo: tem sido considerado por muitos autores como o ponto de partida mais eficaz e mais simples para analisar o efeito mutagênico promovido por produtos químicos. Isto é devido ao fato de micronúcleo resultar de danos, não ou reparados erroneamente, nas células parentais, sendo facilmente observado em células filhas como uma estrutura semelhante ao núcleo principal, mas em um tamanho reduzido.

De acordo com Rank (2003), uma das vantagens do teste *Allium cepa* é a possibilidade de expor o organismo de teste diretamente a misturas complexas sem tratamento prévio da amostra de teste.

Assim, este teste tem sido amplamente utilizado para estudar a genotoxicidade de uma grande variedade de poluentes ambientais, como metais pesados, pesticidas, hidrocarbonetos aromáticos, misturas complexas de poluentes, produtos químicos (LEME; MARIN-MORALES, 2009) e águas residuais de origem doméstica e têxtil (BERTANZA et al., 2013).

2.12 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Conforme descrito pela bula da ANVISA (2018), a CIP possui atividade *in vitro* contra uma ampla gama de microrganismos gram-negativos e gram-positivos. A ação bactericida da CIP resulta da inibição da topoisomerase bacteriana do tipo II (DNA girase) e topoisomerase IV, necessárias para a replicação, transcrição, reparo e recombinação do DNA bacteriano.

A CIP tem mostrado atividade *in vitro* contra cepas sensíveis dos seguintes microrganismos (ANVISA, 2018):

i) microrganismos gram-positivos aeróbios: *Bacillus anthracis*, *Enterococcus faecalis* (muitas cepas são somente moderadamente sensíveis), *Staphylococcus aureus* (isolados sensíveis à meticilina), *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*;

ii) microrganismos gram-negativos aeróbios: *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia spp.*, *Campylobacter spp.*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus vulgaris*.

As bactérias resistentes aos antibióticos representam graves ameaças para os seres humanos (TAMTAM et al., 2008), sendo necessária a realização de estudos urgentes sobre o risco associado à formação de subprodutos com propriedades toxicológicas desconhecidas (SUKUL et al., 2009).

Além disso, são raros os dados na literatura sobre a atividade antimicrobiana de soluções que foram submetidas a um POA. Destaca-se que essa avaliação é de

fundamental importância, uma vez que, mesmo o composto sendo altamente degradado, os intermediários formados podem apresentar atividade biológica. Com os ensaios de atividade antimicrobiana, é possível prever possíveis impactos no meio ambiente (RODRIGUES-SILVA et al., 2014).

Sturini et al. (2012) avaliaram o papel da luz solar na degradação de fluoroquinolonas (FQ) (CIP, danofloxacin, a levofloxacin e moxifloxacin) presentes em águas superficiais. As taxas de degradação foram investigadas em níveis de ppb (20-50 $\mu\text{g L}^{-1}$) sob luz solar. A atividade antimicrobiana dos produtos de fotodegradação obtidos foi avaliada com um teste de Concentrações Inibitórias Mínimas em cinco estirpes bacterianas diferentes, especificamente estirpes de referência de *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 e *A. baumannii* ATCC 19606 e isolados clínicos *E. coli* 245 SM01 e *E. coli* 259 SM01. Do ponto de vista ambiental, o núcleo FQ (potencialmente tóxico) permaneceu intacto ao longo dos estágios iniciais da degradação. De fato, comprovou-se que os fotoprodutos possuem atividade antibacteriana residual, como mostrado em testes de atividade antibacteriana *in vitro* contra diferentes cepas bacterianas humanas e ambientais bem caracterizadas.

Em um estudo realizado por Paul et al. (2010), a atividade antimicrobiana da solução de CIP foi reduzida após a mesma ser submetida ao processo de fotocatalise, mesmo quando o núcleo da quinolona permaneceu intacto. Portanto, podem ser considerados eficientes os tratamentos que desativem a atividade biológica ou que modifiquem a estrutura dos antimicrobianos. Assim, é possível que a desativação da atividade antimicrobiana ocorra mesmo quando não seja alcançada a total mineralização do composto alvo presente na solução.

Apesar disso, a presença e persistência de antibióticos no ambiente, mesmo em pequenas concentrações ou com baixa atividade residual, podem levar ao surgimento de resistência em bactérias, uma ameaça à saúde pública em todo o mundo. Para tanto, é de suma importância o estudo de técnicas de tratamento de águas residuais eficientes, as quais possam degradar e mineralizar estes contaminantes, além de inativar sua atividade antimicrobiana, minimizando assim estes problemas ambientais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos do estudo foram realizados no Laboratório de Águas, Laboratório de Efluentes, Laboratório de Química Orgânica, Laboratório de Química Instrumental e Laboratório de Genética da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), localizado no *Campus* Cerro Largo/RS e no Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) localizado no *Campus* Toledo/PR.

3.1 AMOSTRAS E REAGENTES

O efluente sintético utilizado neste trabalho foi uma solução simulada de Cloridrato de Ciprofloxacina (Sigma-Aldrich®) a 25 mg CIP L⁻¹ em água deionizada, sendo um medicamento altamente prescrito para o tratamento de diversas infecções. A CIP possui: (i) fórmula molecular C₁₇H₁₈FN₃O₃; e (ii) massa molar de 331,34 g mol⁻¹. Inicialmente, foi realizada a produção de água deionizada, através do sistema Milli-Q integral de ultra purificação de água (Merck, SA). A solução foi homogeneizada com o auxílio de um agitador magnético (Cama, 15/Centauro), e armazenada a temperatura ambiente em uma bombona de Polietileno (Newsul, NTF 50-C), com capacidade máxima de 50 litros.

Para as reações do processo foram utilizadas alíquotas do reagente Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂ (Merck Millipore, 30% (v/v), 34,01 g mol⁻¹, densidade da solução (ρ.) 1,45 g cm⁻³). A quantidade necessária para atingir a concentração desejada de H₂O₂ foi calculada levando-se em conta o peso molar da mesma e o volume de solução. Foram utilizadas alíquotas de hidróxido de sódio (NaOH, Alphatec, P.M. 40,0 g mol⁻¹; ρ. 2,1 g cm⁻³) e ácido clorídrico (HCl, Alphatec, P.M. 36,40 g mol⁻¹; ρ. 1,19 g cm⁻³), para os ajustes do pH das soluções, quando requeridos.

Soluções estoque de ftalato de potássio monobásico (HOCC₆H₄COOK, Sigma-Aldrich®, 204,22 g mol⁻¹, 1,636 g cm⁻³), hidrogenocarbonato de sódio (NaHCO₃, Merck Millipore, 84,01 g mol⁻¹) e carbonato de sódio (Na₂CO₃, Merck Millipore, 105,98 g mol⁻¹) foram utilizados para a calibração do sistema de análise de COT.

Para o ensaio de actinometria foram utilizadas soluções de ferrioxalato e H₂O₂. A solução de ferrioxalato foi preparada em sala escura a partir de uma solução

contendo $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ de Ácido Oxálico Dihidratado ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Vetec, 99,5 %, P.M. $126,07 \text{ g mol}^{-1}$) e $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ de Fe^{3+} (utilizando Cloreto de Ferro III (FeCl_3 , Êxodo, P.M. $162,30 \text{ g mol}^{-1}$). Para a determinação dos valores dos íons Fe^{2+} , foi preparada uma solução complexante de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de Ácido Acético (CH_3COOH , Alphatec, 99,7 %, P.M. $60,05 \text{ g mol}^{-1}$), $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de Acetato de Sódio Anidro (CH_3COONa , Dinâmica, 99 %, P.M. $82,03 \text{ g mol}^{-1}$) e $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de 1,10-fenantrolina ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Dinâmica, P.M. $198,22 \text{ g mol}^{-1}$).

Para o ensaio de actinometria com o H_2O_2 , foi necessária a determinação do residual da concentração de H_2O_2 . Para tanto foi utilizada uma solução de 1 L, contendo 0,36 mol de ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Vetec, 96 %, P.M. 98,08) (19,9 mL do ácido), 0,06 mols de metavanadato de amônia (NH_4VO_3 , Merck Milipore, P.M. $116,98 \text{ g mol}^{-1}$; ρ . $2,33 \text{ g cm}^{-3}$) (7,0188 g), sendo diluída com água destilada (Nova Instruments, NI 2007). Para o preparo da solução, a mesma foi mantida sob agitação constante por 48 horas ao abrigo da luz.

Diclorometano (CH_2Cl_2 , Sigma Aldrich, 99,5 %, PM $84,93 \text{ g mol}^{-1}$) e Sulfato de Magnésio (MgSO_4 , Dinâmica, 98-102%, $246,48 \text{ g mol}^{-1}$) foram utilizados para extração das amostras de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM). Álcool isopropílico (70%) e fixador Carnoy foram utilizados nos testes de genotoxicidade.

Todas as amostras tratadas e não tratadas foram preservadas de acordo com o *Standard Methods* (APHA, 2005). E todos os reagentes e solventes químicos apresentam pureza de grau analítico.

3.2 MATERIAIS DE BIOENSAIOS

Para as análises de genotoxicidade foram utilizados bulbos de *Allium cepa* (Baia Periforme). Para a realização da análise antimicrobiana, utilizou-se Ágar Mueller-Hinton, para o preparo do meio de cultivo, e os microrganismos testes utilizados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC® 25923) e *Escherichia coli* (ATCC® 25922).

3.3 CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Para a realização das curvas de calibração foi utilizado um Espectrofotômetro UV-vis (Thermo-Scientific, Evolution 201). Para a realização das leituras no espectrofotômetro, as amostras foram dispostas em cubeta de quartzo, com caminho óptico de 10 mm, sendo as bandas de absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) específicas para cada solução em estudo. Antes da realização das leituras de cada solução, sempre foi realizada a leitura do branco, tido como referência para identificação e quantificação dos compostos em estudo.

Para a determinação da degradação de CIP, foi construída uma curva de calibração a partir de diluições de CIP, variando em diversas concentrações entre 2 e 25 mg L⁻¹, sendo lidas no Espectrofotômetro UV-Vis. Este procedimento foi realizado para a CIP em valores de pH variando de 2 a 10, a fim de acompanhar a evolução do perfil de absorção molecular em UV-C da CIP, bem como a alteração da intensidade do pico de máxima absorvância tido como referência de identificação e quantificação da CIP. Com isto, foi possível determinar a concentração da CIP nas amostras tratadas e não tratadas.

Para a determinação do residual da concentração de H₂O₂, foi construída uma curva de calibração a partir de diluições de H₂O₂, variando em diversas concentrações entre 0 e 1000 mg L⁻¹.

Para a determinação dos valores dos íons Fe²⁺, foi construída uma curva de calibração a partir de diluições de FeSO₄.7H₂O, variando em diversas concentrações entre 0 e 100 mg L⁻¹.

3.4 FOTOREATOR

O módulo/reator experimental utilizado consiste em uma caixa de MDF com revestimento interno em inox (Aprodinox, Tipo 430/1.4016, 6 mm) para maximizar a ação da irradiação. Ele possui dimensões de 50,4 cm de comprimento, 62 cm de largura e 43 cm de profundidade. É equipado com duas lâmpadas ultravioletas para desinfecção e esterilização (13 W, Philips TUV PL-S), fornecendo intensidade de radiação de 0,3 W m⁻². As lâmpadas de radiação UV-C emitem irradiação em um comprimento de onda de 254 nm.

Para a realização dos experimentos, foi utilizado um béquer de borossilicato de 400 ml (11 cm de altura x 7,7 cm de diâmetro) e agitador magnético (Cama, 15/Centauro) para homogeneizar a solução, sendo ainda equipado com um pH-metro (MS-Tecnopon, mPA-210). A fim de determinar a intensidade de irradiação, foi acoplado ao reator UV-C/H₂O₂ um radiômetro de banda larga (Apogee, UM-200). O procedimento de coleta das amostras foi composto por um sistema manual compreendido por uma seringa graduada (10 mL), sendo esta representativa para a realização das análises pré-determinadas. Na Figura 3.1, é apresentado o módulo utilizado no sistema de irradiação UV-C.

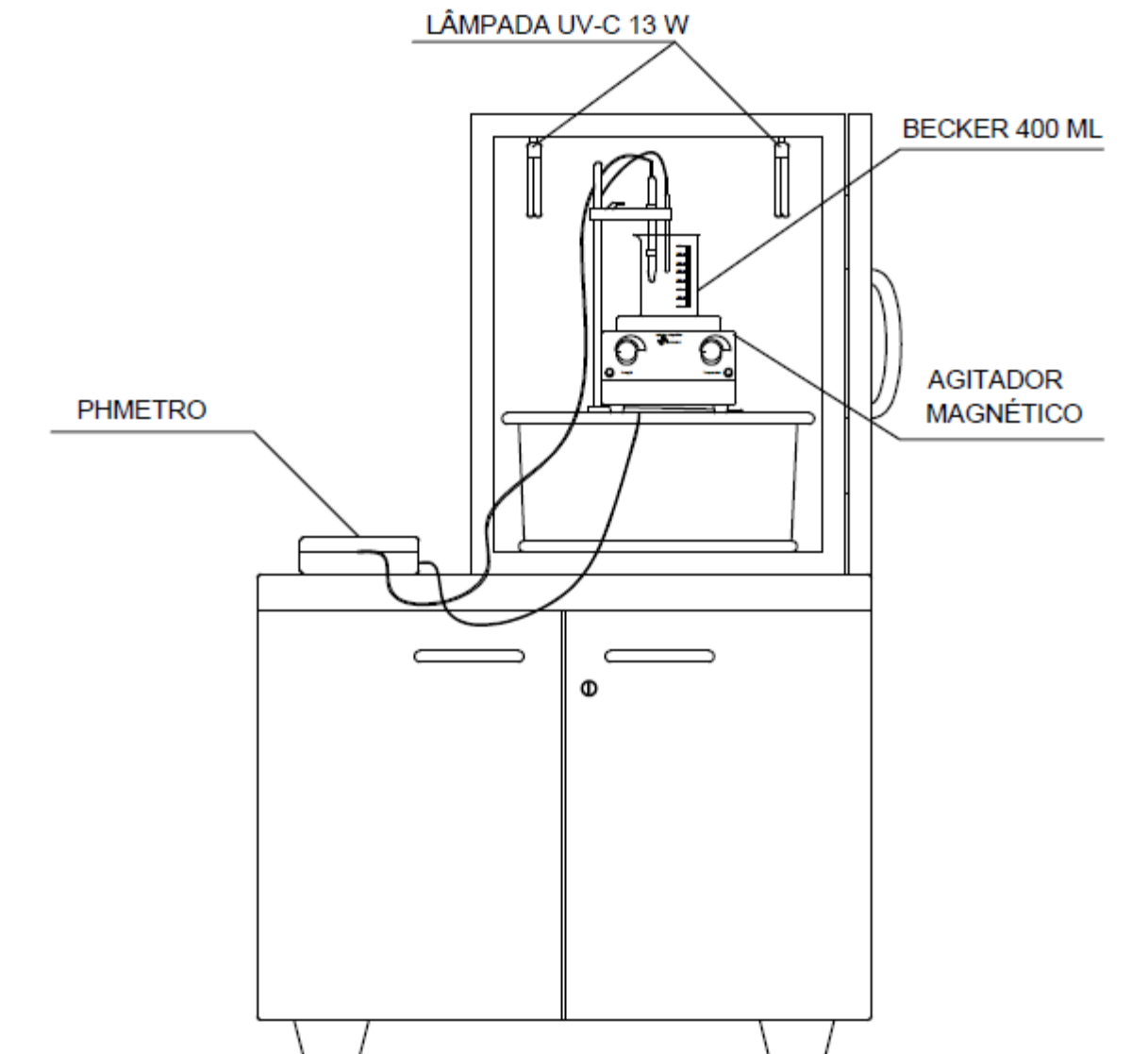


Figura 3.1 - Módulo experimental do sistema de irradiação UV-C.

3.5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Para a realização dos experimentos do processo UV-C/H₂O₂, foi adicionado no reator um volume de 400 mL de solução de CIP. Após, sob constante agitação (~60 rpm) e utilizando as soluções padrões de NaOH (1 M) e HCl (2 M), o pH da solução foi ajustado e aferido para os valores requeridos para cada experimento. Para iniciar a reação foi adicionado o oxidante H₂O₂, conforme valores de concentrações pré-estabelecidas e a posterior exposição à fonte de irradiação. Além disto, as reações foram realizadas com a solução à temperatura ambiente (~20 - 30 °C). Antes e após o início das reações do processo UV-C/H₂O₂, foi realizada a leitura da absorvância da solução de CIP. Em tempos de irradiação pré-estabelecidos foram retiradas alíquotas de 10 mL para realizar as determinações analíticas.

Inicialmente foram realizados testes preliminares com o processo UV-C/H₂O₂ variando as concentrações iniciais de H₂O₂ (50 - 1000 mg L⁻¹), pH da solução (3 - 10), concentrações iniciais de CIP (2 - 25 mg L⁻¹) e tempo de irradiação (0 - 600 min), sendo nesta etapa avaliada a degradação de CIP.

Após a análise destes resultados, foram determinadas as faixas de trabalho dos POR a serem estudadas, utilizando um planejamento experimental.

3.6 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Com o intuito de identificar as condições ótimas de degradação e mineralização de CIP através do processo UV-C/H₂O₂, os experimentos foram planejados através de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), proposto com base na metodologia descrita por Borba et al. (2018). O DCCR foi baseado nas respostas obtidas nos testes preliminares, sendo determinadas as variáveis operacionais a serem estudadas: concentração do reagente H₂O₂ (58,6 - 341,4 mg L⁻¹) e pH da solução (3,2 - 8,8), nomeadas q_1 e q_2 , respectivamente. O DCCR é constituído por um planejamento fatorial 2², 4 pontos axiais e triplicadas no ponto central, totalizando 11 ensaios experimentais que foram realizados de forma aleatória, conforme apresentados na Tabela 3.1 e Tabela 3.2.

Tabela 3.1 - Variáveis utilizadas no planejamento e seus respectivos níveis.

Variáveis	Coeficiente	Níveis				
		-1,41	-1,00	0,00	1,00	1,41
H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	q_1	58,6	100,0	200,0	300,0	341,4
pH da solução	q_2	3,2	4,0	6,0	8,0	8,8

Tabela 3.2 - Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).

Experimento	Coeficientes	
	q_1 (H ₂ O ₂)	q_2 (pH da solução)
1	-1,00	1,00
2	1,00	1,00
3	1,00	-1,00
4	0,00	0,00
5	-1,41	0,00
6	0,00	1,41
7	0,00	0,00
8	-1,00	-1,00
9	1,41	0,00
10	0,00	-1,41
11	0,00	0,00

Todos os experimentos foram realizados em um tempo reacional de 600 min., sendo o suficiente para garantir a degradação/mineralização. Foram retiradas alíquotas em diferentes tempos de reação (5, 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 540 e 600 min) para análise no decorrer da degradação. As variáveis de resposta foram o percentual de degradação de CIP - expressa pela concentração final de CIP, o percentual de mineralização de CIP - expressa pela concentração final de COT.

O procedimento de otimização foi baseado em análise estatística seguido da modelagem do conjunto de dados experimentais obtidos no DCCR. Os dados foram ajustados baseado em um modelo empírico polinomial de segunda ordem (Equação 3.1) aplicando os critérios de Lagrange (FERREIRA et al., 2004) e a clássica Metodologia das Superfícies de Respostas (MSR) (MEYERS; MONTGOMERY, 2002; KHURI; MUKHOPADHYAY, 2010). Todos os modelos foram validados e a significância estatística do conjunto de coeficientes lineares, quadráticos e suas interações foram obtidas por uma análise de variância (ANOVA) com 95% de nível de confiança. A ANOVA serviu para avaliar a relação da significância estatística entre os

POR e as variáveis função-respostas obtidas, conforme apresentado na Equação 3.1.

$$R = a + \sum_{i=1}^k a_i q_i + \sum_{i=1}^k a_{ii} q_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{i \neq j}^k a_{ij} q_i q_j \quad (3.1)$$

Sendo (R) a resposta experimental, (q_{i-j}) o valor dos parâmetros operacionais do reator ajustado (POR), (a) a constante do modelo, (a_i) o coeficiente dos termos lineares ajustados, (k) o número de respostas experimentais, (a_{i-j}) coeficientes associados com as interações lineares e quadráticas entre os valores dos POR ajustados. A análise estatística foi realizada utilizando o Software Estatística®, versão 7.

3.7 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Para caracterizar a solução de CIP antes e após o tratamento, foi realizada uma série de análises físico-químicas que estão apresentadas na sequência.

3.7.1 Ciprofloxacina

Para a determinação do comprimento de onda no qual ocorre a máxima absorção de luz pela CIP foi utilizado um Espectrofotômetro UV-vis (Thermo-Scientific, Evolution 201). Para a realização da leitura no espectrofotômetro, as amostras foram dispostas em cubeta de quartzo, com caminho óptico de 10 mm, variando-se o comprimento de onda de 200 nm a 400 nm, para que pudesse ser observada a formação de eventuais subprodutos nesse intervalo (AMÉRICO et al., 2008). As bandas de absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) da CIP se encontram entre os intervalos de 270 e 280 nm, dependendo da faixa de pH da solução (JALIL et al., 2015).

A degradação de CIP (%) foi calculada relacionando a concentração inicial (C_i - mg L⁻¹) e final (C_f - mg L⁻¹) de acordo com a Equação 3.2.

$$CIP_d = \frac{C_i - C_f}{C_i} * 100 \quad (3.2)$$

3.7.2 Carbono Orgânico Total

A análise do COT teve por objetivo determinar a quantidade de carbono presente dentro das estruturas das diversas e possíveis espécies orgânicas, dissolvidas e não dissolvidas, por meio de um processo de oxidação catalítica a temperaturas elevadas. Este parâmetro fornece uma indicação quantitativa em relação à mineralização de compostos orgânicos presentes em solução. Para esta determinação, as moléculas orgânicas são convertidas a CO₂, uma forma molecular simples, podendo ser medida quantitativamente. Os métodos para análise de COT utilizam irradiação ultravioleta, calor e oxigênio, oxidação química em fase líquida ou a combinações destes.

Levando em conta a quantidade de carbono orgânico total antes (TOC_i) e após (TOC_f) de cada tratamento, a quantidade de CIP mineralizada (CIP_m) pelo processo UV-C/H₂O₂ foi estimada pela Equação 3.3. A determinação do COT foi realizada em um analisador TC-TOC-TN através da oxidação catalítica a 680°C, calibrado com soluções padrão de hidrogenoftalato de potássio (carbono total) e da mistura de hidrogenocarbonato de sódio/carbonato de sódio (carbono inorgânico). O equipamento utilizado para as determinações de COT foi um analisador de carbono orgânico total Shimadzu (TOC-L) que exibe um limite de detecção de 4 µg L⁻¹, e se fundamenta na oxidação catalítica a elevadas temperaturas e determinação de CO₂ por espectroscopia infravermelho. Por se tratar de uma solução de baixa concentração, não houve a necessidade de diluí-la para efetuar a análise de COT.

$$CIP_m = \frac{TOC_i - TOC_f}{TOC_i} * 100 \quad (3.3)$$

3.7.3 Condutividade Elétrica

A medida de condutividade elétrica da solução de CIP foi realizada com auxílio de um condutímetro digital (DM-32/Digimed), baseada no *Standart Methods* (APHA, 2005). O condutímetro foi inicialmente calibrado com uma solução padrão, sendo a medição realizada através de um detector, onde a célula de medição da condutividade é composta por dois eletrodos cilíndricos concêntricos que medem a resistência elétrica da solução em que está imersa. O mecanismo da condução de intensidade

de corrente em soluções eletrolíticas é realizado pelo movimento de íons atraídos por um campo elétrico. A temperatura do meio afeta a condutividade de maneira que a condutividade aumenta com o aumento da temperatura e, desta forma, para equipamentos que não possuam o sistema de compensação automático de temperatura, a condutividade deve ser determinada a 25 °C, que é a temperatura de referência. A unidade de medida expressa nesta medição foi $\mu\text{S cm}^{-1}$.

3.7.4 H₂O₂ residual

A determinação da concentração residual de H₂O₂ foi realizada utilizando-se Espectrofotômetro UV-vis (Thermo-Scientific, Evolution 201). Para a leitura do branco foi utilizado um balão volumétrico de 10 mL, sendo adicionados 1,035 mL do reagente preparado com H₂SO₄ e NH₄VO₃, e o restante completado com água destilada. Posteriormente foram realizadas as leituras do residual de H₂O₂, utilizando balão volumétrico de 10 mL, sendo adicionado 1,035 mL do reagente e 1 mL da amostra de H₂O₂, completando-se o restante com água destilada. A realização das leituras de H₂O₂ residual (mg L^{-1}) foram realizadas em uma banda de intensidade com comprimento de onda de máxima absorção em 450 nm (NOGUEIRA et al., 2005).

Quando necessário, foi calculada a porcentagem de consumo de H₂O₂, relacionando a concentração inicial (C_0 - mg L^{-1}) e final (C_f - mg L^{-1}) do residual de H₂O₂ de acordo com a Equação 3.4.

$$\text{Consumo de H}_2\text{O}_2(\%) = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \times 100 \quad (3.4)$$

3.7.5 pH da solução

As medidas do pH da solução de CIP antes e após o tratamento foram realizadas utilizando-se uma pHmetro digital (MS Tecnopon, mPA-210), através do método potenciométrico. Para a calibração do aparelho, foram utilizadas soluções padrão com valores de pH 4, 7 e 10.

O princípio de funcionamento do pHmetro é baseado em uma membrana de fibra de vidro que separa dois líquidos de diferentes concentrações de íons H⁺. Nos dois lados da membrana cria-se um potencial elétrico proporcional à diferença de pH

entre os dois líquidos, o qual é medido em relação a um potencial de referência. Os resultados são expressos em unidades de pH (APHA, 2005).

3.8 TESTES DE ACTINOMETRIA

As medidas de actinometria foram realizadas com base em procedimentos descritos por Glaze et al. (1995), Santos et al. (2015) e Mota (2010). Basicamente, este método é baseado em dois testes sequenciais para conhecer o sistema reacional: (i) a aplicação da reação de ferrioxalato, que é considerada como tendo absorvância total da radiação UV-C; e (ii) um segundo passo, quando se considera que a taxa de reação de decomposição de H₂O₂ tem baixa absorvância de UV-C. Neste teste, dois parâmetros que dependem da configuração do reator e das lâmpadas UV-C empregadas foram determinados: (i) a radiação UV-C incidente (I_0) (Einstein L⁻¹ s⁻¹), e (ii) o comprimento do caminho de luz (b) (cm).

3.8.1 Cálculos de actinometria

Os parâmetros do reator medidos no teste de actinometria são obtidos usando a taxa de reação de Beer-Lambert, de acordo com a Equação 3.5, para um composto genérico “j” (CRITTENDEN et al., 1999; DANESHVAR et al., 2008; EDALATMANESH et al., 2008; GLAZE et al., 1995; MODIRSHAHLA; BEHNAJADY, 2006):

$$r_j = -\phi_j f_j I_0 (1 - e^{-A_t}) \quad (3.5)$$

Onde: r_j é a taxa de reação, $f_j = \frac{\epsilon_j C_j}{\sum_i(\epsilon_i C_i)}$ é a fração de radiação absorvida por uma concentração (C) de uma espécie j e $A_t = 2.303 b \sum_i(\epsilon_i C_i)$ é a absorvância total. Os parâmetros rendimento quântico (ϕ) e o coeficiente de extinção molar (ϵ_j) dependem dos compostos presentes no sistema e são bem conhecidos na literatura (HARRIS et al., 1987; GLAZE et al., 1995; CRITTENDEN et al., 1999).

Na reação de ferrioxalato toda a radiação UV-C é absorvida por este composto (isto é, $f_{Fe^{2+}} \cong 1$) e, de acordo com Harris et al. (1987), isso representa uma absorvância completa pelo sistema reacional, porque ($A_t \rightarrow \infty$), então ($1 - e^{-A_t}$) $\cong 1$. A aplicação em um sistema em batelada resulta na Equação 3.6.

$$\frac{dC_{Fe^{2+}}}{dt} = r_{Fe^{2+}} = \phi_{Fe^{2+}} I_0 \quad (3.6)$$

A solução da Equação 3.6 gera a solução mostrada na Equação 3.7.

$$C_{Fe^{2+}} - C_{Fe^{2+},0} = \phi_{Fe^{2+}} I_0 t \quad (3.7)$$

Com a regressão linear dos resultados experimentais ($C_{Fe^{2+}} - C_{Fe^{2+},0}$) vs. t , e o conhecimento do rendimento quântico, é possível calcular a radiação incidente no sistema reacional (I_0). Segundo Harris et al. (1987) e Jagger (1967), um rendimento quântico de 1,26 moles de Fe^{2+} Einstein⁻¹ a 254 nm é assumido.

A segunda etapa do teste de actinometria baseia-se na reação de fotólise primária do peróxido de hidrogênio: $H_2O_2 \xrightarrow{h\nu} 2OH^\bullet$. No caso de um sistema com apenas H_2O_2 presente na solução, toda a radiação UV-C é absorvida por este composto (isto é, $f_{H_2O_2} \cong 1$) e $(1 - e^{-A_t}) \cong A_t$ (HARRIS et al., 1987). Assim, considerando um sistema em batelada, a aplicação resulta na Equação 3.8.

$$\frac{dC_{H_2O_2}}{dt} = -r_{H_2O_2} = -\phi_{H_2O_2} I_0 2,303 b \epsilon_{H_2O_2} C_{H_2O_2} \quad (3.8)$$

A solução da equação diferencial (Equação 3.8) é apresentada na Equação 3.9.

$$\ln\left(\frac{C_{H_2O_2,0}}{C_{H_2O_2}}\right) = \phi_{H_2O_2} I_0 2,303 b \epsilon_{H_2O_2} t \quad (3.9)$$

Onde $\ln\left(\frac{C_{H_2O_2,0}}{C_{H_2O_2}}\right)$ em função do tempo de reação (t) resulta da regressão linear dos resultados experimentais. O rendimento quântico ($\phi_{H_2O_2}$) e o coeficiente de extinção molar ($\epsilon_{H_2O_2}$) na radiação UV-C (254 nm) são descritos na literatura como: 0,5 mol H_2O_2 Einstein⁻¹ and 18,0 L mol⁻¹ cm⁻¹, respectivamente (CRITTENDEN et al., 1999). I_0 e b (comprimento do caminho de luz) foram determinados na primeira etapa. Tomando como base o valor de I_0 determinado na primeira etapa, através desta regressão pode ser obtido o parâmetro b .

3.8.2 Análises e procedimentos

Para o Ferrioxalato:

O procedimento experimental consistiu na transferência do ferrioxalato (400 mL) para o reator. O tempo reacional do experimento foi iniciado com o acionamento da lâmpada. Durante o experimento, amostras de 0,2 mL foram coletadas e transferidas para frascos âmbar contendo 20 mL da solução complexante (0,5 M de ácido acético, 0,5 M de acetato de sódio e 0,01 M de 1,10-fenantrolina). As amostras foram analisadas pelo Espectrofotômetro UV-*vis* (Thermo-Scientific, Evolution 201), medindo-se a absorvância em 510 nm, para determinação da quantidade de Fe^{2+} , utilizando uma curva de calibração a partir de soluções com concentrações padronizadas de $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$.

Para o Peróxido de Hidrogênio:

O procedimento adotado nos experimentos baseou-se na adição de 400 mL de solução de 200 mg $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ sob constante agitação. O tempo reacional do experimento foi iniciado com o acionamento da lâmpada. Durante o experimento, foram retiradas alíquotas de 3 mL para a determinação da concentração residual de H_2O_2 , realizada através do método Metavanadato de Amônia descrito por Nogueira et al. (2005). A porcentagem de consumo de H_2O_2 , foi obtida através da Equação 3.4.

3.9 IDENTIFICAÇÃO DOS SUBPRODUTOS

Inicialmente, um procedimento de extração baseado em 3 x 20 mL de CH_2Cl_2 foi realizado em 40 mL das amostras de CIP. Em sequência, a camada orgânica combinada foi seca com MgSO_4 anidro e concentrada por evaporação rotativa (Hei-VAP Precision, Heidolph) a 40 °C. A identificação dos subprodutos intermediários foi realizada por um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GCMS-QP2010, SHIMADZU, Japão) utilizando uma coluna NST 05 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm de espessura de revestimento) composta por 95% de dimetil polissiloxeno e 5% difenil. A temperatura inicial foi de 55 °C, mantida constante por 3 min, com aumento de 25 °C min^{-1} até 300 °C, mantida por 6 min. A temperatura do injetor e do detector era de 260 °C, com temperatura de interface de 240 °C. A temperatura da fonte de ionização foi mantida a 250 °C para seleção e quantificação

dos compostos orgânicos. O equipamento foi ajustado a uma tensão de 0,88 kV, com ionização por impacto de elétrons à 70 eV para fragmentação molecular e produção de íons em um campo de massa/carga elétrica (m/z) de 20 a 600, a fim de identificar a estrutura e determinar as concentrações dos subprodutos nas amostras. A proposta estrutural dos subprodutos é baseada na biblioteca NIST 08 do GCMS-QP2010. Esta metodologia foi descrita por Bueno et al., (2018).

3.10 TESTES DE GENOTOXICIDADE

Para os testes de genotoxicidade foi utilizado um indicador biológico, a espécie *Allium cepa* da variedade Baia Periforme, adquirida no comércio local.

Os bulbos de *Allium cepa* foram expostos às amostras tratadas (5,30,60,180,300,420 e 600 minutos), ao controle negativo (água destilada) e controle positivo (solução de CIP não tratada) por 48 horas. Em seguida, foram retiradas raízes com a coifa com tamanho aproximado de 2 cm de comprimento.

Os meristemas radiculares (três de cada tratamento) após coletados, foram acondicionados em microtubos contendo fixador Carnoy por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram lavadas em água destilada e armazenadas em álcool 70% sob refrigeração até a confecção das lâminas.

As lâminas foram confeccionadas seguindo o protocolo de Feulgen e observadas em Microscopia Óptica (Microscópio Óptico Olympus® CX31), para a contagem das células em divisão mitótica e avaliação de danos cromossômicos. Foram confeccionadas três lâminas para cada tratamento e analisadas e contadas 1000 células/lâmina.

O Índice Mitótico (IM) (%) foi calculado pela Equação 3.10.

$$IM = \frac{\text{número de células em divisão}}{\text{número total de células contadas}} \times 100 \quad (3.10)$$

Os resultados foram validados pelo teste T com um nível de confiança de 95%.

3.11 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

De modo a avaliar a suscetibilidade de bactérias a agentes microbianos, foram realizadas análises de atividade antimicrobiana na solução de CIP tratada nos tempos de 5, 30, 60, 180, 300, 420 e 600 minutos.

Foi desenvolvida a metodologia descrita por Espinoza-Quiñones *et al.* (2016) baseada no teste de sensibilidade por disco-difusão conforme *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests* (NCCLS, 2003). Suspensões contendo aproximadamente $1 - 2 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ dos microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foram semeadas na superfície de placas de Petri, previamente esterilizadas, contendo uma fina cama de Ágar Müller-Hinton. Discos de papel filtro, saturados com as amostras a serem analisadas, foram colocados na superfície da placa de ágar semeada. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada medindo a formação de halos de inibição na área onde foi aplicado o inóculo. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo (solução de 25 mg CIP L⁻¹) e o controle negativo (água purificada estéril).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados e discutidos os dados obtidos através dos experimentos envolvendo o processo UV-C/H₂O₂ aplicado na degradação e mineralização da solução contendo o fármaco CIP. Inicialmente será apresentada a caracterização inicial da solução de CIP, juntamente com os testes de actinometria. Posteriormente, serão apresentados os resultados dos testes preliminares, seguidos dos dados obtidos no planejamento experimental e as suas respectivas análises estatísticas, e por final, as análises cinéticas e influência de cada POR.

Na sequência, serão apresentados os subprodutos obtidos ao longo do tratamento de CIP através do processo UV-C/H₂O₂, bem como os resultados dos testes de genotoxicidade e atividade antimicrobiana.

4.1 CARACTERIZAÇÃO INICIAL DA SOLUÇÃO DE CIPROFLOXACINA

Com o objetivo de avaliar a eficiência do processo UV-C/H₂O₂ realizou-se a caracterização inicial da solução de CIP sem tratamento. Os valores dos parâmetros físico-químicos obtidos para uma solução contendo 25 mg CIP L⁻¹ são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Valores dos parâmetros físico-químicos obtidos para uma solução contendo 25 mg CIP L⁻¹.

Parâmetros	Unidade	Valores
Absorbância	-	2,818 ± 0,001
Comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$)	nm	276
pH	-	5,2 ± 0,1
Carbono Orgânico Total (COT)	mg L ⁻¹	13,55 ± 0,8
Oxigênio Dissolvido (OD)	mg L ⁻¹	2,9 ± 0,4
Condutividade Elétrica	$\mu\text{s cm}^{-1}$	28,7 ± 1,3

Baseado no método dos quadrados mínimos foi ajustada uma função polinomial de primeiro grau (curva de calibração), utilizando o $\lambda_{\text{máx}}$ relativo a CIP em diferentes pHs, a partir de diluições de CIP de 2 a 25 mg L⁻¹. Os pHs utilizados variaram de 2 a 10, obtendo-se um R² de 0,998 para cada curva de calibração (dados não mostrados). Assim, foi possível acompanhar a evolução do perfil de absorção

molecular em UV-C da CIP, bem como a alteração da intensidade do pico de máxima absorvância, tido como referência de identificação e quantificação da CIP, sendo possível determinar a concentração da CIP das amostras tratadas e não tratadas.

4.2 RESULTADOS DE ACTINOMETRIA

Os parâmetros relacionados com a configuração do reator, tais como, a irradiação UV-C incidente e comprimento do caminho de luz, foram determinados por meio de testes actinométricos utilizando Ferrioxalato e H_2O_2 . A Figura 4.1 apresenta os resultados do ajuste dos dados experimentais dos modelos descritos pelas Equações 3.5 e 3.9.

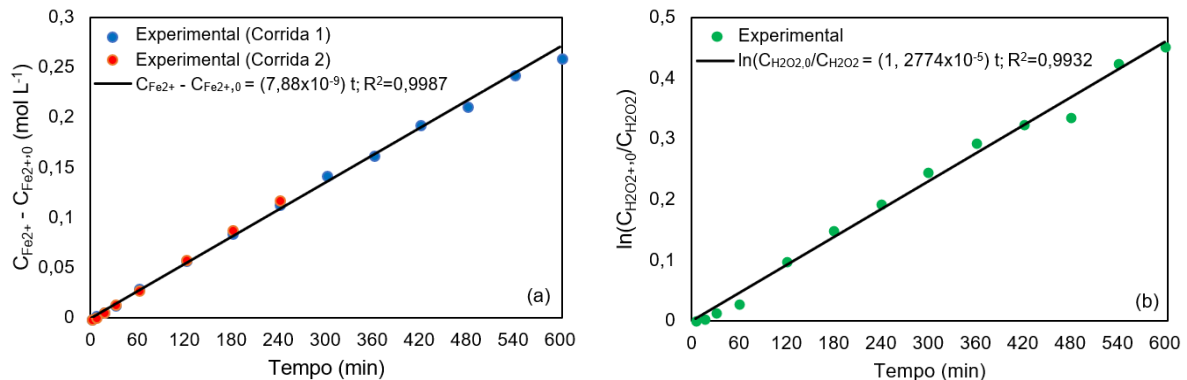


Figura 4.1 - Testes actinométricos: (a) reação do Ferrioxalato; (b) fotólise de H_2O_2 .

Através da Figura 4.1 pode ser observado um bom ajuste de dados, sendo os parâmetros do reator obtidos a partir das inclinações da curva ajustada como: (i) irradiação UV-C incidente de $6,2577 \times 10^{-9}$ Einstein $\text{L}^{-1} \text{s}^{-1}$ a 254 nm (duas lâmpadas de 13 W); e (ii) comprimento do caminho de luz de 98,5 cm.

Glaze et al. (1995) e Ling et al. (2016), determinaram uma radiação incidente no reator de $1,04 \times 10^{-6}$ e $1,34 \times 10^{-6}$ Einstein $\text{L}^{-1} \text{s}^{-1}$, e comprimento do caminho de 15,8 e 5,2 cm, respectivamente. É sugerido por estes autores que o comprimento do caminho determinado pelo teste actinométrico é aproximadamente o mesmo valor que o diâmetro do reator. No entanto, neste trabalho, o comprimento do caminho foi determinado como 98,5 cm, significativamente diferente do diâmetro do reator, que é cerca de 7,7 cm. Isso pode ser explicado pela tipologia dos reatores. Nas pesquisas de Glaze e Ling, as lâmpadas estavam submersas no sistema reacional, enquanto que, neste trabalho elas estavam suspensas na caixa do reator.

Analisando os resultados, sugere-se que a energia que não foi absorvida pelo sistema reacional foi refletida pela parede do reator, tornando-se novamente disponível para absorção pelo sistema, aumentando o comprimento do caminho e diminuindo a irradiação incidente, além de resultar em um aumento da taxa de degradação. Como mostrado pelos resultados, a presença de um material refletivo na parede do reator resulta em um aumento do comprimento do caminho, comparado ao caminho físico (diâmetro do reator).

Os parâmetros do reator, irradiação UV-C incidente e comprimento de caminho, tem influência crucial no processo, uma vez que podem alterar a velocidade da reação. Portanto, os resultados actinométricos podem ser aplicados para projetar o sistema reativo de reatores, aumentando a taxa de degradação de poluentes ambientais pelo processo UV-C/H₂O₂.

4.3 TRATAMENTO DA SOLUÇÃO DE CIP ATRAVÉS DO PROCESSO UV-C/H₂O₂

Nesta seção são apresentados os testes experimentais realizados para a determinação das melhores concentrações de H₂O₂, pH da solução e tempo de tratamento. Posteriormente será apresentado o DCCR, avaliação dos efeitos dos POR, ANOVA, gráficos tridimensionais de superfície de resposta, bem como as condições ideais para a degradação e mineralização da CIP.

4.3.1 Testes Preliminares

Nesta etapa foram avaliadas as variáveis do processo UV-C/H₂O₂: concentração de H₂O₂, pH da solução e tempo de irradiação. Para avaliar a influência da concentração de H₂O₂ e pH da solução no tratamento da amostra foram testadas diferentes concentrações, variando entre 50 - 1000 mg H₂O₂ L⁻¹, pH da solução 3 - 10 e tempo de irradiação UV-C entre 5 - 600 min. Foram avaliados também o efeito do processo UV-C/H₂O₂ e a influência individual da irradiação UV-C e do H₂O₂ na degradação de CIP (%), conforme apresentado na Figura 4.2.

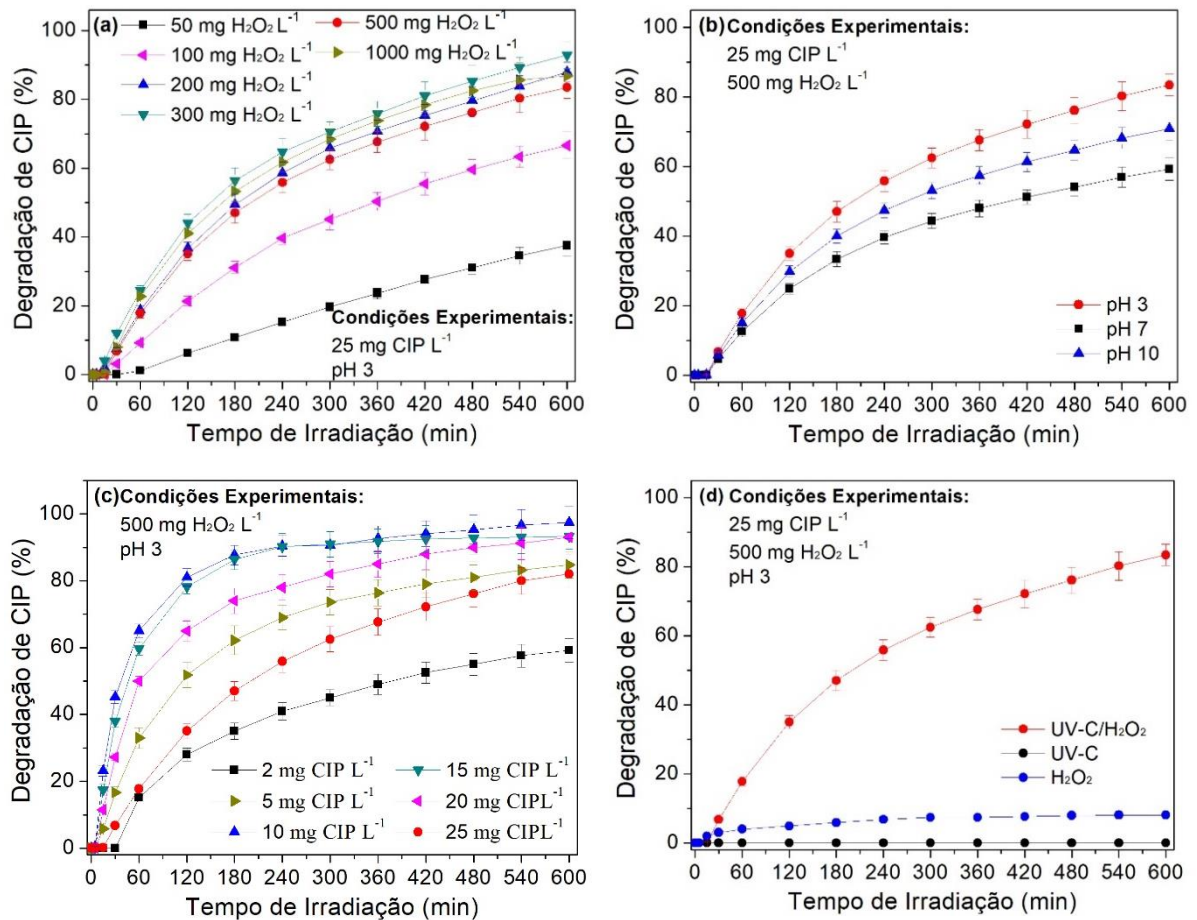


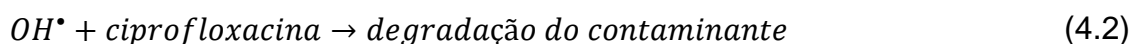
Figura 4.2 - Testes preliminares do processo UV-C/H₂O₂ na degradação de CIP.

Através da Figura 4.2a, observa-se que concentrações variando de 200 a 1000 mg H₂O₂ L⁻¹ apresentaram eficiência semelhante, de cerca de 86% na degradação da CIP em 600 min. de tempo de irradiação.

Para garantir uma concentração residual de H₂O₂ no meio reacional foi estabelecida uma concentração de 500 mg H₂O₂ L⁻¹, testada em pHs 3, 7 e 10, alcançando em pH 3 uma eficiência de 84% da degradação da CIP (ver Figura 4.2b). De acordo com Lin et al. (2016), Santos et al. (2015) e Brillas et al. (2009), a reação do processo UV-C/H₂O₂ tem maior eficiência em pHs da solução em meio ácido (~3), devido a alta instabilidade do H₂O₂ na decomposição para a formação de radicais hidroxilas (OH[•]) proporcionando o ataque de oxidação na molécula alvo, confirmando o que foi observado na Figura 4.2b. Além disso, observa-se que em valores de pH neutro (7), houve a menor degradação, comparado com os pHs ácido (3) e básico (10). Isso pode estar relacionado com a baixa solubilidade da CIP em solução aquosa, quando em pH neutro.

Outro fator importante a ser avaliado é a dependência da eficiência do processo UV-C/H₂O₂ em função da degradação da concentração inicial de CIP, visto que uma gama de diferentes concentrações pode ser encontrada em águas residuárias e/ou corpos hídricos superficiais (HASSANI et al., 2015). Na Figura 4.2c foi possível observar uma variação de 57% a 97% da degradação de CIP. A baixa eficiência foi observada em concentração inicial de 2 mg CIP L⁻¹, havendo a possibilidade de haver um excesso da concentração inicial de H₂O₂ (500 mg L⁻¹), perfazendo desta decomposição a recombinação de radicais hidroxilas (OH•) na formação de radicais hidroperoxilas (OH₂•), sendo menos seletivos e de baixo potencial de oxidação (SANTOS et al., 2015; BOCZKAJ; FERNANDES, 2017; ZHANG et al., 2017). A maior eficiência do processo UV-C/H₂O₂ foi encontrada em concentrações médias entre 10 e 20 mg CIP L⁻¹. No entanto, com a possibilidade de verificar uma maior formação de subprodutos da degradação e mineralização da CIP, assim como o efeito genotóxico de altas concentrações da CIP em solução, foram definidos nesta pesquisa ensaios experimentais com concentração inicial de 25 mg CIP L⁻¹.

A Figura 4.2d mostra a necessidade da combinação de irradiação UV-C/H₂O₂. Isso pode ser explicado pelo efeito da irradiação na decomposição do H₂O₂ e consequente geração de radicais OH• *in situ* na solução (LIAO et al., 2016; BENSALAH et al., 2018). O processo apresentou eficiência limitada em 8% de degradação da CIP em solução, quando utilizado apenas o H₂O₂. A exposição da solução somente a irradiação UV-C também não mostrou degradação significativa de CIP. Conforme Brillas et al. (2009), o poder oxidante do H₂O₂ deve ser maximizado para que exista máxima eficiência. Isso foi realizado utilizando o oxidante em combinação com a irradiação UV-C. Resultados análogos foram observados por Lin et al. (2016), confirmando que a maior eficiência é alcançada com a presença simultânea do oxidante e da irradiação no processo, devido ao seguinte mecanismo:



O radical OH• foi formado a partir da decomposição fotocatalítica de H₂O₂ (Equação 4.1), e pode degradar diretamente CIP em solução aquosa (Equação 4.2). Portanto, na presença de irradiação UV, grandes quantidades de radicais OH• são formadas, a partir do H₂O₂, resultando em uma degradação mais significativa de CIP.

De modo a verificar a influência da adição contínua de H_2O_2 ao processo (mantida sempre em sua mesma concentração), ou de uma única vez (adição realizada apenas no início do processo), foi realizado um teste com as seguintes condições experimentais: 25 mg CIP L^{-1} , $200 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ e pH da solução 3. De acordo com a Figura 4.3, observa-se que as duas formas seguem a mesma tendência, sendo que a maior degradação de CIP ocorre quando não é realizada adição contínua de H_2O_2 ao processo. Ou seja, os melhores resultados se mostram quando a adição de H_2O_2 é realizada apenas no início do processo, e assim vai se consumindo. Além disso, o consumo de peróxido é menor, favorecendo uma economia de reagentes.

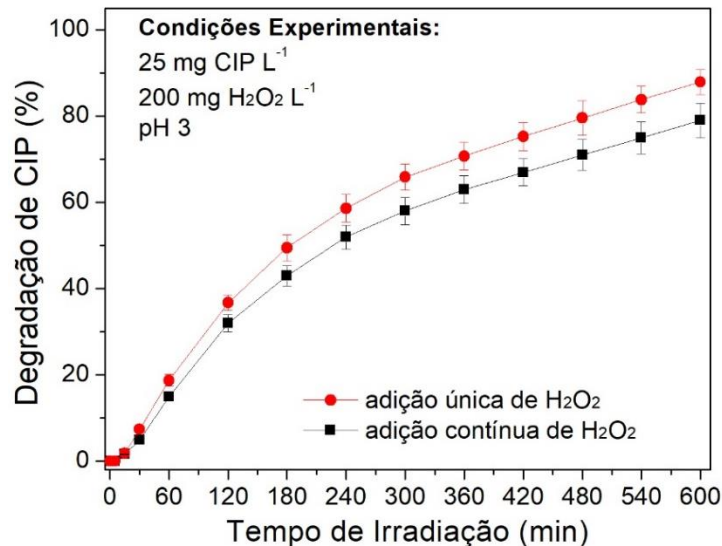


Figura 4.3 - Influência da adição única ou contínua de H_2O_2 (conc.) em função do tempo de irradiação. Degradação de CIP (%).

Portanto, através dos testes preliminares foi possível verificar que o processo UV-C/ H_2O_2 obteve seus melhores resultados operando na faixa de 200 a $500 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$, pH da solução ácido (~ 3) e tempo de tratamento de 600 min. Desta forma, foi possível identificar as melhores faixas de valores dos POR para posterior avaliação através do planejamento DCCR.

4.3.2 Design experimental e análise estatística

De modo a maximizar a eficiência do processo UV-C/ H_2O_2 aplicado na solução de CIP e com base nos resultados obtidos através dos testes preliminares, foi

realizado um planejamento experimental do tipo DCCR, composto por 11 experimentos, sendo estes realizados de forma aleatória, visando a minimização de erros.

Os 11 ensaios experimentais, com seus resultados de degradação e mineralização de CIP pelo processo UV-C/H₂O₂ com tempo de irradiação de 600 min são apresentados na Tabela 4.2.

Além disso, para todos os experimentos foram realizadas cinéticas, em que os resultados estão apresentados nos apêndices, numerados como Tabela 1, 2, 3 e 4.

Tabela 4.2 - Dados experimentais do DCCR para a degradação e mineralização de CIP em 600 min de reação.

Exp.	Concentração inicial de H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)		pH da solução		Degradação de CIP (%)	Mineralização de CIP (%)
	Valor codificado	Valor real (q_1)	Valor codificado	Valor real (q_2)		
1	-1	100	1	8	68,1	14,3
2	1	300	1	8	84,3	23,3
3	1	300	-1	4	96,7	40,7
4	0	200	0	6	88,7	18,0
5	-1,41	58,6	0	6	66,9	2,2
6	0	200	1,41	8,8	80,6	10,8
7	0	200	0	6	87,9	18,0
8	-1	100	-1	4	80,3	30,8
9	1,41	341,4	0	6	93,1	22,0
10	0	200	-1,41	3,2	96,9	44,5
11	0	200	0	6	88,0	18,2

Analisando os dados da Tabela 4.2, foi observado que os resultados obtidos apresentaram variações na degradação de 67 - 97% e mineralização de 2 a 45% de CIP em solução, observando influência significativa das variáveis q_1 (concentração inicial de H₂O₂) e q_2 (pH da solução). Além disso, os experimentos realizados em condições de pH ácido apresentaram maior eficiência comparado com os em pH básico, comprovando o que foi observado nos testes preliminares. Ao mesmo tempo, verificou-se que em concentrações de H₂O₂ baixas (58,6 e 100 mg L⁻¹), os resultados apresentaram eficiências inferiores, comparado com concentrações de H₂O₂ mais elevadas (200 a 341,4 mg L⁻¹), sendo isso observado para a degradação, bem como para a mineralização de CIP.

A degradação e mineralização da CIP foram avaliadas como funções dos parâmetros lineares q_1 e q_2 , parâmetros quadráticos $(q_1)^2$ e $(q_2)^2$, assim como sua interação linear, gerando as equações polinomiais de segunda ordem apresentadas pelas Equações 4.3 e 4.4, respectivamente. Os modelos ajustados apresentaram boa reprodutibilidade dos resultados experimentais, predizendo valores de 95,6% de degradação e 45,4% de mineralização de CIP na condição ótima apresentada na Experimento 10 da Tabela 4.2.

$$R_{[\text{Degradação de CIP}]} = 67,82 + 0,27q_1 - 4,61 \times 10^{-4}(q_1)^2 - 2,21q_2 - 6,18 \times 10^{-2}(q_2)^2 - 1,72 \times 10^{-4}(q_1q_2) \quad (4.3)$$

$$R_{[\text{Mineralização de CIP}]} = 92,24 + 0,11q_1 - 1,14 \times 10^{-4}(q_1)^2 - 25,30q_2 + 1,70(q_2)^2 - 1,16 \times 10^{-3}(q_1q_2) \quad (4.4)$$

De acordo com o coeficiente linear positivo (q_1), espera-se que maiores concentrações de H_2O_2 tornem o processo UV-C/ H_2O_2 mais eficiente na degradação e mineralização de CIP em solução. Além disso, espera-se uma maior eficiência do processo quando utilizado valores de pH mais baixos. Analisando as Equações 4.3 e 4.4, espera-se uma faixa de concentração intermediária de H_2O_2 que seja adequada para aumentar a eficiência do processo, uma vez que o excesso de H_2O_2 em solução acaba reagindo como os radicais OH^\bullet e formando o radical hidroperoxila, sendo este menos eficiente (MALATO et al., 2009) para o processo UV-C/ H_2O_2 .

A significância dos efeitos dos POR e suas possíveis ações combinadas foram verificadas aplicando a ANOVA, com o objetivo de validar o ajuste do modelo proposto pelos resultados obtidos, conforme apresentado na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Teste ANOVA two-way do modelo previsto para a degradação e mineralização de CIP pelo processo UV-C/ H_2O_2 em 600 min de irradiação, para um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

Parâmetro	Fontes de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F		Nível de Significância (%)
					Calculado	Tabelado	
Degradação de CIP (%)	Regressão	1018,10	5	203,62	89,18	5,05	0,01
	Resíduo	11,42	5	2,28			
	Total	1029,52	10				
Mineralização de CIP (%)	Regressão	1414,76	5	282,95	10,01	5,05	0,05
	Resíduo	141,27	5	28,25			
	Total	1556,03	10				

De acordo com a ANOVA, os valores de $F_{\text{calculado}}$ obtidos foram 89,18 e 10,01 para a degradação e mineralização de CIP, respectivamente. Ambos os valores são superiores ao F_{tabelado} (5,05), sugerindo que a influência dos efeitos no processo é estatisticamente significativa ($p\text{-valor} < 0,05$) para ambos os modelos.

A análise estatística das variáveis de resposta fornece o grau de significância ou de importância de cada coeficiente proposto o modelo de ajuste da eficiência do processo UV-C/H₂O₂ na degradação e mineralização de CIP. Sendo assim, os efeitos significativos ($p\text{-valor} < 0,05$) das influências positivas e negativas dos parâmetros q_1 e q_2 são apresentados pelos gráficos de Pareto, mostrados na Figura 4.4. O teste estatístico *T-student* apresentou valores positivos ($q_1 = 16,30$; 3,12) e negativos ($q_2 = -11,13$; -5,41) para a degradação e mineralização da CIP, respectivamente.

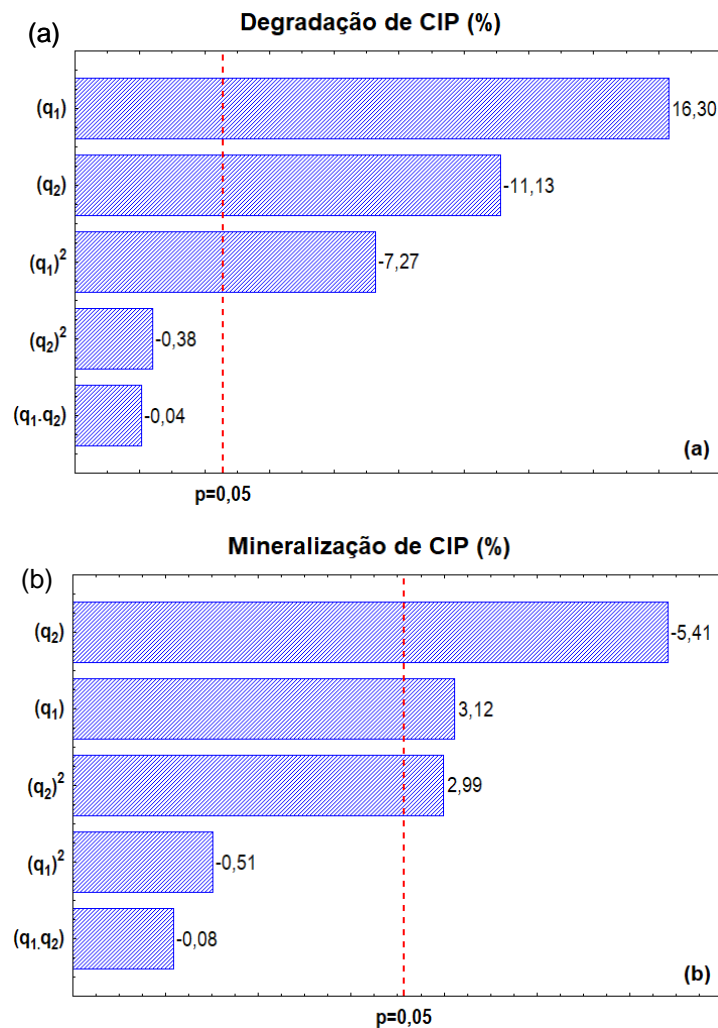


Figura 4.4 - Gráficos de Pareto dos efeitos lineares (q_1 e q_2), quadráticos (q_1^2 e q_2^2) e sua interação linear ($q_1 \cdot q_2$). Sendo, q_1 a concentração inicial de H₂O₂ e q_2 o pH da solução. (a) Degradação e (b) Mineralização da CIP (%).

O efeito positivo de q_1 e o efeito negativo de q_2 sugerem que as melhores eficiências de degradação e mineralização de CIP são obtidas com maiores concentrações de H_2O_2 (200 - 341,1 mg L⁻¹) e menores valores de pH da solução (3,2 - 4).

Baseado nos resultados da degradação e mineralização de CIP e no modelo de segunda ordem proposto (Equação 3.1), a correlação entre os valores da degradação e mineralização observados nos testes experimentais e os valores preditos pelo modelo estatístico foi analisada. Foi obtido um ajuste linear para a degradação e mineralização de CIP, obtendo coeficientes de determinação (r^2) de 0,989 e 0,909, respectivamente, conforme pode ser visualizado na Figura 4.5.

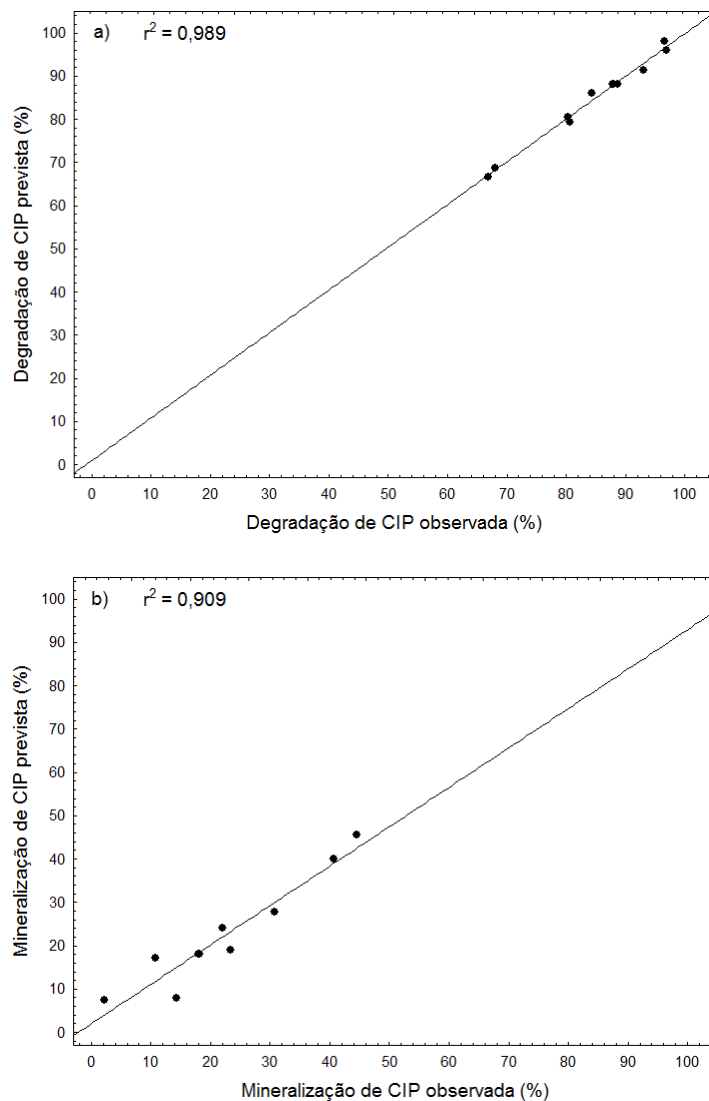


Figura 4.5 - Correlação entre os valores observados da degradação de CIP (a) e da mineralização de CIP (b) e seus valores correspondentes previstos pelo modelo estatístico proposto para o tratamento da solução pelo processo UV-C/ H_2O_2 .

Para a melhor visualização dos resultados experimentais obtidos através do DCCR e a análise dos POR foram desenvolvidos gráficos tridimensionais de superfície de resposta para a degradação e mineralização da CIP como funções da concentração de H_2O_2 e pH da solução, e apresentadas na Figura 4.6.

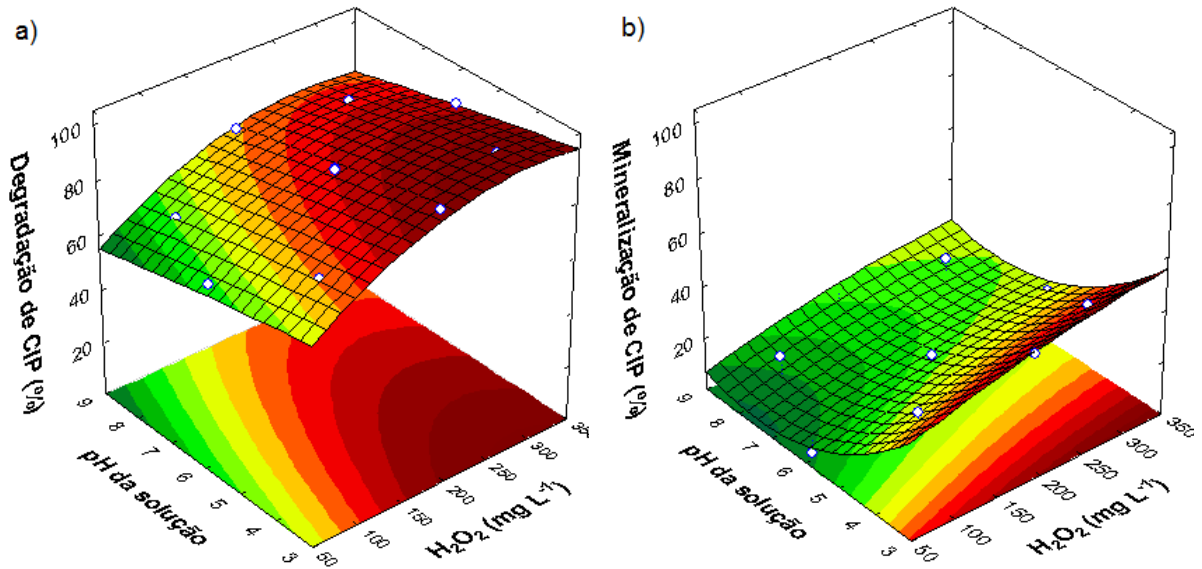


Figura 4.6 - Superfícies de resposta 3D para os dados de (a) degradação e (b) mineralização de CIP (%) pelo processo UV-C/ H_2O_2 em 600 min. de irradiação.

Observa-se pela Figura 4.6 que condições experimentais de aproximadamente $200 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ e pH próximo a 3,2, atingiram desempenho de 97% de degradação e 43% de mineralização de CIP.

O mesmo foi observado utilizando a metodologia da função Desejabilidade proposta por Costa et al. (2011), onde todas as variáveis interferentes ($[\text{H}_2\text{O}_2]$ e pH da solução) foram analisadas em uma única função composta. Essa metodologia permite que se obtenham respostas que indicam as condições em que ocorrem maiores eficiências na degradação e mineralização do contaminante. Os resultados apontados pela função, observada na Figura 4.7 apresenta que com o fotoreator operando nas condições de $200 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ e pH da solução 3,2, as variáveis apontam 98% de desejabilidade.

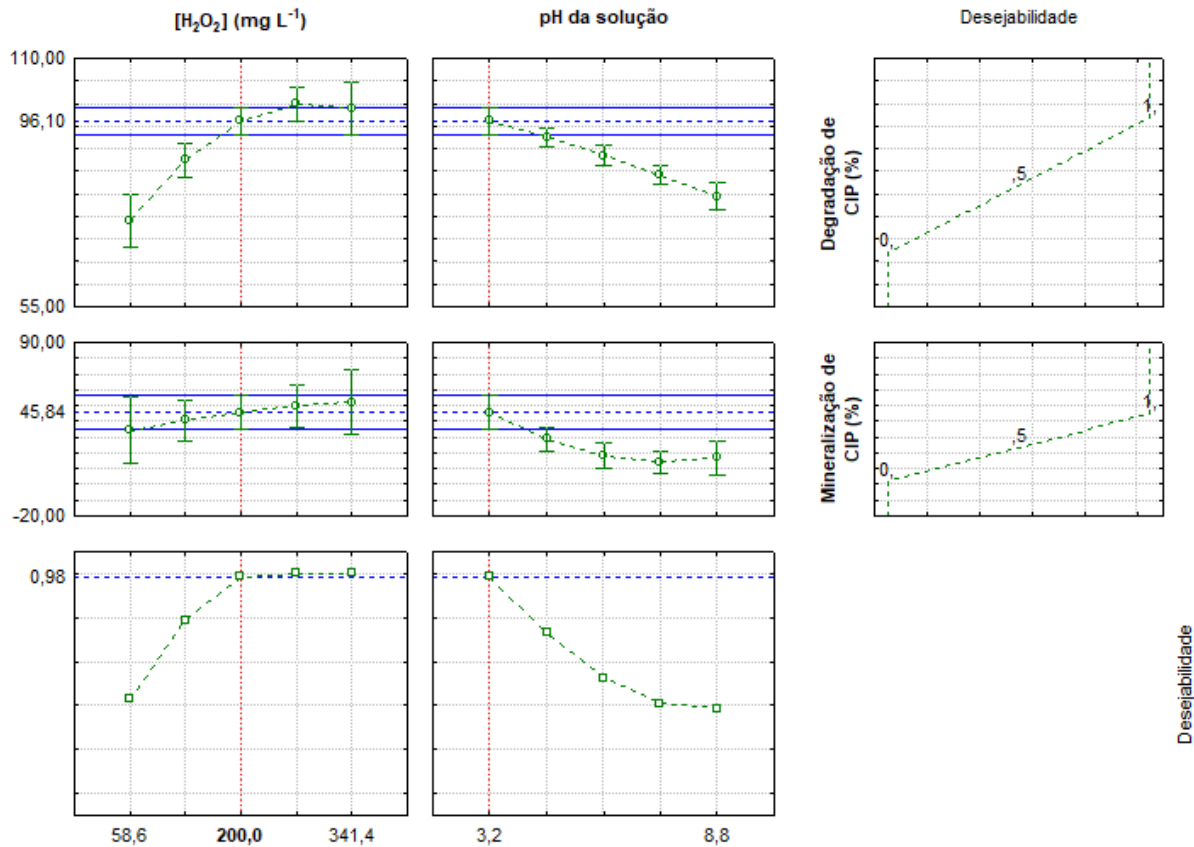


Figura 4.7 - Perfis da concentração inicial de H_2O_2 (mg L^{-1}) e do pH da solução em função de desejabilidade na degradação e mineralização de CIP (%).

Ainda, de acordo com a função Desejabilidade, em relação a concentração de H_2O_2 , além da concentração de $200 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$, valores de 200 e $341,4 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ também são capazes de assegurar uma eficiência semelhante do processo. Estes resultados também foram observados através da Metodologia de Superfície de Resposta. Logo, visando a redução dos custos do processo, é preferível a utilização de concentrações menores de oxidante ($200 \text{ mg H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$).

Quanto ao pH da solução, o melhor valor encontrado é o pH 3,2. pHs acima deste valor acabam por reduzir a eficiência do processo, não ocorrendo a formação de radicais hidroxila, importantes para formação de íons menos seletivos, gerando água, CO_2 e íons inorgânicos.

4.3.3 Avaliação cinética

A fim de avaliar o desempenho dos ensaios experimentais do planejamento DCCR, foi realizado um estudo cinético em tempos de irradiação de 5 a 600 min (Tabela 4.2) e apresentados nas Figuras 4.8 e 4.9.

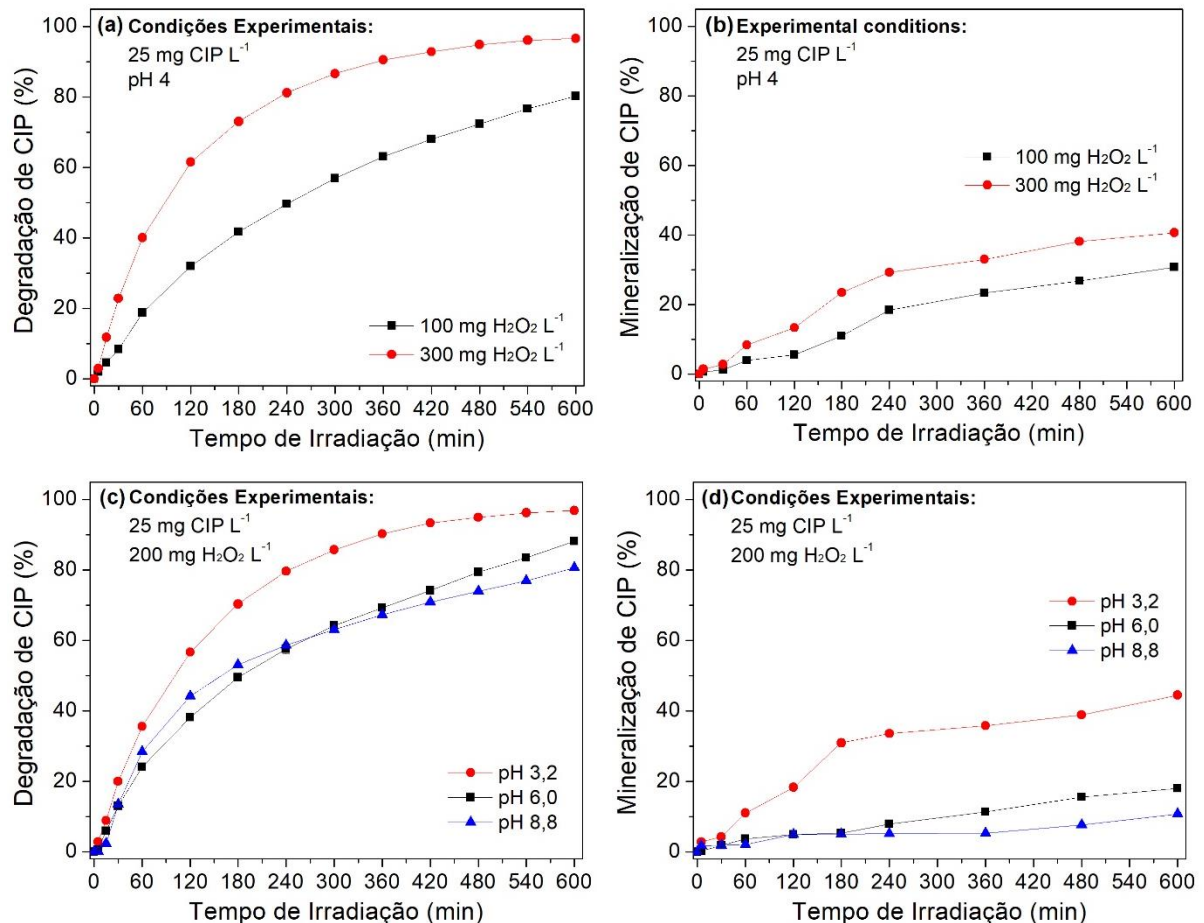


Figura 4.8 - Dados experimentais da cinética do DCCR do processo UV-C/H₂O₂ na degradação e mineralização de CIP.

Aplicando concentrações iniciais de 100 e 300 mg H₂O₂ L⁻¹, em pH 4, foi observado um aumento na eficiência com o tempo de irradiação, atingindo, em 600 min, valores máximos de 97 e 41% de degradação e mineralização de CIP, respectivamente, para a concentração de 300 mg H₂O₂ L⁻¹ (ver Figura 4.8ab). Isso pode estar relacionado com a relação adequada entre o agente oxidante (H₂O₂) e o contaminante alvo (CIP). Segundo Zhang et al., (2009); Haji et al., (2011) e Brillas et al., (2009), concentrações insuficientes de H₂O₂ podem minimizar a formação de OH[•] no sistema reacional, limitando a taxa de oxidação necessária para degradar e/ou

mineralizar o poluente. A insuficiência da concentração de H_2O_2 é bem conhecida na literatura como um inconveniente do processo UV-C/ H_2O_2 (ATMACA, 2009; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017).

Utilizando condições experimentais de pH da solução de 3,2; 6,0 e 8,8, foi verificado que o melhor desempenho do processo foi obtido em pH da solução de 3,2, atingindo 97 e 44% de degradação e mineralização de CIP, respectivamente (Figura 4.8cd).

O processo UV-C/ H_2O_2 apresenta maiores eficiências em pH ácido (3 - 4) (Gálvez et al., 2001), pois a alcalinidade do meio reacional está associada à formação de ânions hidróperóxidos (HO_2^-), que reduzem a geração de OH^\bullet e inibem a degradação dos contaminantes (OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017). Estudos relatados por Moussavi et al. (2018) sobre a degradação do Bisfenol A por UV-C/ H_2O_2 e V-UV/ H_2O_2 identificaram uma redução do potencial redox de OH^\bullet em pHs alcalinos, levando a uma baixa eficiência dos processos avaliados. Santos et al. (2015), obtiveram as maiores eficiências dos processos de oxidação Fenton-UV e UVC- H_2O_2 na degradação do antibiótico Norfloxacin na solução em pH 2 - 3. De acordo com Matafonova e Batoev (2018), a irradiação UV-C (254 nm) no pH da solução ácida (~ 3) fornece uma alta absorção de fótons na presença de H_2O_2 , levando a uma maior geração de OH^\bullet . Lin et al. (2016), obtiveram os melhores resultados de eficiência do processo UV-C_{254nm}/ H_2O_2 no tempo de irradiação de 180 min e pH da solução 3, atingindo as porcentagens máximas de degradação e mineralização do antibiótico ofloxacin de 99 e 89%, respectivamente.

De acordo com a Figura 4.9, o desempenho cinético em pHs mais elevados diminui, comparado com pHs inferiores. Utilizando concentrações iniciais de 100 e 300 mg H_2O_2 L⁻¹, em pH 8, foi observado um aumento na eficiência com o tempo de irradiação, atingindo, em 600 min, valores máximos de 84 e 23% de degradação e mineralização de CIP, respectivamente, para a concentração de 300 mg H_2O_2 L⁻¹ (ver Figura 4.9ab). O mesmo foi observado em condições fixas de pH 4. Comparando as Figura 4.8ab e 4,9ab pode-se observar que a melhor eficiência do processo ocorre em pH da solução 4 (pH ácido), comprovando o que observado anteriormente.

Avaliando os efeitos das concentrações iniciais de 58,6; 200; e 341,4 mg H_2O_2 L⁻¹ sob as condições iniciais de pH 6, observa-se que os melhores resultados ocorrem em concentração de 341,4 mg H_2O_2 L⁻¹. Em concentrações menores de oxidante, a eficiência do processo diminui. De acordo com o observado nos gráficos

tridimensionais de superfície de resposta (Figura 4.6), quanto maior o valor do pH, maior também deverá ser a concentração de oxidante. Apesar disso, em condições de pHs muito elevados ($\text{pH} > 4$) os íons carbonato e bicarbonato reagirão com os radicais OH^\bullet , atuando como eliminadores (LITTER, 2005). E com o oxidante em excesso ocorre a formação de radicais hidroperoxila, reduzindo assim a eficiência do processo (BOCZKAJ et al., 2017). Portanto, existe uma dosagem ótima de H_2O_2 para a qual a taxa de degradação é maximizada (LIN et al., 2016).

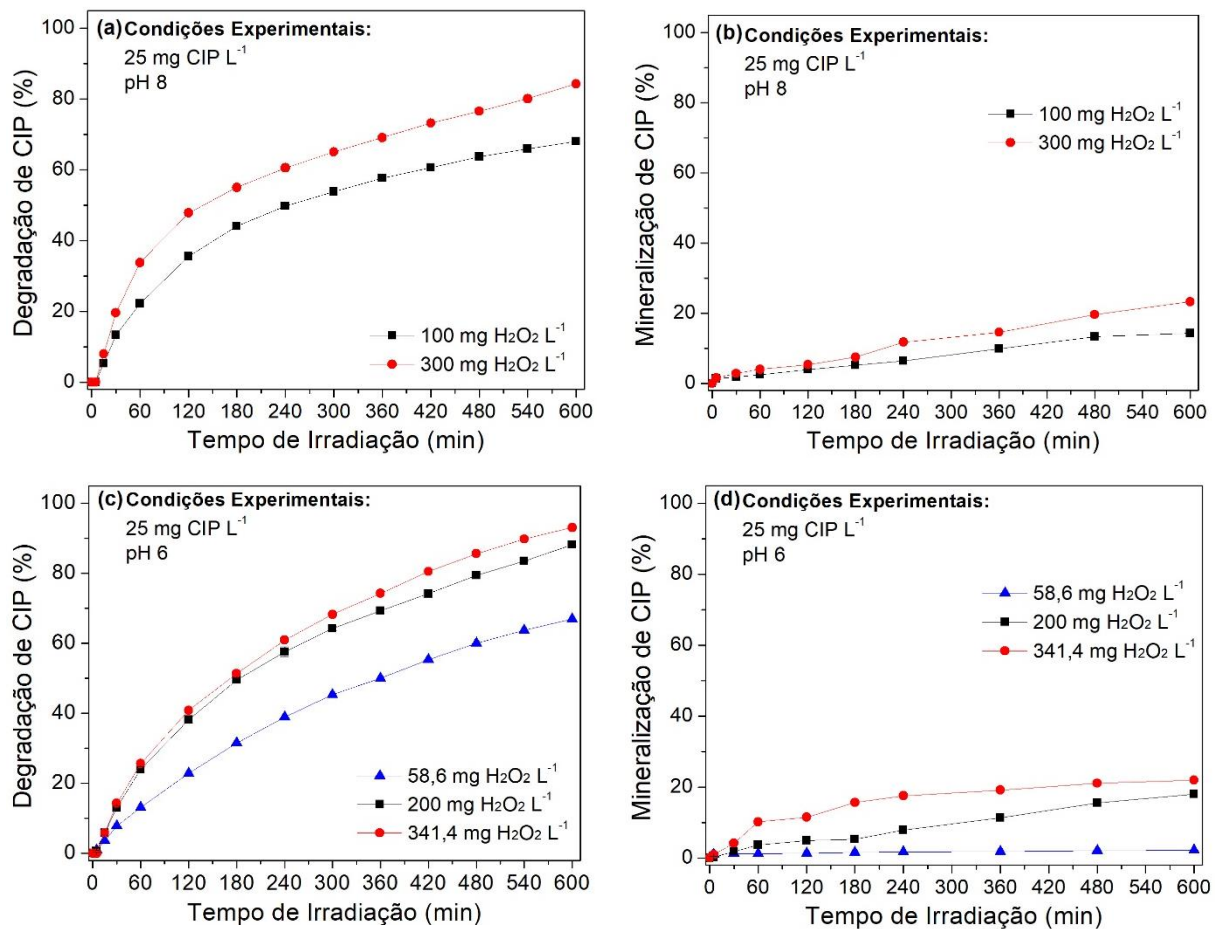


Figura 4.9 - Dados experimentais da cinética do DCCR do processo UV-C/ H_2O_2 na degradação e mineralização de CIP.

Comparando as Figuras 4.8 e 4.9, pode-se observar em relação ao pH que a eficiência do processo diminui à medida que o pH aumenta, sendo considerada a ordem de $\text{pH} 4 > \text{pH} 6 > \text{pH} 8$. Resultados semelhantes foram observados por Lin et al. (2016), onde foi avaliada a degradação da ofloxacina pelo processo UV/ H_2O_2 , seguindo a ordem $\text{pH} 3 > \text{pH} 7 > \text{pH} 11$.

4.4 IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS

Após a realização de ensaios experimentais com a melhor condição do processo UV-C/H₂O₂ (200 mg H₂O₂ L⁻¹, pH da solução 3,2 e 25 mg CIP L⁻¹), foi realizada a determinação de compostos intermediários formados ao longo do processo, sendo retiradas alíquotas nos tempos de 30, 60, 180, 300, 420 e 600 min.

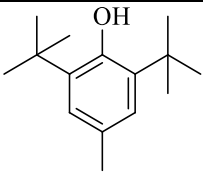
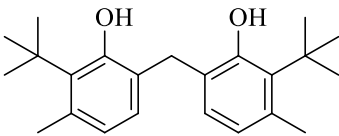
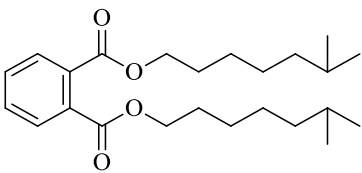
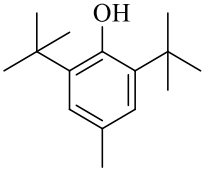
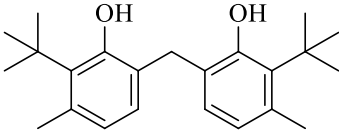
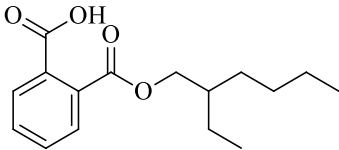
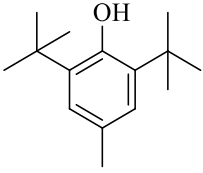
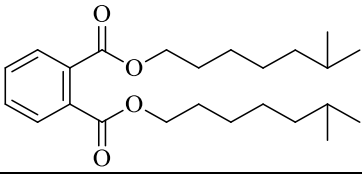
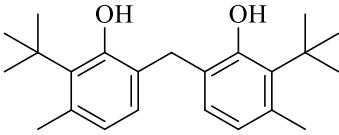
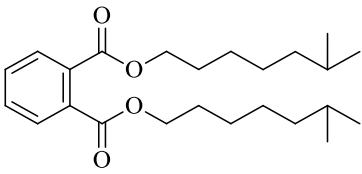
A formação de subprodutos pelo processo UV-C/H₂O₂ na degradação/mineralização de CIP está resumida na Tabela 4.4.

Nos tempos de retenção ($T_{r_{min}}$) 10,24 e 14,62, foram identificados os compostos hidroxitolueno butilados (BHT) e bis(2-*terc*-butil)-3-metilfenol)-6,6'-metileno), respectivamente. Esses subprodutos são antioxidantes fenólicos utilizados em materiais como plásticos, borracha, produtos alimentícios e farmacêuticos (RODIL et al., 2010; TAKAHASHI; OISHI, 2005; LIU et al., 2017). Estes já foram relatados em diferentes meios e concentrações, tais como, material particulado (LIU et al., 2017), águas superficiais (FRIES; PÜTTMANN, 2002) e esgotamento doméstico (LIU et al., 2015). De acordo com Witschi (1986) e Botterweck et al. (2000), a toxicidade desses compostos e sua exposição com o ser humano proporciona aspectos ligados diretamente com mutações e tumores no estômago, fígado e pulmões.

Pandey et al. (2014), realizaram um estudo citológico com pontas de raiz de *Allium cepa* para investigar o impacto compostos, incluindo o BHT nas concentrações 1000, 1500, 2000 e 25000 mg L⁻¹, resultando em um aumento percentual de anormalidades através do aumento da concentração do composto e o tempo de exposição. Takahashi e Oishi (2005), verificaram a toxicidade do composto 2,2-metilenebis (6-*terc*-butil-4-metilfenol) em testes histomorfométricos utilizando testículos de rato.

Em $T_{r_{min}}$ 15.28 foram verificados compostos da classe dos ftalatos, tais como éster mono-2-etilhexílico do ácido ftálico e ftalato de diisooctila ou ftalato de bis (6-metilheptila), com características de variação em suas cadeias estruturais e laterais, aplicados em produtos plásticos para proporcionar estabilidade química (BENJAMIN et al., 2015). Compostos similares do grupo ftalatos foram reportados por Bueno et al. (2018), provenientes da degradação da CIP via peroxidação eletroquímica, indicando elevados índices de toxicidade monitorados com o bioindicador *Lactuca sativa*.

Tabela 4.4 - Identificação de subprodutos intermediários formados durante o processo UV-C/H₂O₂ na degradação e mineralização de CIP.

Tempo de irradiação (min)	Tr(min)	Fórmula molecular	Estrutura molecular	Número CAS
30	10.24	C ₁₅ H ₂₄ O		128-37-0
	14.62	C ₂₃ H ₃₂ O ₂		119-47-1
	15.28	C ₂₄ H ₃₈ O ₄		27554-26-3
60	10.24	C ₁₅ H ₂₄ O		128-37-0
	14.62	C ₂₃ H ₃₂ O ₂		119-47-1
	15.28	C ₁₆ H ₂₂ O ₄		4376-20-9
180 - 300	10.24	C ₁₅ H ₂₄ O		128-37-0
	15.28	C ₂₄ H ₃₈ O ₄		27554-26-3
420 - 600	14.62	C ₂₃ H ₃₂ O ₂		119-47-1
	15.28	C ₂₄ H ₃₈ O ₄		27554-26-3

Consolidando esta performance existe a necessidade de destruição destes subprodutos persistentes no meio ambiente, minimizando os efeitos de disfunções no sistema endócrino, defeitos congênitos, reversão sexual e malformações sexuais (BENJAMIN et al., 2015; JOSH et al., 2012).

4.5 TESTES DE GENOTOXICIDADE

Ensaio de genotoxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* foram realizados nos tempos de 30 a 600 min do processo UV-C/H₂O₂ com as seguintes condições experimentais: solução pH 3,2 e concentração inicial de 200 mg H₂O₂ L⁻¹. As amostras de solução de CIP tratada nos tempos de irradiação 30 a 300 min apresentaram um menor IM do que a solução de CIP não tratada, variando de 0,6 a 0,9 % (Tabela 4.5), indicando para estas condições efeitos clastogênicos altamente tóxicos, podendo provocar alterações irreversíveis no DNA das células das raízes de *Allium cepa* (MAJER et al., 2005).

Tabela 4.5 - Quantificação do Índice Mitótico (IM) (%) nas células das raízes de *Allium cepa* expostas a solução de CIP tratada e não tratada pelo processo UV-C/H₂O₂.

	Tempo de Irradiação (min)							
	Controle Água destilada	CIP não tratada	30	60	180	300	420	600
Índice Mitótico (IM) (%)	7.63±0.2	1.96±0.2	0.86±0.1	0.60±0.1	0.90±0.1	0.76±0.1	2.10±0.2	2.63±0.3

Uma análise de microscopia óptica em uma amostra de CIP tratada com tempo de irradiação de 60 min. identificou alterações nos estágios celulares, induzindo a uma ampla gama de anormalidades mitóticas em relação ao controle das raízes de *Allium Cepa*. Segundo Leme e Marin-Morales (2009), quanto menor o IM, maiores são as possibilidades de ocorrência de aberrações cromossômicas, tais como, células dos brotos nucleares, c-mitose, núcleos irregulares, ponto telófase, apoptose e stikness, conforme apresentado na Figura 4.10.

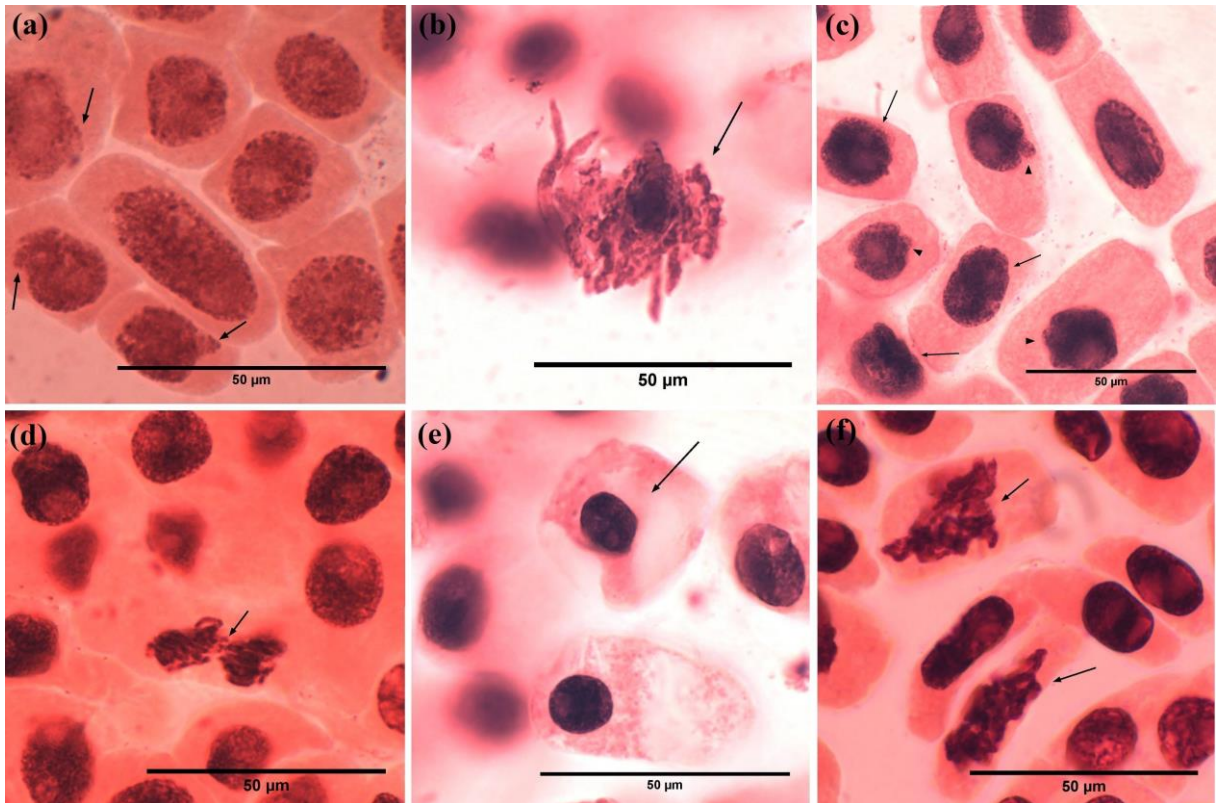


Figura 4.10 - Aberrações cromossômicas da amostra tratada pelo processo UV-C/H₂O₂ em tempo de irradiação de 60 min. (a) brotos nucleares, (b) c-mitose, (c) núcleos irregulares e brotos nucleares, (d) ponte telófase, (e) apoptose, (f) stickiness.

Foi observado um aumento de 2,1 e 2,63% nos tempos de irradiação de 420 e 600 min., respectivamente, indicando uma possível redução no potencial tóxico e citotóxico dos contaminantes presentes na solução, o que pode estar associado à ausência do composto hidroxitolueno butilados (BHT) (ver Tabela 4.4 - Tr_{min} 10.24).

Com a aplicação do processo UV-C/H₂O₂ para degradação da CIP em tempos de irradiação superiores a 420 min. foi possível verificar um aumento do IM de 1,96 a 2,63%, conduzindo a minimização dos efeitos adversos da genotoxicidade no ambiente aquático.

4.6 PERFORMANCE DA AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA

Além dos testes de genotoxicidade, no caso de estudos com antibióticos, as análises antimicrobianas são de fundamental importância. A partir destas análises é possível identificar a presença ou não da CIP nas soluções tratadas através de processo UV-C/H₂O₂. Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados para o

processo UV-C/H₂O₂ sob as condições experimentais de 25 mg CIP L⁻¹, 200 mg H₂O₂ L⁻¹ e pH da solução 3,2 nos tempos de irradiação de 5 a 600 min. As Figuras 4.11 e 4.12 apresentam a tendência dos diâmetros dos halos de inibição das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

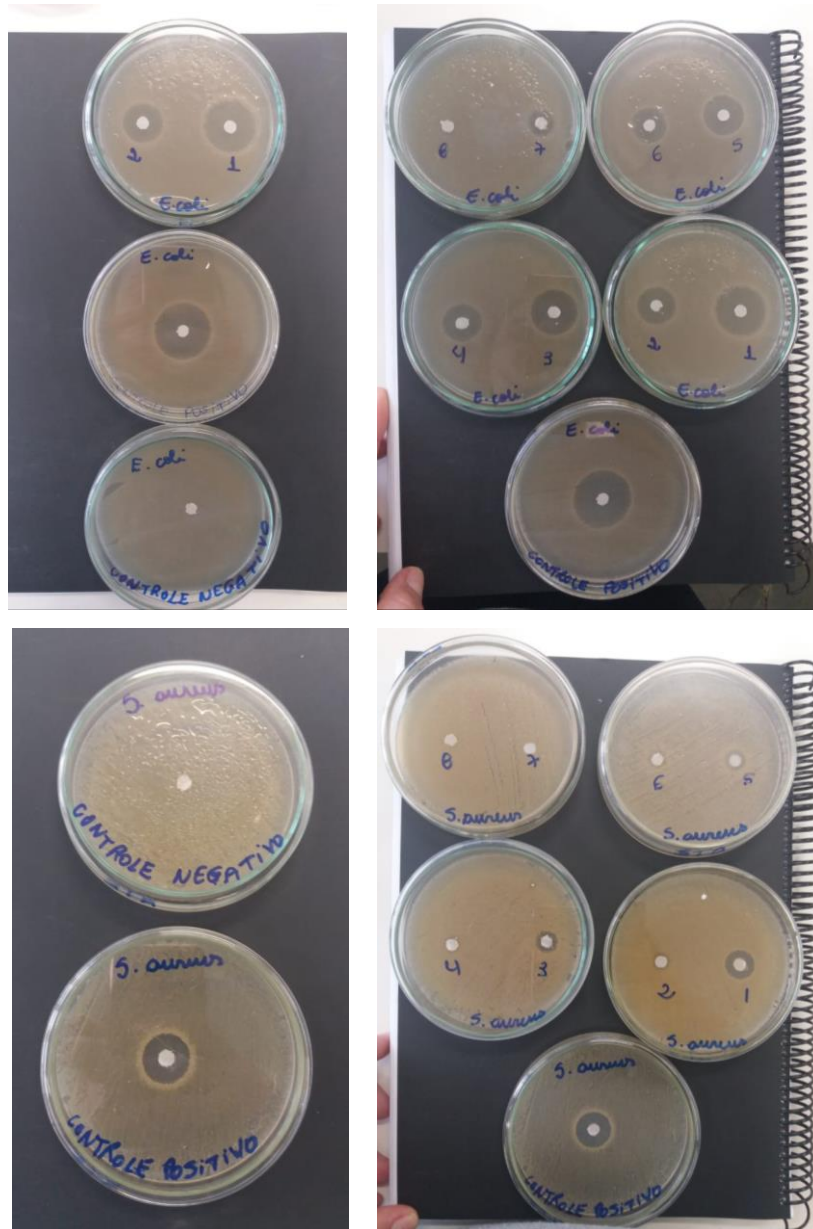


Figura 4.11 - Performance do diâmetro do halo de inibição em função do tempo de irradiação para os microrganismos *E. coli* e *S. aureus*. Controle positivo: 25 mg CIP L⁻¹; Controle negativo: água purificada estéril; 1 - 5 min; 2 - 30 min; 3 - 60 min; 4 - 120 min; 5 - 180 min; 6 - 300 min; 7 - 420 min; 8 - 600 min.

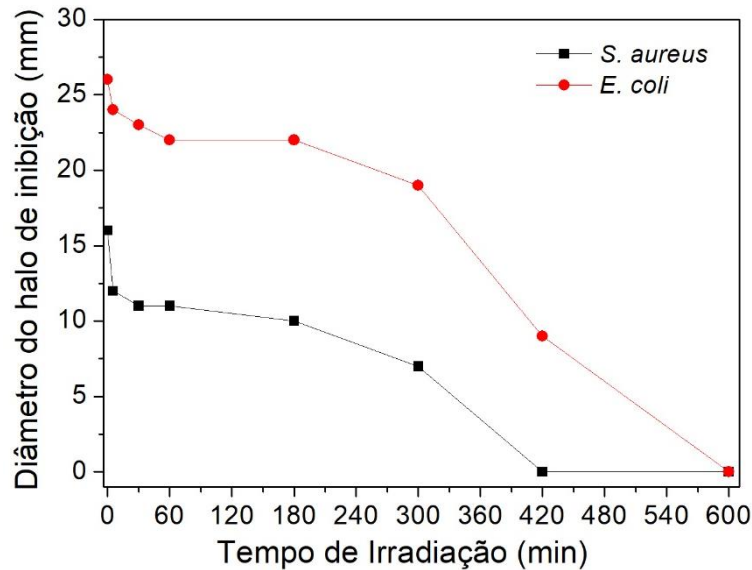


Figura 4.12 - Performance do diâmetro do halo de inibição em função do tempo de irradiação para os microrganismos *E. coli* e *S. aureus*.

Uma performance suavizada de inibição dos halos dos microrganismos foi observada nas amostras de tempo de irradiação até 300 min., podendo este fato estar associado a presença de compostos recalcitrantes e refratários, conforme indicado na Tabelas 4.4 e 4.5, onde apresentam a presença do composto hidroxitolueno butilados (BHT) e o baixo índice mitótico de 0,76%, respectivamente. Em tempos superiores a 420 min. ocorre para ambos os microrganismos um rápido decréscimo na inibição do crescimento dos halos das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, conduzindo para uma inibição nula (diâmetro do halo = 0) na amostra de 600 min, sugerindo a possibilidade de degradação do agente antimicrobiano (97% remoção de CIP) (ver Figura 4.8c). Contribuindo com esta possibilidade, está associado o aumento do índice mitótico para 2.63% em 600 min. de tratamento via UV-C/H₂O₂ (ver Tabela 4.5).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado nos objetivos deste trabalho e de acordo com os resultados observados, as condições ótimas do processo UV-C/H₂O₂ foram: concentração inicial de 200 mg H₂O₂ L⁻¹ e pH da solução 3,2. Estas condições foram obtidas com o desenvolvimento de uma MSR baseada em delineamento experimental, atingindo em tempo de 600 min de irradiação, a degradação e mineralização de CIP de 97% e 44%, respectivamente.

Os testes actinométricos indicaram intensidade de radiação e comprimento do caminho de luz do reator empregando fonte de irradiação suspensa (UV-C_{254nm}) e refletores laterais utilizados no módulo experimental do reator UV-C/H₂O₂.

A formação de subprodutos intermediários, como antioxidantes fenólicos e ftalatos, foi verificada durante os tempos de irradiação de 30 a 600 minutos.

A aplicação de testes de genotoxicidade (*Allium cepa*) sobre a solução de CIP tratada mostrou um aumento do IM, nos tempos de 420 e 600 min., indicando a minimização dos seus efeitos adversos no ambiente aquático.

A realização de testes antimicrobianos apresentou uma inibição do diâmetro de halo em tempos de irradiação superiores a 420 min., contribuindo para a redução dos efeitos adversos causados ao meio ambiente.

De maneira geral, um excelente desempenho do processo UV-C/H₂O₂ na descontaminação da solução de CIP foi observado, sugerindo a possibilidade de sua aplicação na redução dos efeitos tóxicos, carcinogênicos e mutagênicos causados pelo descarte inadequado de CE em corpos d'água.

REFERÊNCIAS

ABREU, B. R. R.; THOMÉ, S.; LEHMANN, M.; DIHL, R. R. Investigação da atividade mutagênica de dois agentes antibacterianos em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, 2011.

AFONSO-OLIVARES, C.; FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.; OJEDA-GONZÁLEZ, R. J.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J.; DOÑA RODRÍGUEZ, J. M. Estimation of kinetic parameters and UV doses necessary to remove twenty-three pharmaceuticals from pre-treated urban wastewater by UV/H₂O₂. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 329, p. 130-138, 2016.

AGUIAR, A. M. S.; NETO, M. L. F.; BRITO, L. L. A.; REIS, A. A.; MACHADO, P. M. R.; SOARES, A. F. S.; VIEIRA, M. B. C. M.; LIBÂNIO, M. Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na desinfecção de águas com turbidez e cor moderadas. Artigo técnico. **Engenharia sanitária e ambiental**, v. 7, nº 1 jan/mar 2002 e nº 2 - abr/jun 2002.

AIUB, C. A. F.; FELZENSWALB, I. O uso de *Allium cepa* como modelo experimental para investigar genotoxicidade de substâncias usadas em conservantes alimentares. **Revista Genética na Escola**, v. 6, n. 1, p. 12-15, 2011.

ALONSO, J. J. S.; EL KORI, N.; MELIÁN-MARTEL, N.; RÍO-GAMERO, B. D. Removal of ciprofloxacin from seawater by reverse osmosis. **Journal of Environmental Management**, v. 217, p. 337-345, 2018.

AMÉRICO, J.; TORRES, N.; AMÉRICO G.; CARVALHO S. Ocorrência, destino e potenciais impactos dos fármacos no ambiente. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 8, n. 2, p. 59-72, 2013.

AMÉRICO, M. A.; MOSSIN, S. A. G.; NISHIYAMA, P. Perfil de fármacos por espectrofotometria no ultravioleta. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n. 4, p. 257-259, 2008.

AMETA, R.; KUMAR, A.; PUNJABI, P. B.; AMETA, S. C. Advanced oxidation Processes: Basics and Principles, in: F.S. Rao DG, Senthilkumar R, Anthony Byrne J (Ed.), **Wastewater Treatment: Advanced Processes and Technologies**, 2013 th ed., CRC Press and IWA publishing, USA, p. 61-107, 2013.

ANVISA. CIPRO Bayer. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=7475622014&pIdAnexo=2199608>. Acesso em: 12/jun/2018.

APHA (American Public Health Association); AWWA (American Water Works Association); WEF (Water Environment Federation). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21^a Ed. Washington – DC: APHA, 2005.

ARAÚJO, K. S.; ANTONELLI, R.; GAYDECZKA, B.; GRANATO, A. C.; MALPASS, G. R. P. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, n. 2, 2016.

ATMACA, E. Treatment of landfill leachate by using electro-Fenton method. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, n. 1, p. 109-114, 2009.

BARAN, W.; ADAMEK, E.; ZIEMIA_NSKA, J.; SOBCZAK, A. Effects of the presence of sulphonamides in the environment and their influence on human health. **Journal of Hazardous Materials**, v. 196, p. 1-15, 2011.

BARBERIO, A., VOLTOLINI, J.C., MELLO, M.L.S. Standardization of bulb and root sample sizes for the *Allium cepa* test. **Ecotoxicology**, v. 20, p. 927-935, 2011.

BELDEN, J.B.; MAUL, J.D.; LYDY, M.J. Partitioning and photodegradation of ciprofloxacin in aqueous systems in the presence of organic matter. **Chemosphere**, v. 66, n. 8, p. 1390-1395, 2007.

BENJAMIN S, PRADEEP S, JOSH MS, KUMAR S, MASAI E. A monograph on the remediation of hazardous phthalates. **Journal of Hazardous Materials**, v. 298, p. 58-72, 2015.

BENSALAH, N.; KHAOULA, C.; BEDOUI, A. Efficient degradation of tannic acid in water by UV/H₂O₂ Process. **Sustainable Environmental Research**, v. 28, n. 1, p. 1-11, 2018.

BERTANZA, G.; PAPA, M.; PEDRAZZANI, R.; REPICE, C.; MAZZOLENI, G.; STEIMBERG, N.; FERETTI, D.; CERETTI, E.; ZERBINI, I. EDCs, estrogenicity and genotoxicity reduction in a mixed (domestic + textile) secondary effluent by means of ozonation: a full-scale experience. **Science of The Total Environment**, v. 458-460, p. 160 - 168, 2013.

BETHI, B.; SONAWANE, S. H.; BHANVASE, B. A.; GUMFEKAR, S. Nanomaterials based Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment: A review. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 109, p. 178-189, 2016.

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

BIÑ, A. K.; SOBERA-MADEJ, S. Comparison of the Advanced Oxidation Processes (UV, UV/H₂O₂ and O₃) for the Removal of Antibiotic Substances during Wastewater Treatment. **Ozone: Science & Engineering**, v. 34, p. 136-139, 2012.

BLANCO, J. G.; MALATO, S. R. Solar Detoxification. Plataforma Solar de Almeria, Spain. **United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization**. 246 p. 2003.

BOCZKAJ, G.; FERNANDES, A. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes at basic pH conditions: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 320, p. 608-633, 2017.

BOJANOWSKA-CZAJKA, A., DRZEWICZ, P., KOZYRA, C., NALECZ-JAWECKI, G., SAWICKI, J., SZOSTEK, B., TROJANOWICZ, M. Radiolytic degradation of herbicide 4-chloro-2-methyl phenoxyacetic acid (MCPA) by gamma-radiation for environmental protection. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, p. 265-277, 2006.

BORBA, F. H.; SEIBERT, D.; PELLEZ, L.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; BORBA, C. E.; MÓDENES, A. N.; BERGAMASCO, R. Desirability function applied to the optimization of the Photoperoxi-Electrocoagulation process conditions in the treatment of tannery industrial Wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 23, p. 207-216, 2018.

BOTTERWECK, A. A.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R. A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P. A. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 7, p. 599-605, 2000.

BOXALL, A. B.A. The environmental side effects of medication. **EMBO Reports**, v. 5; n. 12, 2004.

BRAGA, J. R. M.; LOPES, D. M. Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando *Allium cepa* L. como bioindicador. **Revista Ambiente & Água**, v. 10, n. 1, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 3.916/GM de 30 de outubro de 1998.**

BRASLAVSKY, S. E. Glossary of terms used in Photochemistry. 3rd Edition, IUPAC Recommendations 2006. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 293-465, 2007.

BRILLAS, E.; SIRÉS, I.; OTURAN, M. A. Electro-Fenton Process and Related Electrochemical Technologies Based on Fenton's Reaction Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 109, p. 6570-6631, 2009.

BUENO, F.; BORBA, F. H.; PELLENZ, L.; SCHMITZ, M.; GODOI, B.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; PAULI, A. R.; MÓDENES, A. N. Degradation of ciprofloxacin by the Electrochemical Peroxidation process using stainless steel electrodes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 2, p. 2855-2864, 2018.

BU, Q.; WANG, B.; HUANG, J.; DENG, S.; YU, G. Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p. 189-211, 2013.

BUXTON, G. V.; GREENSTOCK, C. L.; HELMAN, P.; ROSS, A. B. Critical Review of Rate Constants for Reactions of Hydrated Electrons, Hydrogen Atoms and Hydroxyl Radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}$) in Aqueous Solution. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v. 17, n.2, p. 514-886, 1988.

CARDOZA, L.A.; KNAPP, C.W.; LARIVE, C.K.; BELDEN, J.B.; LYDY, M.J.; GRAHAM, D.W. Factors affecting the fate of ciprofloxacin in aquatic field systems. **Water, Air, Soil & Pollution**, v. 161, p. 383-398, 2005.

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

CHEN, B.; YANG, C.; GOH, N. K. Photolysis pathway of nitroaromatic compounds in aqueous solutions in the UV/H₂O₂ process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1061-1064, 2006.

CHRISTENSEN, F. M. Pharmaceuticals in the environment – a human risk? **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 28, n. 3, p. 212-221, 1998.

COLBORN, T., VOM SAAL, F. S., SOTO, A.M. Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. **Environmental Health Perspectives**, v. 101, n. 5, p. 378-384, 1993.

COLLINS, A. R.; AZQUETA, A. DNA repair as a biomarker in human biomonitoring studies; further applications of the comet assay. **Mutation Research**, v. 736, n. 1-2, p. 122-129, 2012.

COSTA, N.R., LOURENÇO, J., PEREIRA, Z.L. Desirability function approach: A review and performance evaluation in adverse conditions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 107, n. 2, p. 234-244, 2011.

CRITTENDEN, J.C., HU, S., HAND, D.W., GREEN, S.A. A kinetic model for H₂O₂/UV process in a completely mixed batch reactor. **Water Research**, v. 33, p. 2315-2328, 1999.

DANESHVAR, N., BEHNAJADY, M.A., MOHAMMADI, M.K.A., DORRAJI, M.S.S. UV/H₂O₂ treatment of Rhodamine B in aqueous solution: Influence of operational parameters and kinetic modeling. **Desalination**, v. 230, p. 16-26, 2008.

DEZOTTI, M. (Coord.). **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos**. Rio de Janeiro: E-papers, 2008.

EDALATMANESH, M., DHIB, R., MEHRVAR, M. Kinetic modeling of aqueous phenol degradation by UV/H₂O₂ process. **International Journal of Chemical Kinetics**, v. 40, p. 34-43, 2008.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; SOUZA, A. R. C.; MÓDENES, A. N.; TRIGUEROS, D. E. G; PAULI, A. R.; SOUZA, P. S. C.; KROUMOV, A. D. Removal performance, antibacterial effects, and toxicity assessment of ciprofloxacin treated by the electrocoagulation process. **Water Air Soil Pollution**. 227: 460, 2016.

FATMA, F.; VERMA, S.; KAMAL, A.; SRIVASTAVA, A. Monitoring of morphotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of mancozeb using Allium assay. **Chemosphere**, v. 195; p. 864-870, 2018.

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

FERETTI, D.; ZERBINI, I.; ZANI, C.; CERETTI, E.; MORETTI, M.; MONARCA, S. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. **Food Additives & Contaminants**, v. 24, n. 6, p. 561-572, 2007.

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

FIRBAS, P., AMON, T. *Allium* chromosome aberration test for evaluation effect of cleaning municipal water with constructed wetland (CW) in Sveti Tomaz, Slovenia. **Journal of Bioremediation and Biodegradation**, v. 4, p. 189-193, 2013.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas, New Jersey**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURÁN, N. PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química Nova**, v. 23, n. 4, 2000.

FRIES, E.; PÜTTMANN, W. Analysis of the antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT) in water by means of solid phase extraction combined with GC/MS. **Water Research**, v. 36, p. 2319-2327, 2002.

GÁLVEZ, J. B.; RODRÍGUEZ, S. M.; GASCA, C. A. E.; BANDALA, E. R.; GELOVER, S.; LEAL, T. Purificación de aguas por fotocatalisis heterogénea: estado del arte. In: CYTED. Eliminación de Contaminantes por Fotocatalisis Heterogénea, 2001.

GAVRILESCU, M., DEMNEROVA, K., AAMAND, J., AGATHOS, S., FAVA, F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2015.

GHODBANE, H.; HAMDAR, O. Decolorization of anthraquinonic dye, C.I. Acid Blue 25, in aqueous solution by direct UV irradiation, UV/H₂O₂ and UV/Fe(II) processes. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, p. 226-231, 2010.

GIGER, W. Produits chimiques: facteurs de risque pour l' environnement et la santé. **Eawag News**, v. 53, n. 1, p. 3-5, 2002.

GLAZE, W.H., LAY, Y., KANG, J.-W. Advanced Oxidation Processes. A Kinetic Model for the Oxidation of 1,2-Dibromo-3-chloropropane in Water by the Combination of Hydrogen Peroxide and UV Radiation. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 34, p. 2314-2323, 1995.

GOMÉZ, J.M., MEZCUA, M., MARTINEZ, M.J., FERNÁNDEZ-ALBA, A.R., AGÜERA, A. A new method for monitoring oestrogens, N-octylphenol, and bisphenol A in wastewater treatment plants by solid-phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 86, n. 2, p. 3-13, 2006.

GONTIJO, A. M. M. C.; TICE, R. Teste do cometa para a detecção de dano no DNA e reparo em células individualizadas. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. (Org.). **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Ulbra, p. 173-200, 2003.

GOOSSENS, H.; FERRECH, M.; STICHELE, R. V.; ELSEVIERS, M. Use of outpatient antibiotics in Europe and association with resistance: a cross-national database study. **The Lancet**, v. 365, n. 9459, p. 548-587, 2005.

GRANT, W. F. Chromosome aberrations in plants as monitoring system. **Environmental Health Perspectives**, v. 27, p. 37-43, 1978.

GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassays for detection of environmental mutagens. **Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 310, p. 175-185, 1994.

GRIPPA, G. A.; MOROZESK, M.; NATI, N.; MATSUMOTO, S. T. Estudo genotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 23, n. 1-2, p. 11-16, 2010.

GUO, H.-G.; GAO, N.-Y.; CHU, W.-H.; LI, L.; ZHANG, Y.-J.; GU, J.-S.; GU, Y.-L. Photochemical degradation of ciprofloxacin in UV and UV/H₂O₂ process: kinetics, parameters, and products, **Environmental Science and Pollution Research**., v. 20, p. 3202-3213, 2013.

GUPTA, A.; GARG, A. Degradation of ciprofloxacin using Fenton's oxidation: Effect of operating parameters, identification of oxidized by-products and toxicity assessment. **Chemosphere**, v. 193, p. 1181-1188, 2018.

HAJI, S.; BENSTAALI, B.; AL-BASTAKI, N. Degradation of methyl orange by UV/H₂O₂ advanced oxidation process. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, p. 134-139, 2011.

HALLING-SORENSEN, B.; NORS NIELSEN, S.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; HOLTEN LUTZHOFT, H. C.; JORGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environmental review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.

HAQ, I.; KUMAR, S.; RAJ, A.; LOHANI, M.; SATYANARAYANA, G.N.V. Genotoxicity assessment of pulp and paper mill effluent before and after bacterial degradation using *Allium cepa* test. **Chemosphere**, v.169, p. 642-650, 2017.

HARRIS, G. D.; ASCE, M.; ADAMS, V. D.; MOORE, W. M.; SORENSEN, D. L. Potassium ferrioxalate as chemical actinometer in ultraviolet reactors. **Journal of Environmental Engineering**, v. 113, p. 612-627, 1987.

HASSANI, A.; KHATAEE, A.; KARACA, S.; KARACA, C.; GHOLAMI, P. Sonocatalytic degradation of ciprofloxacin using synthesized TiO₂ nanoparticles on montmorillonite. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 35, p. 251-262, 2017.

HASSANI, A.; KHATAEE, A.; KARACA, S. Photocatalytic degradation of ciprofloxacin by synthesized TiO₂ nanoparticles on montmorillonite: Effect of operation parameters and artificial neural network modeling. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 409, p. 149-161, 2015.

HAYS, S. M.; PYATT, D. W.; KIRMAN, C. R.; AYLWARD, L. L. Biomonitoring Equivalents for benzene. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 62, n. 1, p. 62-73, 2012.

HERNANDEZ, R.; ZAPPI, M.; COLLUCI, F.; JONES, R. Comparing the performance of various advanced oxidation process for treatment of acetone contaminated water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 92, p. 33-50, 2002.

HOUK, V. S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents - a review. **Mutation Research**, v. 277 p. 91-138, 1992.

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

HUGHES S., KAY P., BROWN L. Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 2, p. 661-677, 2013.

JAGGER, J. H. (1967). **Introduction to research in UV photobiology**, Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.

JALIL, 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.

JIANG, J.-Q.; ZHENGWEI, Z.; PAHL, O. Preliminary study of the removal of ciprofloxacin (cip) by potassium ferrate (VI). **Separation and Purification Technology**, v. 88, p.95-98, 2012.

JIANG, W.; CHANGA, P.; WANGA, Y.; TSAIA, Y.; JEANA, J.; LI, Z.; KRUKOWSKI, K. Removal of ciprofloxacin from water by birnessite. **Journal of Hazardous Materials**, v. 250-251, p. 362-369, 2013.

JOHANSSON, C. H.; JANMAR, L.; BACKHAUS, T. Toxicity of ciprofloxacin and sulfamethoxazole to marine periphyticalgae and bacteria. **Aquatic Toxicology**, v. 156, p. 248-258, 2014.

JOSH, M. S.; PRADEEP, S.; BALACHANDRAN, S.; DEVI, R. S.; AMMA, K. V.; BENJAMIN, S. Temperature-and solvent-dependent migrations of di (2-ethylhexyl) phthalate, the hazardous plasticizer from commercial PVC blood storage bag. **Journal of Polymer Research**, 1; 19 (7): 9915, 2012.

KANAKARAJU, D.; GLASS, B. D.; OELGEMÖLLER, M. Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 219, p. 189-207, 2018.

KERN, W.V. New plasmid-borne quinolone-resistance determinant in Escherichia coli. **Future Microbiology**, v. 2, p. 473-475, 2007.

KHADRA, A.; PINELLI, E.; LACROIX, M. Z.; BOUSQUET-MELOU, A.; HAMDY, H.; MERLINA, G.; GUIRESSE, M.; HAFIDI, M. Assessment of the genotoxicity of quinolone and fluoroquinolones contaminated soil with the *Vicia faba* micronucleus test. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 187-192, 2012.

KHURI, A.I., MUKHOPADHYAY, S. Response surface methodology. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, 2: 128.

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 organics wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. **Environmental Science Technology**, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, 2002.

KOMAREK, M., CADKOVA, E., CHRASTNY, V., BORDAS, F., BOLLINGER, J.C. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. **Environment International**, v. 36, p. 138-151, 2010.

KÜMMERER, K; AL-AHMAD, A.; MERSCH-SUNDERMANN, V. Biodegradability of some antibiotics, elimination of genotoxicity and affection of effluent bacteria in a single test. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 701-710, 2000.

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

KUSARI, S.; PRABHAKARAN, D.; LAMSHOFT, M.; SPITELLER, M. In vitro residual anti-bacterial activity of difloxacin, sarafloxacin and their photoproducts after photolysis in water. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 2722-2730, 2009.

LAPWORTH, D. J.; BARAN, N.; STUART, M. E.; WARD, R. S. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 287-303, 2012.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M. Photochemical processes for water treatment. **Chemical Reviews**, v. 93, p. 671-698, 1993.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**. v. 682, p. 71-81, 2009.

LI, J.; YU, G.; PAN, L.; LI, C.; YOU, F.; XIE, S.; WANG, Y.; MA, J.; SHANG, X. Study of ciprofloxacin removal by biochar obtained from used tea leaves. **Journal of Environmental Sciences**, 2018.

LIAO, Q.-N.; JI, F.; LI, J.-C.; ZHAN, X.; HU, Z.-H. Decomposition and mineralization of sulfaquinoxaline sodium during UV/H₂O₂ oxidation processes. **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p. 494-502, 2016.

LIN, C.-C.; LIN, H.-Y.; HSU, L.-J. Degradation of ofloxacin using UV/H₂O₂ process in a large photoreactor. **Separation and Purification Technology**, v. 168, p. 57-61, 2016.

LIN, C.-C.; WU, M.-S. Degradation of ciprofloxacin by UV/S₂O₈²⁻ process in a large photoreactor. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 285, p. 1-6, 2014.

LINDBERG, R. H.; OLOFSSON, U.; RENDAHL, P.; JOHANSSON, M. I.; TYSKLIND, M.; ANDERSSON, B. A. V. Behavior of fluoroquinolones and trimethoprim during mechanical, chemical, and active sludge treatment of sewage water and digestion of sludge. **Environmental Science & Technology**, v. 40, p. 1042-1048, 2006.

LING, L.; SUN, J.; FANG, J.; SHANG, C. Kinetics and mechanisms of degradation of chloroacetonitriles by the UV/H₂O₂ process. **Water Research**, v. 99, p. 209-215, 2016.

LITTER, M. Introduction to Photochemical Advanced Oxidation Processes for Water Treatment, in: P. Boule, D.W. Bahnemann, P.K.J. Robertson (Eds.), Environ. Photochem. Part II, **Springer Berlin Heidelberg**, p. 325-366, 2005.

LIU, P.; LI, C.; LIANG, X.; XU, J.; LU, G.; JI, F. Advanced oxidation of hypophosphite and phosphite using a UV/H₂O₂ process. **Environmental Technology**, v. 34, n. 15, p. 2231-2239, 2013.

LIU, R.; LIN, Y.; RUAN, T.; JIANG, G. Occurrence of synthetic phenolic antioxidants and transformation products in urban and rural indoor dust. **Environmental Pollution**, v. 221, p. 227-233, 2017.

LOPEZ, A., BOZZI, A., MASCOLO, G., KIWI, J. Kinetic investigation on UV and UV/H₂O₂ degradations of pharmaceutical intermediates in aqueous solution. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 156, p. 121-126, 2003.

MACHADO, K. C.; GRASSI, M. T.; VIDAL, C.; PESCARA, I. C.; JARDIM, W. F.; FERNANDES, A. N.; SODRÉ, F. F.; ALMEIDA, F. V.; SANTANA, J. S.; CANELA, M.

C.; NUNES, C. R. O.; BICHINHO, K. M.; SEVERO, F. J.R. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 572, p. 138-146, 2016.

MAJER, B.J.; GRUMMT, T.; UHL, M.; KNASMÜLLER, S. Use of plant bioassays for the detection of genotoxins in the aquatic environment. **CLEAN - Soil, Air, Water**, v. 33, n. 1, p.45-55, 2005.

MALATO, S.; FERNANDEZ-IBANEZ, P.; MALDONADO, M. I.; BLANCO, J.; GERNJAK, W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: recent overview and trends. **Catalysis Today**, v. 147, p. 1-59, 2009.

MANENTI, D. R. **Tratamento de efluente têxtil utilizando os processos eletrofloculação, foto-Fenton e biológico integrados**. 2013. 229 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Maringá, PR, 2013.

MANSANO, A. S.; OLIVEIRA, L. L. D.; ROCHA, O. Avaliação da toxicidade aguda do antibiótico ciprofloxacina aos cladóceros *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia silvestrii*. **VIII Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 12, p. 76-88, 2012.

MARKMAN, B. E. O.; KOSCHTSCHAK, M. R. W.; YANO, H. M. Determinação de quinolonas por cromatografia líquida de alta eficiência empregando coluna monolítica de fase reversa. **Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, p. 65-69, 2005.

MARTI, E., VARIATZA, E., LUIS BALCAZAR, J., AND BALCAZAR, J. L. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. **Trends in Microbiology**, v. 22, p. 36-41, 2014.

MARTINS, V. V.; ZANETTI, M. O. B.; PITONDO-SILVA, A.; STEHLING, E. G. Aquatic environments polluted with antibiotics and heavy metals: a human health hazard. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, p. 5873-5878, 2014.

MASCARELLI A. L. New mode of action found for pharmaceuticals in the environment. **Environmental Science & Technology**, v. 44, p. 1159-1160, 2010.

MATAFANOVA, G.; BATOEV, V. Recent advances in application of UV light-emitting diodes for degrading organic pollutants in water through advanced oxidation processes: A review. **Water Research**, v. 132, p. 177-189, 2018.

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.

MEYERS, R.H., MONTGOMERY, D.C. **Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments**. 1 ed. John Wiley & Sons, New York, 2002.

MILLS, A.; DAVIES, R.H.; WORSLEY, D. Water purification by semiconductor photocatalysis. **Chemical Society Reviews**, p. 417-425, 1993.

MODIRSHAHLA, N., BEHNAJADY, M.A. Photooxidative degradation of Malachite Green (MG) by UV/H₂O₂: Influence of operational parameters and kinetic modeling. **Dyes and Pigments**, v. 70, p. 54-59, 2006.

MONDAL, S. K.; SAHA, A.K.; SINHA, A. Removal of ciprofloxacin using modified advanced oxidation processes: Kinetics, pathways and process optimization. **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 1203-1214, 2018.

MORO, A. M., CHARÃO, M. F.; BRUCKER, N.; DURGANTE, J.; BAIERLE, M.; BUBOLS, G, et al. Genotoxicity and oxidative stress in gasoline station attendants. **Mutation Research**, v. 754, n. 1-2, p. 63-70, 2013.

MOTA, A. L. N.; ALBUQUERQUE, L. F.; BELTRAME, L. T. C.; CHIAVONE-FILHO, O.; MACHULEK JR., A.; NASCIMENTO, C. A. O. Advanced oxidation processes and their application in the petroleum industry: a review. **Brazilian Journal of Petroleum and Gas**, v. 2, n. 3, p. 122-142, 2008.

MOTA, A. L. N. **Desenvolvimento de um reator fotoquímico aplicável no tratamento de efluentes fenólicos presentes na indústria do petróleo.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal/RN, 2005.

MOTA, A. L. N. **Desenvolvimento de um sistema foto-oxidativo visando aplicação no tratamento de águas produzidas em campos de petróleo.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal/RN, 2010.

MOUSSAVI, G.; POURAKBAR, M.; SHEKOOHIYAN, S.; SATARI, M. Photochemical decomposition and detoxification of bisphenol A in the VUV/H₂O₂ process: Evaluation of degradation, mineralization and cytotoxicity. **Chemical Engineering Journal**, v. 331, p. 755-764, 2018.

MULROY, A. Monitoring and analysis of water and wastes. **Water Environmental & Technology**, v.13, n. 2, p. 32-36, 2001.

MURUGANANDHAM, M.; SWAMINATHAN, M. Photochemical oxidation of reactive azo dye with UV-H₂O₂ process, **Dyes and Pigments**, v. 62, p. 269-275, 2004.

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

NAIDU, R.; WONG, M. Contaminants of emerging concern. **Science of the Total Environment**, v. 463-464, p. 1077-1078, 2013.

NCCLS (2003). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard - eighth edition.** NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, Wayne, Pennsylvania, USA.

NOGUEIRA, R. F. P.; OLIVEIRA, M. C.; PATERLINI, W. C. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. **Talanta**, v. 66, p. 86-91, 2005.

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

OBE, G. *et al.* Chromosomal Aberrations: Formation, Identification and Distribution. **Mutation Research**, Orlando, v. 504, n.5, p. 17-36, Oct. 2004.

OLAK-KUCHARCZYK, M.; LEDAKOWICZ, S. Advanced oxidation of preservatives in the H₂O₂/UVC system - Kinetic study, transformation products and toxicity assessment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 333, p. 348-357, 2017.

OLORUNFEMI, D. I.; DURU, L. OLORUNFEMI, O. P. Genotoxic effects of bilge water on mitotic activity in *Allium cepa* L. **Caryologia**, v. 68:4, p. 265-271, 2015.

ORT, C.; LAWRENCE, M.G. RIECKERMANN, J.; JOSS, A. Sampling for pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and illicit drugs in wastewater systems: are your conclusions valid? A critical review. **Environment Science & Technology**, v. 44 n. 16, p. 6024-6035, 2010.

OTURAN, M. A.; AARON, J. J. Advanced oxidation processes in water/wastewater treatment: principles and applications. A review. **Critical Reviews Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 2577-2641, 2014.

PANDEY, H.; KUMAR, V.; ROY, B. K. Assessment of genotoxicity of some common food preservatives using *Allium cepa* L. as a test plant. **Toxicology reports**, v. 1, p. 300-308, 2014.

PARKER, A. M.; LESTER, Y.; SPANGLER, E. K.; GUNTEN, U.; LINDEN, K. G. UV/H₂O₂ advanced oxidation for abatement of organophosphorous pesticides and the effects on various toxicity screening assays. **Chemosphere**, v. 182, p. 477- 482, 2017.

PATHIRATNE, A., HEMACHANDRA, C.K., DE SILVA, N. Efficacy of *Allium cepa* test system for screening cytotoxicity and genotoxicity of industrial effluents originated from different industrial activities. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187: 730, 2015.

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 1 Ed., New York. Oxford University Press, 1995.

PAUL, T.; DODD, M. C. ; STRATHMANN, T. J. Photolytic and photocatalytic decomposition of aqueous ciprofloxacin: Transformation products and residual antibacterial activity. **Water Research**, v. 44, n. 10, p. 3121-3132, 2010.

PERINI, J. A. L.; PEREZ-MOYA, M.; NOGUEIRA, R. F. P. Photo-Fenton degradation kinetics of low ciprofloxacin concentration using different iron sources and pH, **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 259, p. 53-58, 2013.

PERINI, J. A. L.; TONETTI, A. L.; VIDAL, C.; MONTAGNER, C. C.; NOGUEIRA, R. F. P. Simultaneous degradation of ciprofloxacin, amoxicillin, sulfathiazole and sulfamethazine, and disinfection of hospital effluent after biological treatment via photo-Fenton process under ultraviolet germicidal irradiation. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 224, p. 761-771, 2018.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, v. 72, p. 3-27, 2015.

POYATOS, J.M.; MUÑO, M.M.; ALMECIJA, M.C.; TORRES, J.C.; HONTORIA, E.; OSORIO, F. Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art. **Water, Air, Soil & Pollution**, v. 205, p. 187-204, 2010.

QUINZANI-JORDÃO, B. Ciclo celular em meristemas. La formación de intercâmbios entre cromátidas hermanas. **Tese de Doutorado, Universidade de Complutense, Madrid, 276p. 1987.**

RANK, J.; NIELSEN, M. H. A modified Allium test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v. 118, p. 49-53, 1993.

RANK, J. The method of Allium anaphase-telophase chromosome aberration assay, **Ekologija**, p. 38-42, 2003.

RIBEIRO L. R.; SALVADORI, D. M.F.; MARQUES, E. E. **Mutagênese Ambiental**. 1. ed. Canoas: ULBRA; 2003.

RICHARD, J.; BOERGERS, A.; EYSER, C.; BESTER, K.; TUERK, J. Toxicity of the micropollutants Bisphenol A, Ciprofloxacin, Metoprolol and Sulfamethoxazole in water samples before and after the oxidative treatment. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 217, p. 506-514, 2014.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria de Meio Ambiente. Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA), **Resolução nº 129 de 2006**. Dispõe sobre a definição de Critérios e Padrões de Emissão para Toxicidade de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul.

ROCHA, D.P.; PINTO, G.F.; RUGGIERO, R.; OLIVEIRA, C.A.; GUERRA, W.; FONTES, S. A.P.; TAVARES, T.T.; MARZANO, I.M.; PEREIRA-MAIA, E.C. Coordenação de metais e antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, p. 111-118, 2011.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; BASAGLIA, G.; PIETROGRANDE, M. C.; CELA, R. Determination of synthetic phenolic antioxidants and their metabolites in water samples by downscaled solid-phase extraction, silylation and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. v. 1217, n. 41, p. 6428-6435, 2010.

RODRIGUES-SILVA, C.; MANIERO, M. G.; PERES, M. S.; GUIMARÃES, J. R. Ocorrência e degradação de quinolonas por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, v.37, n. 5, 2014.

RONCO, A.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P. Em **Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas - Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones**; Morales, G. C., ed.; Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo: Ottawa, 2004, cap. 1.

RUSSEL, P. J. Chromosomal mutation, in: B. Cummings (Ed.), *Genetics*, Pearson Education Inc., San Francisco, 2002, p. 595-621.

SALMA, A.; THORÖE-BOVELETH, S.; SCHMIDT, T. C.; TUERK, J. Dependence of transformation product formation on pH during photolytic and photocatalytic degradation of ciprofloxacin. **Journal of Hazardous Materials**, v. 313, p. 49-59, 2016.

SANTOS, L. V. S.; MEIRELES, A. M.; LANGE, L. C. Degradation of antibiotics norfloxacin by Fenton, UV and UV/H₂O₂. **Journal of Environmental Management**, v. 154 p. 8-12, 2015.

SAYED, M.; ISMAIL, M.; KHAN, S.; TABASSUM, S.; KHAN, H. M. Degradation of ciprofloxacin in water by advanced oxidation process: kinetics study, influencing parameters and degradation pathways. **Environmental Technology**, v. 37, n. 5, p. 590-602, 2015.

SAYED, M.; SHAH, L. A.; KHAN, J. A.; SHAH, N. S.; KHAN, H. M. KHAN, R. A.; KHAN, A. R.; KHAN, A. M. Hydroxyl radical based degradation of Ciprofloxacin in aqueous solution. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 61, n. 2, 2016.

SHAHIDI, D.; ROY, R.; AZZOUZ, A. Advances in catalytic oxidation of organic pollutants – Prospects for thorough mineralization by natural clay catalysts. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 174-175, p. 277-292, 2015.

SHARMA, C. B. S. R., PANEERSELVAN, N. Genetic toxicity of pesticides in higher plant systems. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 9, p. 409 - 442, 1990.

SHARMA, S., VIG, A. P. Genotoxicity of atrazine, avenoxan, diuron and quizalofop-P-ethyl herbicides using the *Allium cepa* root chromosomal aberration assay. **Terrestrial and Aquatic Environmental Toxicology**, v. 6, p. 90-95, 2012.

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

SILVA, J. M. B.; HOLLENBACH, C. B. Fluoroquinolonas X Resistência Bacteriana na Medicina Veterinária - Artigo de Revisão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 363-369, 2010.

SOBRERO, M.C; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda com semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L). In: Morales, G.C. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**, IMTA, p.72-79., 2004.

SOUZA, A. R. C. **Remoção do fármaco Cloridrato de Ciprofloxacina em solução pelo processo de eletrocoagulação**. 2016. 139 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Toledo, 2016.

SOUZA, A. R. C.; SOUZA, P. S. C.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N. Uso da *Artemia salina* como bioindicador na avaliação ecotoxicológica do fármaco cloridrato de ciprofloxacina em solução sintética tratada por processo de eletrocoagulação. **VI Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, Porto Alegre/RS, 2015.

SUKUL, P.; LAMSHOFT, M.; KUSARI, S.; ZÜHLKE, S.; SPITELLER, M. Metabolism and excretion kinetics of ¹⁴C-labeled and non-labeled difloxacin in pigs after oral administration, and antimicrobial activity of manure containing difloxacin and its metabolites. **Environmental Research**, v. 109, p. 225-231, 2009.

SUMPTER, J.P. Endocrine disrupters in the aquatic environment: an overview. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 33, n. 1, p. 9-16, 2005.

SUMPTER, J. P.; JOHNSON, A. C. Lessons from endocrine disruption and their application to other issues concerning trace organics in the aquatic environment. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 12, p. 4321-4332, 2005.

STURINI, M.; SPELTINI, A.; MARASCHI, F.; PRETALI, L.; PROFUMO, A.; FASANI, E.; ALBINI, A.; MIGLIAVACCA, R.; NUCLEO, E. Photodegradation of fluoroquinolones in surface water and antimicrobial activity of the photoproducts. **Water Research**, v. 46, n. 17, p. 5575-5582, 2012.

TAKAHASHI, O.; OISHI, S. Male reproductive toxicity of four bisphenol antioxidants in mice and rats and their estrogenic effect. **Archives of toxicology**, v. 80, n. 4, p. 225-241, 2006.

TAMTAM, F.; MERCIER, F.; BOT, B.L.; EURIN, J.; DINH, Q.T.; CLÉMENT, M.; CHEVREUIL, M. Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. **Science of the Total Environment**, v. 393, p. 84-95, 2008.

TAVARES, W. **Quinolonas In: Manual de antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 2 Ed., São Paulo. Atheneu, 1996.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. **Caderno Temático Volume 3 – Processos Oxidativos Avançados – Conceitos Teóricos**. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Laboratório de Química Ambiental, Campinas – SP, 2004.

THEODORAKIS, C. W.; BICKHAM, J. W.; ELBL, T.; SHUGART, L. R.; CHESSER, R. K. Genetics of radionuclide-contaminated mosquitofish populations and homology between *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 17, p. 1992-1998, 1998.

TRIVEDI, P.; VASUDEVAN, D. Spectroscopic investigation of ciprofloxacin speciation at the goethite-water interface. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 9, p. 3153-3158, 2007.

TROJANOWICZ, M.; BOJANOWSKA-CZAJKA, A.; BARTOSIEWICZ, I.; KULISA, K. Advanced Oxidation/Reduction Processes treatment for aqueous perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS) - A review of recent advances. **Chemical Engineering Journal**, v. 336, p. 170-199, 2018.

UEDA J.; TAVERNARO R.; VICTOR M.; PAVAN W.; Impacto ambiental do descarte de fármacos e estudo da conscientização da população a respeito do problema. **Ciências do Ambiente On-Line**, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2009.

URBANO, V. R.; PERES, M. S.; MANIERO, M. G.; GUIMARÃES, R. J. Abatement and toxicity reduction of antimicrobials by UV/H₂O₂ Process. **Journal of Environmental Management**, v. 193, p. 439-447, 2017.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Disponível em: <<http://www.epa.gov/esd/bios/pdf/contaminants-biosolids2.pdf>>. Acesso em: dez. 2015.

VILHUNEN, S.; VILVE, M.; VEPSALAINEN, M.; SILLANPAA, M. Removal of organic matter from a variety of water matrices by UV photolysis and UV/H₂O₂ method, **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, p. 776-782, 2010.

WANG, Y.; SHEN, C.; ZHANG, M.; ZHANG, B.-T.; YU, Y.-G. The electrochemical degradation of ciprofloxacin using a SnO₂-Sb/Ti anode: Influencing factors, reaction pathways and energy demand, **Chemical Engineering Journal**, v. 296, p. 79-89, 2016.

WARING, R.H., HARRIS, R.M. Endocrine disruptors: a human risk? **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 244, n. 2, p. 2-9, 2005.

WEXLER, P.; ABDOLLAHI, M.; PEYSTER, A.; GAD, S. C.; GREIM, H.; HARPER, S.; MOSER, V. C.; RAY, S.; TARAZONA, J.; WIEGAND, T. J. **Encyclopedia of Toxicology**, Third Edition, Volume 1, Elsevier, 2014. In: DOOD-BUTERA, T.; BRODERICK, M. **Ciprofloxacin**. p. 966-968, 2014.

WIGHTWICK, A., MOLLAH, M., PARTINGTON, D., ALLINSON, G. Copper fungicide residues in Australian vineyard soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 2457-2464, 2008.

WITSCHI, H.P. Enhanced tumour development by butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastro-intestinal tract. **Food Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 10-11, p. 1127-1130, 1986.

WRIGHT, G.D. The Origins of Antibiotic Resistance. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 211, p. 13-30, 2012.

XIONG, J.-Q.; KURADE, M. B.; KIM, J. R.; ROH, H.-S.; JEON, B.-H. Ciprofloxacin toxicity and its co-metabolic removal by a freshwater microalga *Chlamydomonas mexicana*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 323, parte A, p. 212-219, 2017.

XIONG, W., SUN, Y., ZHANG, T., DING, X., LI, Y., WANG, M., ZENG, Z. Antibiotics, Antibiotic Resistance Genes, and Bacterial Community Composition in Fresh Water Aquaculture Environment in China. **Microbial Ecology**, v. 70, p. 425-432, 2015.

YAHYA, M. S.; OTURAN, N.; KACEMI, K. E.; KARBANE, M. E.; ARAVINDAKUMAR, C. T.; OTURAN, M. A. Oxidative degradation study on antimicrobial agent ciprofloxacin by electro-fenton process: Kinetics and oxidation products, **Chemosphere**, v. 117, p. 447-454, 2014.

ZHANG, C. L.; QIAO, G. L.; ZHAO, F.; WANG, Y. Thermodynamic and kinetic parameters of ciprofloxacin adsorption onto modified coal fly ash from aqueous solution. **Journal of Molecular Liquids**, v. 163, n. 1, p. 53-56, 2011.

ZHANG, H.; HUANG, C. H. Oxidative transformation of antibacterial agents fluoroquinolones and structurally related amines by manganese oxide. **Environmental Science & Technology**, v. 39, p. 4474-4483, 2005.

ZHANG, Y.; LI, D. L.; CHEN, Y.; WANG, X. H.; WANG, S. G. Catalytic wet air oxidation of dye pollutants by polyoxomolybdate nanotubes under room condition. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 86, p. 182-189, 2009.

ZHANG, Y.; XIAO, Y.; ZHANG, J.; CHANG, V. W. C. Degradation of cyclophosphamide and 5-fluorouracil in water using UV and UV/H₂O₂: Kinetics investigation, pathways and energetic analysis. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 1, p. 1133-1139, 2017.

ZHOU, C.; GAO, N. Y.; DENG, Y.; CHU, W. H.; RONG, W. L.; ZHOU, S. D. Factors affecting ultraviolet irradiation/hydrogen peroxide (UV/H₂O₂) degradation of mixed Nitrosamines in water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 231-232, p. 43-48, 2012.

APÊNDICES

Tabela 1 - Planejamento Experimental. Delineamento Composto Central Rotacional. Degradação de CIP.

Exp.	H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	pH da solução	Degradação de CIP (%)													
			0	5	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480	540	600
1	100,0	8,0	0,0	0,0	5,3	13,3	22,3	35,5	44,1	49,8	53,9	57,7	60,6	63,7	66,0	68,1
2	300,0	8,0	0,0	0,0	8,1	19,6	33,8	47,9	55,1	60,5	65,1	69,1	73,2	76,6	80,1	84,3
3	300,0	4,0	0,0	3,0	11,8	22,9	40,1	61,6	73,1	81,2	86,7	90,6	92,9	94,9	96,2	96,7
4	200,0	6,0	0,0	0,7	6,4	13,6	24,7	38,7	50,1	58,8	64,9	69,9	74,7	80,0	83,7	88,7
5	58,6	6,0	0,0	0,9	3,7	7,9	13,1	22,9	31,6	38,9	45,3	50,1	55,3	60,0	63,7	66,9
6	200,0	8,8	0,0	0,0	2,4	13,4	28,4	44,2	53,2	58,6	63,1	67,3	70,9	74,0	77,0	80,6
7	200,0	6,0	0,0	0,4	5,2	12,4	23,4	37,0	48,8	56,1	63,7	68,6	73,7	79,0	83,4	87,9
8	100,0	4,0	0,0	2,0	4,5	8,4	18,8	32,0	41,8	49,6	56,9	63,1	68,1	72,4	76,7	80,3
9	341,4	6,0	0,0	0,0	5,8	14,3	25,6	40,9	51,4	61,0	68,3	74,3	80,5	85,6	89,8	93,1
10	200,0	3,2	0,0	2,8	8,9	20,0	35,6	56,7	70,4	79,7	85,8	90,3	93,4	95,0	96,3	96,9
11	200,0	6,0	0,0	0,6	6,1	13,2	24,1	38,9	49,6	58,0	64,1	69,5	74,1	79,2	83,5	88,0

Tabela 2 - Planejamento Experimental. Delineamento Composto Central Rotacional. Mineralização de CIP.

Exp.	H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	pH da solução	Mineralização de CIP (%)									
			0	5	30	60	120	180	240	360	480	600
1	100,0	8,0	0,00	1,4	1,8	2,4	4,0	5,2	6,5	9,9	13,3	14,3
2	300,0	8,0	0,00	1,5	2,9	4,0	5,4	7,5	11,8	14,6	19,6	23,3
3	300,0	4,0	0,00	0,7	2,1	7,8	12,7	23,0	28,8	32,6	37,8	40,7
4	200,0	6,0	0,00	0,4	2,1	3,9	5,2	5,5	8,5	11,6	16,0	18,0
5	58,6	6,0	0,00	1,0	1,2	1,3	1,4	1,5	1,7	1,9	2,1	2,2
6	200,0	8,8	0,00	1,7	1,8	2,1	4,9	5,1	5,2	5,4	7,7	10,8
7	200,0	6,0	0,00	0,1	1,5	3,5	4,7	5,1	7,4	11,2	15,2	18,0
8	100,0	4,0	0,00	0,6	1,3	3,9	5,5	11,0	18,5	23,3	26,9	30,8
9	341,4	6,0	0,00	1,0	4,2	10,2	11,6	15,7	17,6	19,2	21,1	22,0
10	200,0	3,2	0,00	2,9	4,3	11,0	18,3	31,0	33,6	35,8	38,9	44,5
11	200,0	6,0	0,00	0,3	1,9	3,8	4,9	5,3	7,9	11,4	15,6	18,2

Tabela 3 - Planejamento Experimental. Delineamento Composto Central Rotacional. Consumo de H₂O₂.

Exp.	H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	pH da solução	Consumo de H ₂ O ₂ (%)													
			0	5	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480	540	600
1	100,0	8,0	0,0	10,0	9,2	10,0	10,0	10,8	15,0	12,0	13,3	15,0	10,8	14,2	8,3	10,0
2	300,0	8,0	0,0	8,9	8,6	7,2	7,2	7,5	8,1	8,8	10,0	10,3	11,4	11,4	13,6	15,6
3	300,0	4,0	0,0	9,7	8,9	10,0	10,0	10,6	13,9	16,9	19,2	21,1	22,2	22,5	27,5	33,1
4	200,0	6,0	0,0	9,3	10,3	9,5	9,5	9,7	10,8	11,1	12,5	13,3	14,7	17,0	20,9	24,0
5	58,6	6,0	0,0	7,6	4,7	6,1	6,1	7,6	7,6	11,8	11,8	10,4	13,3	13,3	16,1	16,1
6	200,0	8,8	0,0	7,1	7,9	7,1	7,1	8,7	9,2	8,7	11,3	11,3	12,1	12,5	14,6	15,8
7	200,0	6,0	0,0	9,0	9,9	9,2	9,2	9,6	10,4	10,8	12,0	13,1	14,5	17,0	20,5	23,4
8	100,0	4,0	0,0	10,8	10,0	10,0	10,0	11,7	13,3	14,2	14,2	14,2	12,5	13,3	15,8	17,5
9	341,4	6,0	0,0	11,2	9,7	10,2	9,4	9,4	10,2	11,4	12,4	12,6	15,8	18,7	20,2	21,9
10	200,0	3,2	0,0	8,7	10,4	10,0	12,1	13,3	15,0	18,3	20,8	25,0	25,8	28,3	31,3	33,8
11	200,0	6,0	0,0	9,6	10,8	10,0	10,0	10,0	10,1	11,3	12,5	13,3	14,6	17,1	20,8	23,8

Tabela 4 - Planejamento Experimental. Delineamento Composto Central Rotacional. Monitoramento do pH.

Exp.	H ₂ O ₂ (mg L ⁻¹)	pH da solução	Monitoramento do pH													
			0	5	15	30	60	120	180	240	300	360	420	480	540	600
1	100,0	8,0	8,0	7,4	7,0	6,7	6,5	6,3	6,3	6,2	6,1	6,0	5,8	5,7	5,6	5,3
2	300,0	8,0	8,0	7,5	7,0	6,6	6,4	6,2	6,0	5,8	5,6	5,3	5,1	5,0	4,8	4,6
3	300,0	4,0	4,0	4,0	4,0	3,9	3,9	3,8	3,7	3,7	3,7	3,6	3,6	3,7	3,7	3,7
4	200,0	6,0	6,0	5,8	5,7	5,6	5,3	4,8	4,6	4,4	4,3	4,2	4,1	4,0	4,0	4,0
5	58,6	6,0	6,0	5,9	5,8	5,7	5,6	5,3	5,0	4,8	4,7	4,5	4,5	4,4	4,3	4,2
6	200,0	8,8	8,8	8,4	8,1	7,5	6,8	6,4	6,3	6,2	6,0	5,8	5,62	5,4	5,2	5,1
7	200,0	6,0	6,0	5,9	5,8	5,8	5,6	5,2	4,9	4,6	4,5	4,34	4,22	4,1	4,0	4,0
8	100,0	4,0	4,0	4,0	3,9	3,9	3,8	3,8	3,7	3,7	3,7	3,68	3,65	3,6	3,6	3,6
9	341,4	6,0	6,0	5,8	5,7	5,5	5,1	4,6	4,4	4,2	4,1	4	3,9	3,9	3,9	3,8
10	200,0	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,1	3,1	3,11	3,1	3,1	3,1	3,1
11	200,0	6,0	6,0	5,9	5,8	5,6	5,3	4,8	4,5	4,3	4,2	4,1	4,1	4,0	3,9	3,8