



## Dissipação e sorção de ciprofloxacina e enrofloxacina em dois solos da Nova Zelândia

**Rafael Marques Pereira Leal<sup>(1)</sup>; Prakash Srinivasan<sup>(2)</sup>; Jussara Borges Regitano<sup>(3)</sup>; Ajit K. Sarmah<sup>(4)</sup>**

<sup>(1)</sup> Professor do Instituto Federal Goiano, Rio Verde, Goiás; rafael.leal@ifgoiano.edu.br; <sup>(2)</sup> Pesquisador University of Auckland; <sup>(3)</sup> Professora Universidade de São Paulo; <sup>(4)</sup> Professor University of Auckland

**RESUMO:** Pouco se sabe sobre a ocorrência e o destino ambiental de antibióticos de uso veterinário na Nova Zelândia, embora a produção animal seja expressiva no país. Nesse estudo se avaliou a dissipação e a sorção dos antibióticos ciprofloxacina e enrofloxacina em dois solos da Nova Zelândia, com e sem adição de cama de frango nas doses de 1 e 5% (p/p). Os solos foram incubados em condições aeróbias controladas, monitorando-se a atividade da enzima desidrogenase como indicativo de atividade biológica do solo. A sorção foi avaliada utilizando técnica de equilíbrio do tipo batelada. As fluoroquinolonas foram quantificadas através do uso de cromatografia líquida, com detecção por fluorescência. Ambas as fluoroquinolonas apresentaram elevado potencial de sorção aos solos, sendo os valores consistentes com trabalhos anteriores, indicando alta interação específica entre esses compostos e a fase sólida do solo. A adição de cama de frango diminuiu o potencial de sorção, o que pode ter relação com os aumentos nos valores de pH dos solos provocados pela adição de cama de frango e, ou, com a competição pelos sítios de sorção do solo. Os valores de de dissipação ( $DT_{50}$ ) variaram de 15 a mais de 70 dias, sendo a dissipação mais rápida nas amostras sub-superficiais (30-40 cm), apesar de estas apresentarem menor atividade biológica. A adição de cama de frango (dose de 5%) aumentou a velocidade de dissipação das moléculas estudadas, provavelmente devido ao aumento na atividade biológica do solo e ao aumento da disponibilidade das moléculas na solução do solo.

**Termos de indexação:** poluição do solo, dinâmica de contaminantes, produção animal.

### INTRODUÇÃO

As fluoroquinolonas são um dos grupos mais importantes de compostos antimicrobianos utilizados na medicina veterinária em todo o mundo (Picó & Andreu, 2007). Embora resíduos destes compostos sejam comumente detectados em uma grande variedade de matrizes ambientais, pouco ainda se sabe sobre seu destino no ambiente e seus

potenciais efeitos negativos a saúde humana e organismos terrestres potencialmente expostos (Kemper, 2008).

Em solos, embora as concentrações sejam geralmente baixas (na faixa dos  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , Uslu et al., 2008), as fluoroquinolonas são fortemente sorvidas ( $K_d$  de 260-5012  $\text{L kg}^{-1}$ ) (Sarmah et al., 2006), sendo normalmente persistentes (meia-vida acima de 60 dias, Boxall et al., 2004). Vasudevan et al. (2009) verificaram que a troca catiônica foi o processo dominante explicando a sorção da ciprofloxacina em solos. Por sua vez, a alta persistência está associada a forte interação específica com os solos, diminuindo a disponibilidade do contaminante para a sua biodegradação (Golet et al., 2003).

Na Nova Zelândia, pouco ainda se sabe sobre a ocorrência e o destino de antibióticos de uso veterinário no ambiente, embora a indústria animal (criações de suínos, aves e gado leiteiro) use quantidades expressivas dos mesmos. Nesse contexto, foram conduzidos ensaios de sorção e dissipação de ciprofloxacina e enrofloxacina, em dois solos neozelandeses (Horotiu e Hamilton Clay, 0-5 cm e 30-40 cm), com e sem adição de cama de frango (1 e 5%).

### MATERIAL E MÉTODOS

A caracterização básica das amostras de solo e cama de frango é apresentada na **tabela 1**. Detalhes sobre os procedimentos analíticos empregados na caracterização do solo estão disponíveis em Srinivasan e al. (2014a). As isotermas de sorção de ciprofloxacina (CIP) e enrofloxacina (ENR) foram obtidas em seis concentrações (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0 e 4,0  $\text{mg L}^{-1}$ ), correspondentes a concentrações nominais no solo de 7,5, 15, 22,5, 30, 45 e 60  $\text{mg kg}^{-1}$ . Todas as análises foram feitas em duplicata. Os dados foram ajustados a equação de Freundlich ( $S = K_f \cdot C_e^N$ ) e à sua forma linear ( $S = K_d \cdot C_e$ ), em que S = quantidade sorvida, N = coeficiente exponencial da equação de Freundlich e  $C_e$  = concentração de equilíbrio na solução.

A dissipação da CIP e ENR foi avaliada em condições aeróbias, em amostras de superficiais (0-5 cm) e subsuperficiais (30-40 cm) dos solos Hamilton Clay e Horotiu. As amostras de solo foram



incubadas em sacos plásticos tipo zip (105 g por saco, peso seco), no escuro, a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 71 dias. Nos dias 0, 1, 7, 14, 21, 45 e 71, 2 g de solo foram retirados de cada saco de plástico e imediatamente analisados para quantificação das concentrações dos antibióticos. A atividade da enzima desidrogenase (DHA) foi medida nos mesmos intervalos de tempo, conforme procedimentos detalhados em Srinivasan et al. (2014b), sendo empregada como indicadora de atividade biológica. Todas as análises foram feitas em duplicata. Um segundo ensaio de dissipação avaliou o efeito da adição de cama de frango (1% e 5% p/p) na dissipação dos antibióticos para o solo Horotiu. Utilizou-se o modelo biexponencial para modelagem dos dados de dissipação.

A extração dos antibióticos do solo foi baseada no método proposto por Turiel et al. (2006). Para a determinação das concentrações dos antibióticos nos extratos finais, um cromatógrafo líquido da Dionex foi usado, sendo que a detecção foi feita por fluorescência.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A enrofloxacin e a ciprofloxacina apresentaram elevado potencial de sorção aos solos estudados (**Tabela 2**). A adição de cama de frango resultou em diminuição nos coeficientes de sorção, especialmente na maior dose (5%) (**Tabela 2**). As isotermas de Freundlich se ajustaram bem aos dados experimentais para ambos os compostos ( $r^2 \geq 0,96$ , Tabela 2). Os valores de pH das soluções em equilíbrio variaram de 4,23 a 6,1 (**Tabela 2**), faixa de pH em que há um predomínio de espécies catiônicas de fluoroquinolonas (Vasudevan et al., 2009). Considerando-se a elevada capacidade tampão destes solos, ilustrada pelos altos valores de capacidade de troca catiônica das camadas superficiais (**Tabela 1**), acredita-se que a troca catiônica foi o principal mecanismo explicando a elevada sorção das fluoroquinolonas. Isso é condizente com trabalhos anteriores, mostrando claramente a importância da interação eletrostática na sorção das espécies catiônicas de fluoroquinolonas em solos (Vasudevan et al., 2009; Figueroa-Diva et al., 2010). A diminuição nos coeficientes de sorção com adição de cama de frango, especialmente na dose de 5%, pode ter relação com o incremento de pH no sistema solo-cama em comparação ao solo sem adição (**Tabela 2**), diminuindo a disponibilidade das fluoroquinolonas na forma catiônica para ligação com os sítios de troca negativamente carregados do solo (Vasudevan et al., 2009).

Os valores de dissipação de 50% das concentrações iniciais aplicadas, ( $DT_{50}$ ), variaram consideravelmente entre os tratamentos empregados, entre 15 a mais de 70 dias (**Tabela 3**). A adição de 5% de substrato orgânico diminuiu consideravelmente o tempo de dissipação das duas fluoroquinolonas no solo (**Tabela 3**), concordando com o relatado para a  $^{14}\text{C}$ -difloxacin, em que a diluição do esterco contaminado com esterco fresco aumentou a sua dissipação de 7% para 20% (Lamshöft et al., 2010). Este efeito está possivelmente associado ao estímulo à atividade microbiana em razão da adição de esterco fresco (Lamshöft et al., 2010), o que é consistente com a maior atividade da desidrogenase obtida nesse tratamento em relação ao solo sem substrato orgânico..

Em todos os casos a dissipação foi mais lenta nas camadas superficiais, bem como no solo Horotiu quando comparado com o solo Hamilton Clay, o que pode estar associado com uma maior interação dos compostos com as camadas superficiais mais ricas em carbono orgânico (**Tabela 3**), o que por sua vez teria diminuído a sua biodisponibilidade para a degradação pelos microrganismos do solo (Rodríguez-cruz et al., 2006). Embora os valores de dissipação ( $DT_{50}$ ) tenham se situado na maioria dos casos dentro do período do estudo (70 dias), os dados obtidos neste trabalho indicam claramente que concentrações residuais de fluoroquinolonas tendem a persistir no longo prazo, o que concorda com relatos anteriores que demonstraram que a fertilização continuada do solo com esterco contaminado ocasiona acúmulo de fluoroquinolonas no ambiente (Golet et al., 2003; Karci & Balcioglu, 2009).

Vários antibióticos veterinários podem ser utilizados ao mesmo tempo na produção animal, de modo que uma mistura de compostos com o mesmo mecanismo farmacológico pode ocorrer em solos tratados com esterco animal. Desse modo, podem ocorrer efeitos toxicológicos sinérgicos (Li et al., 2013). Nesse sentido, plantas da espécie *Vicia faba* expostas a solo contendo uma mistura de duas fluoroquinolonas (CIP e ENR) e uma quinolona (ácido nalidixico), em concentrações baixas e realistas ambientalmente, mostraram indução de micronúcleos significativa (Khadra et al., 2012).

## CONCLUSÕES

Isotermas de Freundlich se ajustaram bem aos dados de sorção. A sorção foi alta, compatível com evidências anteriores. A adição de cama de frango a 5% diminuiu o potencial de sorção de ambos os compostos. A dissipação variou consideravelmente,



com valores de meia-vida ( $DT_{50}$ ) de 15 a mais de 70 dias. A dissipação foi mais rápida nas amostras de subsolo e também quando cama de frango foi adicionada (5%). Devido à elevada toxicidade e persistência, resíduos de fluoroquinolonas em solos podem representar um risco ecológico elevado para os organismos potencialmente expostos.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEG pela concessão de auxílio financeiro para participação e apresentação desse trabalho neste evento pelo primeiro autor.

### REFERÊNCIAS

- BOXALL, A.B.A.; KAY, P.; BLACKWELL, P.A.; FOGG, L.A. Fate of veterinary medicines applied to soils. In: KÜMMERER, K. (Ed). *Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks*. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag. p.165-180. 2004.
- FIGUEROA-DIVA, M.; VASUDEVAN, D.; MACKAY, A.A. Trends in soil sorption coefficients within common antimicrobial families. *Chemosphere*, 79: 786-793, 2010.
- GOLET, E.M.; XIFRA, I.; SIEGRIST, H.; ALDE, A.C.; GIGER, W. Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environmental Science and Technology*, v. 37: 3243–3249, 2003.
- KARCI, A.; BALCIOĞLU, I.A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey. *Science of the Total Environment*, 407: 4652-4664, 2009.
- KHADRA, A.; PINELLI, E.; LACROIX, M.; BOUSQUET-MÉLOU, A.; HAMDÍ, H.; MERLINA, G.; GUIRESSE, M.; HAFIDI, M., 2012. Assessment of the genotoxicity of quinolone and fluoroquinolones contaminated soil with the *Vicia faba* micronucleus test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76:187-192, 2012.
- KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators*, 8: 1-13, 2008.
- LAMSHÖFT, M.; SUKUL, P.; ZÜHLKE, S.; SPITELLER, M. Behavior of  $^{14}C$ -sulfadiazine and  $^{14}C$ -difloxacin during manure storage. *Science of the Total Environment*, 408: 1563-1568, 2010.
- LI, Y.-X.; ZHANG, X.-L.; LI, W.; LU, X.-F.; LIU, B.; WANG, J. The residues and environmental risks of multiple veterinary antibiotics in animal faeces. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185: 2211-2220, 2013.
- PICÓ, Y.; ANDREU, V. Fluoroquinolones in soil – risks and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387: 1287-1299, 2007.
- RODRÍGUEZ-CRUZ, M.S.; JONES, J.E.; BENDING, G.D. Field-scale study of the variability in pesticide biodegradation with soil depth and its relationship with soil characteristics. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 2910-2918, 2006.
- SARMAH, A.K.; MEYER, M.T.; BOXALL, A.B.A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (Vas) in the environment. *Chemosphere*, Oxford, v. 65, n. 5, p. 725-759, 2006.
- SRINIVASAN, P.; SARMAH, A.K.; MANLEY-HARRIS, M. Sorption of selected veterinary antibiotics onto dairy farming soils of contrasting nature. *Science of the Total Environment*, 472: 695-703, 2014a.
- SRINIVASAN, P.; SARMAH, A.K. Dissipation of sulfamethoxazole in pasture soils as affected by soil and environmental factors. *Science of the Total Environment*, 479-480, 284-291, 2014b.
- TURIEL, E.; MARTÍN-ESTEBAN, A.; TADEO, J.L. Multiresidue analysis of quinolones and fluoroquinolones in soil by ultrasonic-assisted extraction in small columns and HPLC-UV. *Analytica Chimica Acta*, 562: 30-35, 2006.
- USLU, M.Ö.; YEDILER, A.; BALCIOĞLU, I.A.; SCHULTE-HOSTEDE, S. Analysis and sorption behavior of fluoroquinolones in solid matrices. *Water, Air and Soil Pollution*, 190: 55-63, 2008.
- VASUDEVAN, D.; BRULAND, G.L.; TORRANCE, B.S.; UPCHURCH, V.G.; MACKAY, A.A. pH-dependent ciprofloxacin sorption to soils: Interaction mechanisms and soil factors influencing sorption. *Geoderma*, 151: 68-76. 2009.



Tabela 1 - Caracterização físico-química das amostras de solo e de cama de frango estudadas

Solo	pH CaCl <sub>2</sub>	CO (%)	CTC (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Areia (%)	Argila (%)	CBM* (µgC g <sup>-1</sup> )
Horotiu (0-5 cm)	5.4	8.2	35.6	34	18	816
Horotiu (30-40 cm)	6.0	0.5	-	12.3	24.9	584
Hamilton Clay (0-5 cm)	5.1	4	21.5	19	30	1724
Hamilton Clay (30-40 cm)	4.1	0.8	-	13.4	46.2	620
Cama de Frango	8.1	-	-	-	-	-

\* CBM = carbono da biomassa microbiana

Tabela 2 – Parâmetros de sorção para ciprofloxacina e enrofloxacina em amostras superficiais (0-5 cm) de dois solo Neozelandeses

Tratamento	pH <sup>#</sup>	K <sub>d</sub> <sup>medio</sup> (L kg <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	K <sub>f</sub> (g <sup>1-N</sup> L <sup>N</sup> kg <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	N
CIP						
Horotiu	4,79	5.827	0,95	2.479	0,98	0,84
Horotiu + 1% CF*	5,03	5.347	0,94	1434	0,99	0,76
Horotiu + 5% CF	5,74	4.849	0,90	995	0,98	0,70
Hamilton	4,50	23.565	0,84	2.352	0,98	0,66
Hamilton + 1% CF	4,92	18.535	0,74	777	0,99	0,54
Hamilton + 5% CF	5,68	5.282	0,92	1.452	0,98	0,75
ENR						
Horotiu	4,78	4.439	0,89	62.163	0,97	1,53
Horotiu + 1% CF*	5,14	4.284	0,96	5.178	0,97	1,05
Horotiu + 5% CF	5,84	4.344	0,90	1.446	0,94	0,80
Hamilton	4,84	34.747	0,90	2.889	0,96	0,68
Hamilton + 1% CF	5,37	30.449	0,66	1.095	0,98	0,54
Hamilton + 5% CF	6,08	13.952	0,84	1.280	0,98	0,63

# pH da solução final de equilíbrio; \* CF = cama de frango

Tabela 3 - Dissipação (DT<sub>50</sub>) de CIP e ENR em amostras de dois solos Neozelandeses

Tratamento	DT <sub>50</sub> (dias)		Coeficiente Determinação (r <sup>2</sup> )	
	CIP	ENR	CIP	ENR
Hamilton Clay (0-5cm)	23,8	45,1	0,99	0,84
Hamilton Clay (30-40 cm)	15,8	27,9	0,98	0,94
Horotiu (0-5 cm)	>70	> 70	0,92	0,97
Horotiu + 1% Cama Frango	>70	> 70	0,91	0,93
Horotiu + 5% Cama Frango	23,1	30,7	0,96	0,96
Horotiu (30-40 cm)	61,2	50,2	0,98	0,95