

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELA BRETERNITZ RIBEIRO

MACRÓFITAS AQUÁTICAS NA REMOÇÃO DE ERITROMICINA DA ÁGUA

CURITIBA

2019

GABRIELA BRETERNITZ RIBEIRO

MACRÓFITAS AQUÁTICAS NA REMOÇÃO DE ERITROMICINA DA ÁGUA

Monografia apresentada à disciplina Estágio Supervisionado em Biologia (BIO028), como requisito parcial à conclusão da modalidade de Bacharelado do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Marcelo Pedrosa Gomes, Ph.D

CURITIBA

2019

AGRADECIMENTOS

Agradecer em meio ao cansaço muitas vezes é bem difícil, mas olhar para o resultado de muito aprendizado e experiências que nunca havia provado anteriormente, me faz refletir que, de fato, há muito a agradecer.

Agradecer, primeiramente, ao Deus que me deu energia e capacidade para aprender tanta coisa, e tem me capacitado a melhorar e ser melhorada.

Sou muito grata pela vida do professor Marcelo, por ter me desafiado a trabalhar com algo novo e por ter aceitado me orientar mesmo sem me conhecer. Acho que tive um dos maiores intensivos de aprendizagem da vida, sem exageros.

Agradeço por cada integrante do Laboratório de Fisiologia de Plantas sob Estresse da UFPR, que me ensinaram demais e ajudaram muito pra que eu pudesse realizar esse trabalho.

E agradeço também ao Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da UFPR pelo suporte, ajuda e paciência ao compartilhar espaço e equipamentos em vários momentos.

Alegro-me e sou grata também em ter a família que tenho, me apoiando e incentivando a todo momento, proporcionando um ambiente favorável pra que eu pudesse me dedicar aos estudos.

E sou muito agradecida pela vida do meu noivo, Martin. Pelo incentivo, consolo, cuidado e caminhada.

Por cada amigo e amiga que me acompanharam nesses anos de graduação, agradeço.

Finalmente, transbordo de gratidão por tanta oportunidade de aprender, crescer e conhecer mais do que é a ciência.

RESUMO

A contaminação das águas no Brasil e no mundo acontece historicamente devido à diversos fatores e é vista como um problema de saúde pública. Devido à contaminação da água e do solo, microrganismos são cada vez mais expostos a antibióticos, podendo acarretar na seleção de bactérias resistentes. Algumas classes de antibióticos tem grande persistência no ambiente, e dentre elas a dos macrolídeos representa uma das mais comumente utilizadas. A eritromicina é um macrolídeo de grande importância, listado como Medicamento Essencial pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e também apontada como um antibiótico de alerta por apresentar alto potencial de seleção de bactérias resistentes. Neste contexto, se faz necessário o desenvolvimento de tecnologias para mitigar a ocorrência deste antibiótico no solo e cursos d'água. A fitorremediação é apresentada como uma possível alternativa para descontaminação das águas, sendo que o potencial fitorremediador de macrófitas aquáticas tem sido amplamente estudado. No presente estudo avaliou-se a capacidade fitorremediadora, do antibiótico eritromicina, de quatro espécies de macrófitas aquáticas. As espécies *Salvinia auriculata* e *Lemna minor* foram escolhidas como macrófitas flutuantes, ao passo que *Myriophyllum aquaticum* e *Rotala sp* foram escolhidas como espécies de macrófitas submersas. Espécies submersas demonstraram maior eficiência na fitorremediação de eritromicina da água, embora todas as espécies possam ser indicadas como boas fitorremediadoras tendo apresentado tolerância e boa capacidade de depuração do antibiótico após exposição a concentrações ambientalmente relevantes.

Palavras-chave: Contaminação. Contaminantes emergentes. Antibióticos.
Macrolídeos. Fitorremediação. *Salvinia auriculata*. *Lemna minor*.
Rotala sp. *Myriophyllum aquaticum*.

ABSTRACT

Water contamination is a worldwide concern and an important public health problem. Due to water and soil contamination, microorganisms are increasingly exposed to antibiotics which may result in the selection of resistant bacteria. Some classes of antibiotics have great persistence in the environment, and among them, macrolides are one of the most commonly found. Erythromycin is an important macrolide, listed in the Essential Medicines List from World Health Organization (WHO), also pointed as an alert antibiotic due to its high potential for induce bacteria resistance. In this context, it is necessary the development of technologies to mitigate the occurrence of this antibiotic in soil and water. Phytoremediation is present as a possible alternative for water decontamination, and the potential of aquatic macrophytes to reclaim contaminants from water has been widely studied. Here, we evaluated the capacity of four aquatic macrophyte species to reclaim erythromycin from water. *Salvinia auriculata* and *Lemna minor* were chosen as floating species, while *Myriophyllum aquaticum* and *Rotala sp.* were chosen as submerged macrophytes. Submerged species showed great efficiency to reclaim erythromycin from water than floating macrophytes. However, all of the species may be indicated as good phytoremediators due to their tolerance and antibiotic-reclaim capacity when exposed to relevant erythromycin concentrations.

Keywords: Contamination. Emerging contaminants. Antibiotics. Macrolides. Phytoremediation. *Salvinia auriculata*. *Lemna minor*. *Rotala sp.* *Myriophyllum aquaticum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Concentração de eritromicina em macrófitas aquáticas	15
Figura 2 - Concentração de eritromicina na solução de crescimento	16
Figura 3 - Concentração de clorofila <i>a</i> (mg.mL ⁻¹) em macrófitas aquáticas	17
Figura 4 - Taxa de crescimento relativo em macrófitas aquáticas	18

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
1.1	CONTEXTO E PROBLEMATIZAÇÃO	7
1.2	OBJETIVOS	9
1.2.1	Objetivo geral	9
1.2.2	Objetivos específicos	9
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1	CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMBIENTES AQUÁTICOS	10
2.2	ERITROMICINA	10
2.3	FITORREMEDIAÇÃO	12
3	METODOLOGIA	13
3.1	Bioensaio	13
3.2	Extração e quantificação da eritromicina	13
3.3	Clorofila <i>a</i>	14
3.4	Taxa de crescimento relativo	14
3.5	Análise e estatística	14
4	RESULTADOS	15
4.1	Concentração final de eritromicina nas plantas	15
4.2	Concentração final de eritromicina na água	16
4.3	Clorofila <i>a</i>	17
4.4	Crescimento relativo	17
5	DISCUSSÃO	19
6	CONCLUSÕES	21
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTO E PROBLEMATIZAÇÃO

O Brasil é o país com maior volume de água disponível, com aproximadamente 12% da capacidade global. Ainda assim, não deixa de estar suscetível à escassez desse recurso natural, principalmente devido ao processo de degradação da qualidade dos recursos hídricos por atividades antrópicas (VAL *et al.*, 2019).

A contaminação das águas no Brasil acontece historicamente devido à emissão de metais pesados decorrente do acelerado desenvolvimento industrial, atividades minerárias e desmatamentos (com resultante aceleração da erosão do solo); ao acúmulo de matéria orgânica que leva à eutrofização das águas de rios, reservatórios e lagos e ao crescimento da agricultura com uso de pesticidas, fertilizantes e fármacos (VAL *et al.*, 2019).

Devido à contaminação da água e solo, microrganismos são cada vez mais expostos a antibióticos, o que tem alertado para a contaminação de solos e águas por estes químicos e pode acarretar na seleção de bactérias resistentes. Algumas classes de antibióticos tem grande persistência no ambiente, por isso seu monitoramento é importante para buscar minimizar sua emissão e seus impactos (SOUZA, 2009).

Dentre as classes de antibióticos, a dos macrolídeos representa uma das mais comumente utilizadas (VESELI *et al.*, 2019). A eritromicina (ERI) é um macrolídeo de grande importância, listado como Medicamento Essencial pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e também apontada como um antibiótico de alerta (WHO, 2019), o que significa que apresenta grande potencial de indução de resistência em bactérias. Neste contexto, se faz necessário o desenvolvimento de tecnologias para mitigar a ocorrência deste antibiótico no solo e cursos d'água.

A fitorremediação é apresentada como uma possível alternativa para descontaminação das águas, tendo em vista tantos agentes de contaminação e a ineficiência na remoção de produtos farmacêuticos durante os processos convencionais de tratamento de água (VESELI *et al.*, 2019). A técnica consiste no

uso de plantas para absorção de poluentes (JONER & LEYVAL, 2003) mitigando ou reduzindo sua ocorrência nos ambientes (PIRES, *et al.* 2003). A fitorremediação é considerada uma tecnologia verde e de baixo custo e seu emprego na descontaminação de águas tem sido amplamente utilizado (Bokhari *et al.*, 2016; GHANEM *et al.*, 2019).

No caso da descontaminação de águas, o potencial fitorremediador de macrófitas aquáticas tem sido bastante estudado (PIRES *et al.*, 2003; Gujarathi *et al.*, 2006; NEWETE e BYRNE, 2016; FREITAS *et al.*, 2018; GOMES *et al.*, 2019). Tais plantas têm se mostrado eficientes para bioacumulação, filtração, extração e monitoramento de poluentes aquáticos (GHANEM *et al.*, 2019). Entretanto, devido à sua diversidade, ainda se discute qual o melhor hábito, se aquáticas submersas ou flutuantes, de macrófitas a serem utilizadas para a fitorremediação.

Portanto, no presente estudo avaliou-se a capacidade fitorremediadora, do antibiótico eritromicina, de quatro espécies de macrófitas aquáticas. As espécies *Salvinia auriculata* e *Lemna minor* foram escolhidas como macrófitas flutuantes, ao passo que *Myriophyllum aquaticum* e *Rotala sp.* foram escolhidas como espécies de macrófitas submersas.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar a capacidade de remoção do antibiótico eritromicina da água pelas diferentes macrófitas aquáticas *Salvinia auriculata*, *Lemna minor*, *Myriophyllum aquaticum* e *Rotala sp.*

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar qual das espécies é mais eficiente na remoção de eritromicina da água.
- Avaliar qual o melhor hábito, aquática submersa ou flutuante, de macrófita a ser usada na fitorremediação.
- Avaliar se existem alterações nos aspectos fisiológicos das plantas referentes à exposição ao antibiótico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMBIENTES AQUÁTICOS

A qualidade da água é uma das questões políticas ambientais prioritárias da atualidade devido à demanda de segurança e limpeza dos recursos hídricos (SOUSA *et al.*, 2018). Políticas de monitoramento da água e seus poluentes têm sido adotadas e determinadas por alguns documentos, como a Diretiva 2008/105/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de dezembro de 2008, executada a partir do ano de 2015, por exemplo. No Brasil, o órgão responsável pelo monitoramento das águas superficiais e subterrâneas é a Agência Nacional das Águas (ANA).

Substâncias farmacêuticas, hormônios, produtos agrícolas (pesticidas) e medicamentos veterinários são citados como micropoluentes que atingem as águas ao serem liberados nas fezes e urina, descartados irregularmente ou carreados pelas chuvas (SOUSA *et al.*, 2018; GOGOI *et al.*, 2018). Estas são algumas das substâncias denominadas contaminantes emergentes, as quais têm apresentado impactos negativos tanto em formas de vida aquática e terrestre, bem como à saúde humana (GOGOI *et al.*, 2018).

A presença de baixas concentrações de antibiótico no ambiente tem sido apontada por estudos recentes como fator de seleção e propagação de resistência em bactérias alvo, incluindo espécies patogênicas de elevado risco à saúde humana (SANDEGREN, 2019). Portanto, ambientes contaminados com antibióticos provenientes do uso humano, de esgoto, de fazendas e efluentes de indústrias farmacêuticas devem estar selecionando organismos resistentes, com sérios riscos à saúde pública.

2.2 ERITROMICINA

Antibióticos surgiram como inovação no âmbito da saúde tanto humana como veterinária, sendo utilizados também na agricultura, aquicultura, apicultura e como promotores de crescimento na pecuária (SHASHIDHAR e GOTHWAL, 2014).

Sabendo que hospitais são locais de uso intensivo de fármacos, Souza (2009) realizou um estudo nas UTIs de um hospital da cidade de Curitiba (Paraná, Brasil) e constatou risco ambiental pelo uso elevado de antibióticos. Os dados mostraram que as UTIs têm um potencial poluente significativo no hospital, considerando que o consumo de antibióticos na UTI corresponde aproximadamente à 25% do total consumo do hospital enquanto o número de camas na UTI representa apenas 10% do número total de camas no hospital.

Quanto ao uso veterinário de antimicrobianos, Kuppusamy *et al.* (2018) reuniram diversos trabalhos apontando a problemática dos antibióticos usados na criação de animais. Anualmente, toneladas de antibióticos veterinários são utilizados e liberados no solo, plantas, água e ar. Inclusive o uso de esterco como fertilizante na agricultura é um fator de preocupação, pois o estrume contém quantidades significativas de produtos farmacêuticos utilizados intensivamente na criação dos animais e, conseqüentemente, há um acúmulo de organismos resistentes (BASTOS *et al.*, 2018).

A eritromicina é um medicamento de ação bactericida utilizado no tratamento de infecções respiratórias, sífilis primária, difteria, eritrasma, amebíase intestinal entre outras doenças. É um antibiótico macrolídeo, que atua na inibição da síntese proteica bacteriana, conforme consta em bula da ANVISA. É um antimicrobiano também utilizado na medicina veterinária e criação de animais (REGITANO e LEAL, 2010). É um medicamento de grande importância, listado como Medicamento Essencial pela OMS (2019), mas é também listado como um antibiótico de alerta, utilizado em estudos de resistência bacteriana devido à sua potente capacidade de induzir resistência (ORTIZ *et al.*, 2009).

Schafhauser *et al.* (2018) apresentam uma compilação de dados da concentração de eritromicina em diferentes matrizes de água, desde águas superficiais a marítimas e também em águas subterrâneas, ressaltando a necessidade de mais estudos que avaliem os impactos da presença desse antibiótico na água ao redor do mundo. Segundo amostrado em 2018 pelo estudo, a América do Sul apresentou poucos artigos e dados a respeito da eritromicina e sua contaminação nos diferentes ambientes. Trabalhos abordando o tema eram em sua maioria da Ásia, Europa e América do Norte.

A partir de dados recentes da literatura, as concentrações de ERI registradas nas águas naturais, superficiais e de efluentes em países como Estados Unidos, Espanha, Alemanha e China, variam de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ a $2,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ (BILA e DEZOTTI, 2003; REGITANO e LEAL, 2010; VALCÁRCEL *et al.*, 2011; SOUSA *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2018). No Brasil, estudando a ocorrência de antibióticos em rios sob influência urbana e agrícola, Gomes e colaboradores observaram concentrações de eritromicina de $1.7 \mu\text{g L}^{-1}$ (dados não publicados). Portanto, essa foi a concentração escolhida para o desenvolvimento do presente estudo.

2.3 FITORREMEDIAÇÃO

LIU *et al.* (2018) apontam uma série de fatores de risco ao ambiente e à saúde humana devido ao acúmulo de antibióticos em ambientes aquáticos. GOTHWAL e SHASHIDHAR (2014) apontam a problemática da falta de água boa para beber como uma questão enfrentada pela maioria dos países.

Na busca por soluções para este problema de saúde pública, a fitorremediação surge como uma alternativa interessante para descontaminação de ambientes aquáticos. Através dessa técnica é possível promover o sequestro, acúmulo, modificação, remoção ou degradação de contaminante por plantas (PRAKASH *et al.*, 2015).

A técnica tem destaque também devido à questões econômicas referentes ao tratamento da água, o qual é extremamente caro (Val *et al.*, 2019). Por exemplo, a produção de água potável a partir de recursos degradados pelos métodos tradicionais, é de 20 a 30 vezes mais custosa do que o tratamento de águas cristalinas e não contaminadas. Neste contexto, GHANEM *et al.* (2019) mencionaram a técnica da fitorremediação como eficiente, de baixo custo e duradoura, e afirmam que a implementação de uma remediação sustentável como esta, é essencial para o combate à contaminação das águas e consequências associadas.

3 METODOLOGIA

3.1 Bioensaio

Foi realizado um bioensaio, para o qual foram selecionadas macrófitas aquáticas submersas das espécies *Myriophyllum aquaticum* e *Rotala* sp. e as espécies flutuantes *Lemna minor* e *Salvinia auriculata*.

Aproximadamente 0,9 g de plantas foram colocadas em Erlenmeyers de 250 mL, contendo 100 mL de água reconstituída (0.588 mg $\text{CaCl}_2 \text{ L}^{-1}$, 0.246 mg $\text{MgSO}_4 \text{ L}^{-1}$, 0.126 mg $\text{NaHCO}_3 \text{ L}^{-1}$, 0.055 mg KCl L^{-1}), e as devidas concentrações de eritromicina. Eritromicina, grau analítico (Sigma Aldrich, Canadá) foi utilizada nos tratamentos. Primeiramente, uma solução estoque de 1 mg.mL^{-1} foi formulada em água ultrapura, a partir da qual foi feita a devida diluição para as concentrações de eritromicina desejadas.

As espécies foram submetidas à ausência ($0 \text{ } \mu\text{g. L}^{-1}$) ou presença ($1,7 \text{ } \mu\text{g. L}^{-1}$) de eritromicina, conforme sua ocorrência em cursos hídricos do município de Curitiba (Paraná, Brasil). Para avaliar a degradação natural do antibiótico, frascos com as mesmas concentrações de eritromicina mas sem a presença de plantas foram utilizados. Os frascos foram acondicionados aleatoriamente em câmara climatizada tipo B.O.D, onde permaneceram por sete dias à temperatura de $24^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, intensidade de luz de $100 \text{ } \mu\text{mol.m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e fotoperíodo de 12 horas, conforme recomendações da “OECD guidelines for the testing of chemicals” (OECD, 2006). Foram utilizadas quatro repetições por tratamento e um delineamento inteiramente casualizado.

3.2 Extração e quantificação da eritromicina

Ao início e ao final do período experimental, 15 mL da solução de cultivo foram coletados de cada frasco para avaliação da concentração inicial e final de eritromicina. A determinação das concentrações de eritromicina nas plantas foi feita em material vegetal seco em estufa de circulação constante à 50°C . A extração do antibiótico nas plantas foi feita pela homogeneização do material vegetal seco em

solução acetonitrila contendo 1% em ácido acético segundo Palmada *et al.* (2000) com modificações de Migliore *et al.* (2003). Após sonicação (5 min) e centrifugação (10 min a 3000 x g) das amostras de planta, o sobrenadante foi coletado, seco em fluxo de nitrogênio e juntamente com as amostras de solução de crescimento, foram avaliadas pelo método de cromatografia líquida (HPLC) acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) em modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), conforme Pierattini *et al.* (2016).

3.3 Clorofila a

A análise da concentração de clorofilas foi realizada segundo protocolo de Lichtenthaler e Wellburn (1983) e Vernon (1960), utilizando-se solução fria de acetona 80% em condições de escuro. As leituras de absorvância das amostras foram feitas nos comprimentos de onda 646, 470 e 663 nm, utilizando o espectrofotômetro UVevis Multiskan TMGO Microplate Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA). A concentração de clorofila a foi expressa em mg.mL⁻¹.

3.4 Taxa de crescimento relativo

Para cálculos do crescimento relativo (OECD, 2006) foi medida a massa fresca (MF) das plantas antes (T0) e depois (T7) do experimento e o valor foi definido pela fórmula:

$$\text{Taxa de crescimento relativo} = \frac{MFT0 - MFT7}{7}$$

3.5 Análise e estatística

Para análise e estatísticas foi utilizado o programa JMP (versão 7.0). Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro Wilk e testes de homogeneidade de Bartlett, e avaliados por ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS

4.1 Concentração final de eritromicina nas plantas

Não foram observadas concentrações significantes de eritromicina nas plantas ao início do experimento (dados não mostrados) e nas plantas dos tratamento controle ($0 \mu\text{g.L}^{-1}$) sete dias após os tratamentos. Entretanto, após o sétimo dia de experimento, a eritromicina no tecido das macrófitas submersas (*M. aquaticum* e *Rotala sp.*) apresentou a maior concentração em relação às macrófitas flutuantes (*S. auriculata* e *L. minor*) em plantas do tratamento com o antibiótico ($1,7 \mu\text{g.L}^{-1}$) ($F= 5.49$ e $P<0.05$) (Figura 1).

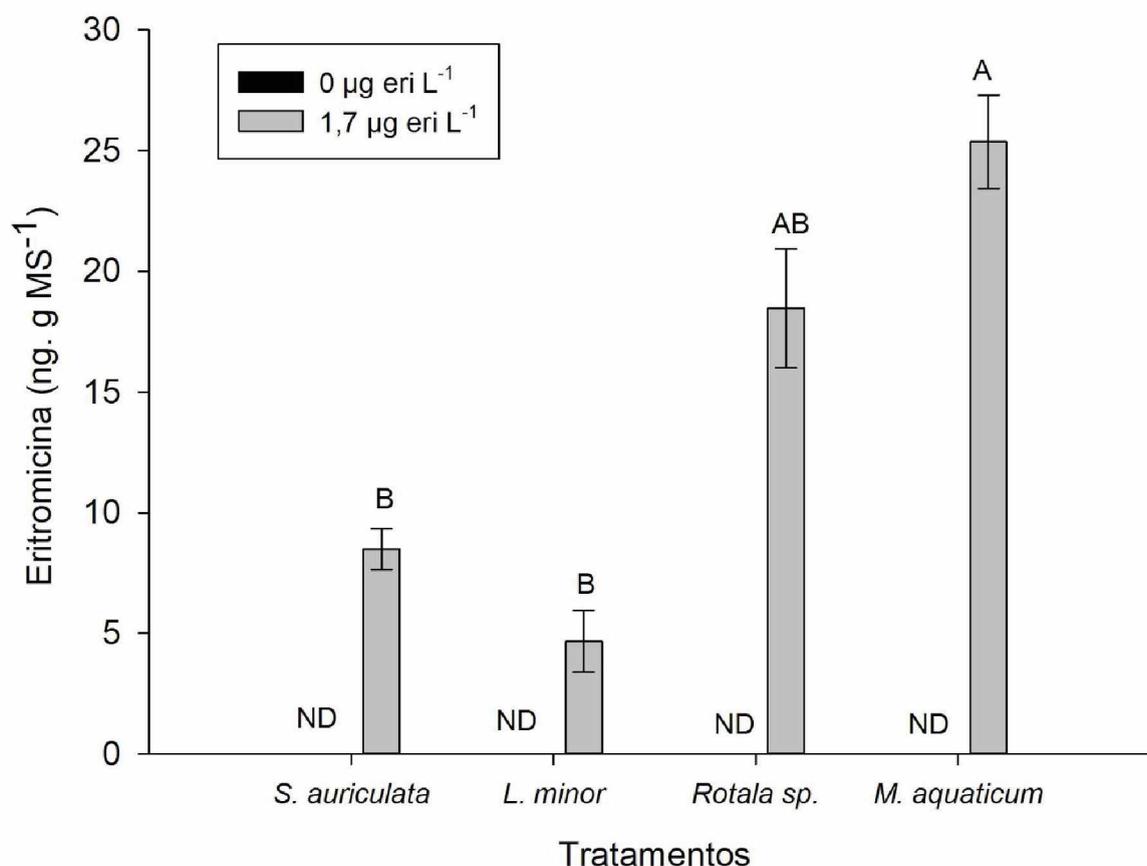


Figura 1: Concentração de eritromicina em macrófitas aquáticas após os sete dias de exposição a 0 ou $1,7 \mu\text{g.L}^{-1}$ do antibiótico. Letras representam diferença significativa entre as espécies tratadas com eritromicina pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ND= não detectado. MS= massa seca.

4.2 Concentração final de eritromicina na solução de crescimento

Não foram observadas concentrações de eritromicina na solução de crescimento dos tratamentos controle (Figura 2). A concentração de eritromicina diminuiu na solução de crescimento após os sete dias de experimento em todos os tratamentos, independente da presença de plantas ($F=49.47$; $P<0.05$). A concentração do antibiótico na solução de crescimento foi significativamente menor ($P<0.05$) nos tratamentos com planta em relação ao tratamento sem planta (Figura 2). Quanto aos tratamentos com plantas, menor concentração de eritromicina foi observada na solução de crescimento das espécies submersas (*M. aquaticum* e *Rotala sp.*) do que nas das espécies flutuantes (*S. auriculata* e *L. minor*) ($P<0.05$; Figura 2).

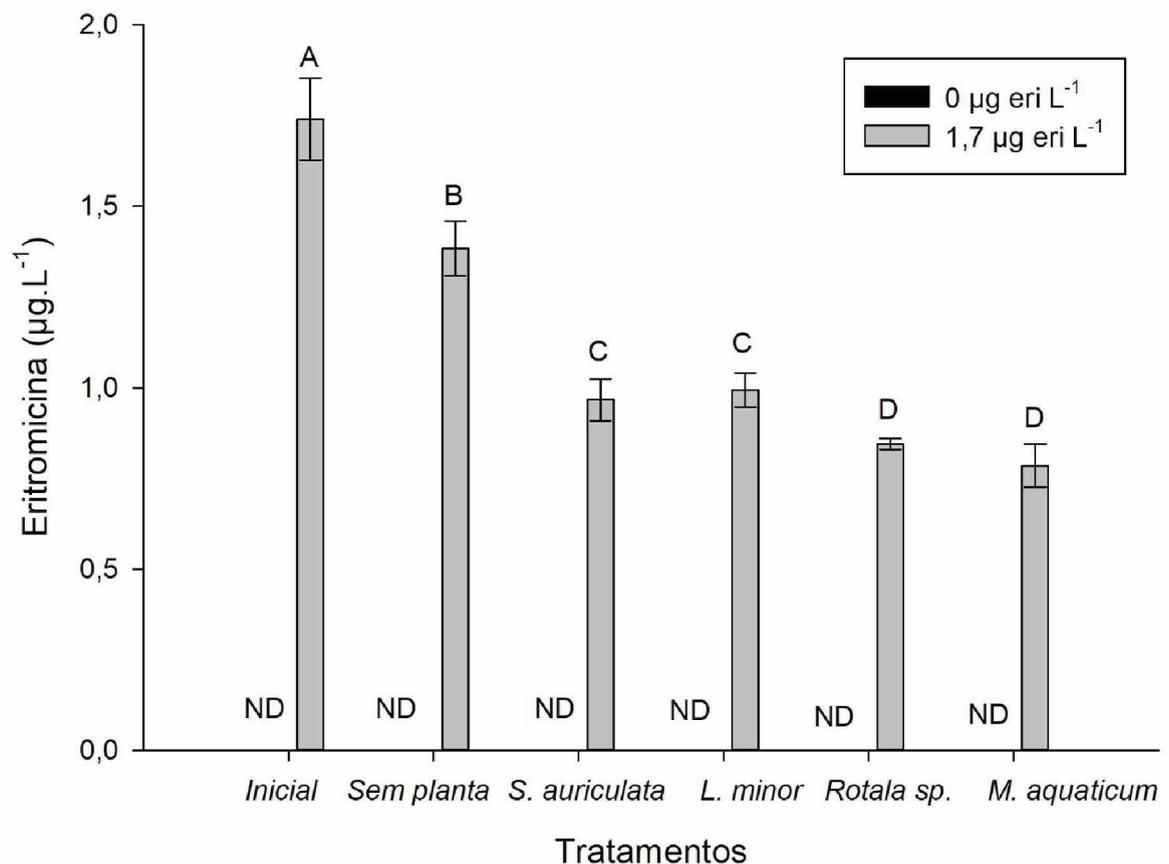


Figura 2: Concentração de eritromicina na solução de crescimento no tempo 0 (inicial) e aos sete dias de experimentação. Letras representam diferença significativa entre as espécies tratadas com eritromicina pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ND= não detectado.

4.3 Clorofila a

A concentração de clorofila a ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) não diferenciou significativamente ($F=1.05$; $P>0.05$) entre as espécies de macrófitas e sob diferentes concentrações de eritromicina após os sete dias de exposição (Figura 3).

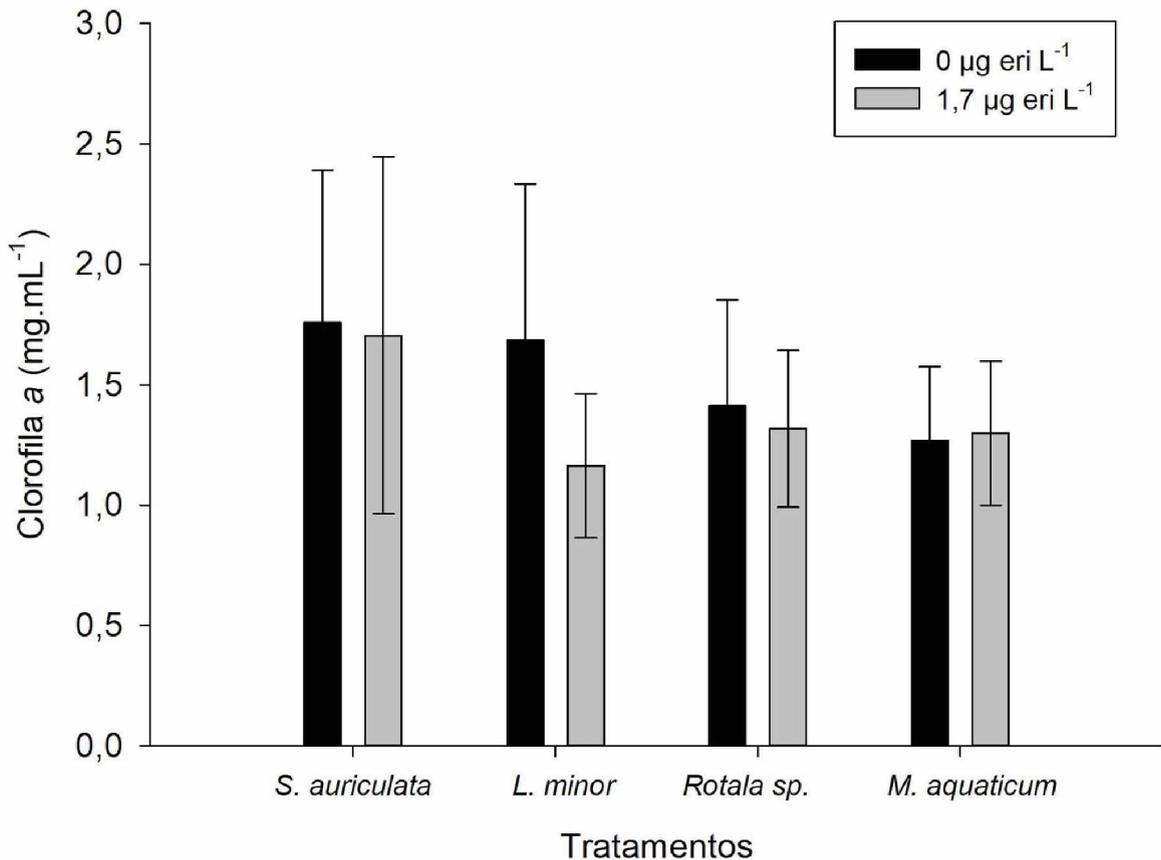


Figura 3: Concentração de clorofila a ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) em macrófitas aquáticas após os sete dias de exposição a 0 ou 1,7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ do antibiótico.

4.4 Crescimento relativo

Maior taxa de crescimento relativo foi observado em *S. auriculata* em relação a *Rotala sp.* ($F = 4.80$; $P<0.05$) (Figura 4). O tratamento com eritromicina não afetou significativamente a taxa de crescimento relativo das plantas.

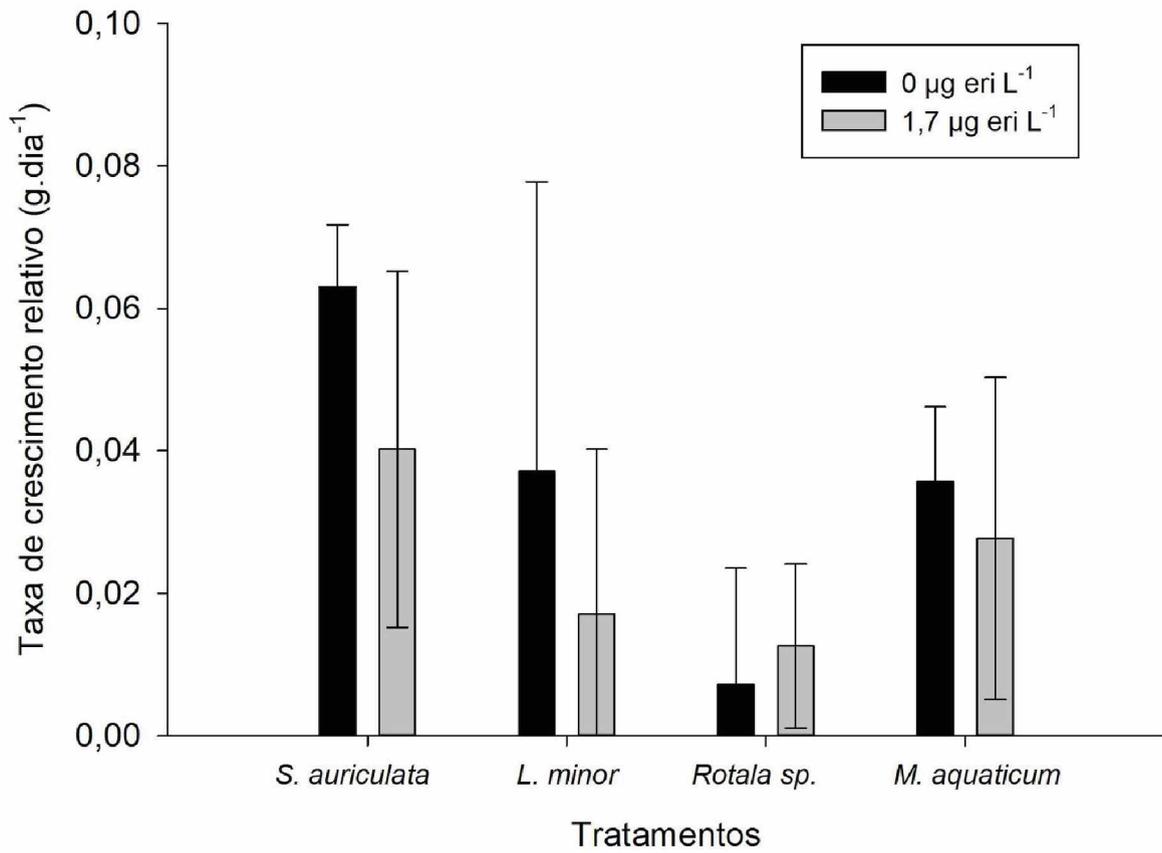


Figura 4: Taxa de crescimento relativo em macrófitas aquáticas após os sete dias de exposição a 0 ou 1,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$ do antibiótico.

5 DISCUSSÃO

Embora todas as espécies tenham demonstrado eficiência na absorção do antibiótico da água, os resultados de concentração de antibiótico nas plantas e na solução de crescimento após sete dias de exposição demonstraram que as macrófitas aquáticas submersas foram mais eficientes na fitorremediação de eritromicina que plantas flutuantes (Fig. 1 e 2).

A eficiência das espécies *M. aquaticum* e *Rotala sp.* na fitorremediação de metais pesados como Arsenio, e antibióticos como tetraciclinas e oxitetraciclinas, já foi observada por Gujarathi *et al.*, (2005); Souza *et al.* (2013); Marbaniang e Chaturvedi, (2014); Dogan *et al.*, (2015) e Prakash *et al.* (2015). Semelhantemente, Gomes *et al.* (2017) observaram a capacidade de *L. minor* em absorver o antibiótico ciprofloxacino da água. A maior capacidade fitorremediadora das espécies submersas porém, pode ser atribuído à maior superfície de contato das plantas submersas com a água, o que possibilita maior absorção de contaminantes (Newete e Byrne, 2016).

Observou-se que a degradação física da eritromicina ocorre, uma vez que houve diminuição da concentração do antibiótico no meio de cultivo dos tratamentos que não receberam plantas (Fig. 2). Conforme mencionado na literatura, a degradação da eritromicina é naturalmente induzida por radiação UV (SILVA *et al.*, 2017; VOIGT *et al.*, 2018; CHU *et al.*, 2019). Embora este processo não seja suficiente para degradar completamente o antibiótico, a fotodegradação pode explicar a redução de eritromicina nas soluções de amostras sem plantas. Entretanto, uma vez que a concentração de eritromicina foi menor na solução de crescimento dos tratamentos que receberam plantas, que na dos tratamentos sem plantas ($P < 0.05$; Fig. 2), demonstra-se que a fitorremediação se mostrou eficiente pelas macrófitas aquáticas utilizadas neste trabalho.

Uma das condições para a escolha de espécies eficazes a serem empregadas na fitorremediação, é que estas sejam tolerantes aos xenobiontes. Portanto, foram estudadas as concentrações de clorofila *a* e o crescimento relativo das plantas, dados que foram utilizados para aferir a saúde das macrófitas. A clorofila *a* é o principal pigmento envolvido na fotossíntese de eucariotos

fotossintetizantes. É essencial para que ocorra a etapa fotoquímica da fotossíntese destes organismos (RAVEN et al., 2007; TAIZ e ZEIGER, 2009), de modo que a redução na concentração de clorofila *a* poderia afetar a fotossíntese negativamente. A taxa de crescimento relativo demonstra se há crescimento ou redução da massa fresca das plantas ao longo do tratamento.

Uma vez que os dados de clorofila *a* e crescimento relativo não foram afetados significativamente na presença do antibiótico ($P < 0.05$) em relação aos grupos controle, as espécies de macrófitas demonstraram ser tolerantes a concentrações ambientalmente relevantes de eritromicina. A tolerância das espécies de macrófitas à toxicidade de ambientes aquáticos é também citada em diversos outros estudos (DHIR, 2009; BIANCONI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2013; MARBANIANG e CHATURVEDI, 2014).

Tendo em vista que sob a concentração de $1,7 \mu\text{g.L}^{-1}$, concentração ambientalmente relevante, todas as macrófitas aquáticas demonstraram tolerância e capacidade de absorção da eritromicina, todas as espécies podem ser indicadas para fitorremediação desse antibiótico, sendo que as plantas submersas têm maior eficiência.

Quanto a eficiência na remoção de contaminantes da água, Souza *et al.* (2013) apontam para a importância de troca subsequente das plantas durante o processo de descontaminação, por plantas mais jovens, para evitar que os poluentes retornem ao ambiente. Essa problemática referente ao descarte de plantas utilizadas na fitorremediação tem sido ainda estudada, mas exemplos interessantes são a biogásificação e o uso das espécies fitorremediadoras como biocombustível. A carbonização e incineração também são mencionadas como possibilidades de descarte (NEWETE e BYRNE, 2016).

6 CONCLUSÕES

As espécies submersas (*M. aquaticum* e *Rotala sp.*) foram as espécies de macrófitas aquáticas de melhor desempenho para remoção de eritromicina da água no período de sete dias, em relação às espécies flutuantes *S. auriculata* e *L. minor*.

Apesar da degradação natural da eritromicina em amostras sem plantas, os resultados mostraram que a presença de macrófitas aquáticas em solução reduz a concentração do antibiótico na água, além de que sob concentrações ambientalmente relevantes ($1,7 \mu\text{g.L}^{-1}$), as espécies demonstraram ser tolerantes, não tendo sua saúde afetada significativamente na presença de eritromicina.

Portanto, as quatro espécies de macrófitas aquáticas utilizadas neste trabalho são indicadas para fitorremediação, sendo que espécies submersas têm maior eficiência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTOS, M. C.; SANTOS, D. R.; AUBERTHEAU, É.; LIMA, J. A. M. C.; LE GUET, T.; CANER, L.; MONDAMERT, L. e LABANOWSKI, J. **Antibiotics and microbial resistance in Brazilian soils under manure application**. WILEY, 2018.
- BIANCONI, D.; PIETRINI, F.; MASSACCI, A. e LANNELLI, M. A. **Uptake of Cadmium by *Lemna minor*, a (hyper?) accumulator plant involved in phytoremediation applications**. E3S Web of Conferences 1. 2013.
- BILA, D. M. e DEZOTTI, M. **Fármacos no meio ambiente**. Quim. Nova, Vol. 26, No. 4, p.523-530. 2003.
- BOKHARI, S. H.; AHMAD, I.; MAHMOOD-UL-HASSAN, M. e MOHAMMAD, A. **Phytoremediation potential of *Lemna minor* L. for heavy metals**. International Journal of Phytoremediation. Vol. 18, No. 1, 2532. 2016.
- CHU, L.; ZHUAN, R.; CHEN, D.; WANG, J. e SHEN, Y. **Degradation of macrolide antibiotic erythromycin and reduction of antimicrobial activity using persulfate activated by gamma radiation in different water matrices**. Chemical Engineering Journal, 361. p.156-166. 2019.
- DHIR, B. ***Salvinia*: an Aquatic Fern with Potential Use in Phytoremediation**. Environment & We an International Journal of Science. 4, p.23-27. 2009.
- DOGAN, M.; AKGUL, H.; INAN, O. G. e ZEREN, H. **Determination of cadmium accumulation capabilities of aquatic macrophytes *Ceratophyllum demersum*, *Bacopa monnieri* and *Rotala rotundifolia***. Iranian Journal Fisheries Sciences. 2015.
- FREITAS, F.; LUDARDI, S.; SOUZA, L. B.; VON DER OSTEN, J. S. C.; ARRUDA, R.; ANDRADE, R. L. T. e BATTIROLA, L. D. **Accumulation of copper by the aquatic macrophyte *Salvinia biloba* Raddi (Salviniaceae)**. Brazilian Journal of Biology, vol. 78, no. 1, p.133-139. 2018.
- GHANEM, H.; CHALAK, L. e BAYDOUN, S. **Phytoremediation of Lebanese polluted waters: a review of current initiatives**. MATEC Web of Conferences 281. 2019.
- GOGOI, A.; MAZUMDER, P.; TYAGI, V. K.; CHAMINDA, G.G. T.; AN, A. K. e KUMAR, M. **Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review**. Groundwater for Sustainable Development, Volume 6, p.169-180. 2018.
- GOMES, M. P.; GONÇALVES, C. A.; DE BRITO, J. C. M.; SOUZA, A. M.; CRUZ, F. V. S.; BICALHO, E. M.; FIGUEIREDO, C. C. e GARCIA, Q. S. **Ciprofloxacin induces oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.): Implications for**

energy metabolism and antibiotic-uptake ability. Journal of Hazardous Materials, 328. p. 140-149. 2017.

GOMES, M. P.; TAVARES, D. S.; RICHARDI, V. S.; MARQUES, R. Z.; WISTUBA, N.; BRITO, J. C. M.; SOFFIATTI, P.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; SILVA, M. A. N. e JUNEAU, P. **Enrofloxacin and Roudup interactive effects on the aquatic macrophyte *Elodea canadensis* physiology.** Environmental Pollution 249, p.453-462. 2019.

GUJARATHI, N. P.; HANEY, B. J e LINDEN, J. C. **Phytoremediation Potential of *Myriophyllum aquaticum* and *Pistia stratiotes* to Modify Antibiotic Growth Promoters, Tetracycline, and Oxytetracycline, in Aqueous Wastewater Systems.** International Journal of Phytoremediation, 7:2, p.99-112. 2005.

JONER, E. e LEYVAL, C. **Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants: a new aspect of rhizosphere interactions.** Agronomie 23, p.495-502. INRA, EDP Sciences, 2003.

KUPPUSAMY, S.; KAKARLA, D.; VENKATESWARLU, K.; MEGHARAJ, M.; YOON, Y. E. e BOK, Y. L. **Veterinary antibiotics (VAs) contamination as a global agro-ecological issue: A critical view.** Agriculture, Ecosystems and Environment 257 p.47-59. 2018.

LICHTENTHALER, H. K. e WELLBURN, A. R. **Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.** Biochem. Soc. Tans. 11, p.591-592. 1983.

LIU, X.; LU, S.; GUO, W.; XI, B. e WANG, W. **Antibiotics in the aquatic environments: A review of lakes, China.** Science of the Total Environment 627, p.1195-1208. 2018.

MARBANIANG, D. e CHATURVEDI, S. S. **Laboratory Study Of Arsenic Uptake And Phytoremediation Potential Of Three Aquatic Macrophytes Of Meghalaya, India.** International Journal of Scientific & Technology Research Volume 3, Issue 7. 2014.

MIGLIORE, L.; COZZOLINO, S. e FIORI, M. **Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants.** Chemosphere 52, p.1233-1244. 2003.

NEWETE, S. W. e BYRNE, M. J. **The capacity of aquatic macrophytes for phytoremediation and their disposal with specific reference to water hyacinth.** Environmental Science and Pollution Research. Springer. 2016

Organization for Economic Co-operation and Development. **Test No. 221: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test, Guidel.** Test. Chem. p.1-26. 2006.

ORTIZ, J. H. T.; QUINTANILLA, J. C.; PORRAS, A. A.; TATAJE, J. F.; QUINTANA, G. H. e ALLISON, H. G. **Resistencia a clindamicina inducida por eritromicina en**

***Staphylococcus aureus* aislados de tres hospitales de Lima, Perú.** Acta Médica Peruana, 26. 2009.

PIERATTINI, E. C.; FRANCINI, A.; RAFFAELLI, A. e SEBASTIANI, L. **Morpho-physiological response of *Populus alba* to erythromycin: A timeline of the health status of the plant.** Science of the total environment 569-570, 540-547. 2016.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; PROCÓPIO, S.O.; SANTOS, J.B.; SANTOS, E. A. e CECON, P. R. **Seleção de plantas com potencial para fitorremediação de Tebuthiuron.** Planta Daninha, Viçosa-MG, v.21, n.3, p.451-458, 2003.

PRAKASH, A.; VERMA, A.; GOYAL, S. e GAUBA, P. **Remediation of Antibiotics from the Environment.** Journal of Basic and Applied Engineering Research. Print ISSN: 2350-0077; Online ISSN: 2350-0255; Volume 2, Number 8. 2015.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. e EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal.** 7a edição. Editora Guanabara Koogan S. A. 2007.

REGITANO, J. B. e LEAL, R. M. P. **Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, 34. p.601-616, 2010.

SANDEGREN, L. **Low sub-minimal inhibitory concentrations of antibiotics generate new types of resistance.** Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala university, Sweden. ELSEVIER, Sustainable Chemistry and Pharmacy 11, p. 46-48. 2019.

SCHAFHAUSER, B. H.; KRISTOFKO, L. A.; OLIVEIRA, C. M. R. e BROOKS, B. W. **Global review and analysis of erythromycin in the environment: Occurrence, bioaccumulation and antibiotic resistance hazards.** Environmental pollution 238, p.440-451. 2018.

SHASHIDHAR, T. e GOTHWAL, R. **Clean Soil, Air, Water.** CSAWAC Vol. 43. No. 4 p.463-620. 2015.

SILVA, S. W.; ALVES, M. E. P.; HEBERLE, A. N. A.; RODRIGUES, M. A. S. e BERNARDES, A. M. **Degradation of erythromycin by photoelectrochemical process using a metal mixed oxide anode.** 15th International Conference on Environmental Science and Technology. 2017.

SOUSA, J. C. G.; RIBEIRO, A. R.; BARBOSA, M. O.; PEREIRA, M. F. R. e SILVA, A. M. T. **A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines.** Journal of Hazardous Materials 344, 146-162. 2018.

SOUZA, S. M. L.; VASCONCELOS, E. C.; DZIEDZIC, M. e OLIVEIRA, C. M. R. **Environmental risk assessment of antibiotics: An intensive care unit analysis.** Chemosphere 77. p.962-967. Elsevier, 2009.

SOUZA, F. A.; DZIEDZIC, M.; CUBAS, S. A. e MARANHO, L. T. **Restoration of polluted waters by phytoremediation using *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc., Haloragaceae.** Journal of Environmental Management 120, 2013.

TAIZ, L. e ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 4a edição. Editora Artmed, 2009.

VAL, A. L.; BICUDO, C. E. M. B.; BICUDO, D. C.; PUJONI, D. G. F.; SPILKI, F. R.; NOGUEIRA, I. S.; HESPANHOL, I.; CIRILO, J. A.; TUNDISI, J. G.; VAL, P.; HIRATA, R.; AZEVEDO, S. M. F. O.; CRESTANA, S. e CIMINELLI, V. S.T. **Water Quality in the Americas Risks and Opportunities: Water Quality In Brazil.** p.102-126. IANAS, 2019.

VALCÁRCEL, Y.; ALONSO, G. S.; RODRÍGUEZ-GIL, J. L.; GIL, A. e CATALÁ, M. **Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk.** Chemosphere 84 p.1336–1348, 2011.

VERNON, L. E. O. P. **Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts.** Anl. Chem. 32, p.1144-1150. 1960.

VESELI, A.; MULLALLARI, F.; BALIDEMAJ, F.; BERISHA, L.; ŠVORC, L. e ARBNESHI, T. **Electrochemical determination of erythromycin in drinking water resources by surface modified screen-printed carbon electrodes.** Microchemical Journal 148, p.412-418. 2019

VOIGT, M.; BARTELS, I.; NICKISCH-HARTFIEL, A. e JAEGER, M. **Elimination of macrolides in water bodies using photochemical oxidation.** AIMS Environmental Science 5, p.372-388. 2018.

WHO (Worlds Health Organization). **WHO AWaRe Classification Database of Antibiotics,** 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/>>. Acesso em outubro de 2019.