

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

CAROLINE FERNANDA SELLA

Influência da fonte de inóculo sobre a biodegradação de sulfametoxazol em reator anaeróbio de leito fixo estruturado: aspectos cinéticos, operacionais e microbiológicos

São Carlos  
2020



CAROLINE FERNANDA SELLA

Influência da fonte de inóculo sobre a biodegradação de sulfametoxazol em reator anaeróbio de leito fixo estruturado: aspectos cinéticos, operacionais e microbiológicos

Monografia apresentada ao curso de Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP), como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Ambiental.

Orientador: Dr. Rodrigo Braz Carneiro

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Zaiat

São Carlos

2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,  
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS  
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da  
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

S467i      Sella, Caroline Fernanda  
Influência da fonte de inóculo sobre a  
biodegradação de sulfametoxazol em reator anaeróbio de  
leito fixo estruturado: aspectos cinéticos,  
operacionais e microbiológicos / Caroline Fernanda  
Sella; orientador Rodrigo Braz-Carneiro; coorientador  
Marcelo Zaiat. São Carlos, 2020.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --  
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de  
São Paulo, 2020.

1. Micropoluentes. 2. Cinética. 3. Lodo de  
cervejaria. 4. Lodo de avícola. 5. Lodo de estação de  
tratamento de esgoto doméstico. 6. Antibiótico  
sulfonamida. I. Título.

# FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Caroline Fernanda Sella**

Data da Defesa: 20/11/2020

Comissão Julgadora:

Resultado:

**Rodrigo Braz Carneiro (Orientador(a))**

Aprovado

**Isabel Kimiko Sakamoto**

Aprovado

**Guilherme Henrique Duarte de Oliveira**

Aprovado



**Prof. Dr. Marcelo Zaiat**  
Coordenador da Disciplina 1800091 - Trabalho de Graduação



*Ao meu pai Antonio, minha mãe  
Célia e meus amigos pela  
companhia, pelo carinho e pelas  
palavras de apoio durante minha  
caminhada.*





## AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho aos meus pais, Antonio e Célia, que sempre se esforçaram muito para que eu pudesse ter um bom aprendizado dentro das condições possíveis. Aos meus avós que não puderam ter a mesma oportunidade de finalizar seus estudos.

Aos meus amigos que conheci durante a vida e em São Carlos que permanecem comigo e tendo a oportunidades de crescermos juntos. Ao grupo de amigos autointitulados Pico Nick pela parceria e leveza no dia a dia e as minhas amigas, Karen e Mariana, que participaram de todos meus melhores e piores momentos durante a graduação. E a todos aqueles que me mostraram a importância da amizade e da troca de afeto.

A GAPERIA e a todos os amigos que fiz nela, que me ensinaram sobre o samba e como eu posso me expressar a partir da música.

A ENGAIJ e todos aqueles que trabalharam junto a ela para levar mais uma opção de atividade extracurricular e ensino prático para os alunos e alunas da Engenharia Ambiental do *campus*. Experiência que me mostrou o poder do trabalho coletivo e da importância da comunicação.

A todos os professores que passaram por minha vida e sempre mostraram e acreditaram no meu potencial. Aos professores que tive na graduação, principalmente meu orientador Prof. Marcelo Zaiat, que além de professor, é uma inspiração para mim e me ensinou que finalizo este ciclo não apenas como Engenheira Ambiental, mas também uma cidadã mais consciente da sociedade que vivemos e meu papel nela.

Ao meu orientador Dr. Rodrigo Carneiro, que sempre foi muito paciente e atencioso para me ensinar sobre a vivência na carreira acadêmica e pela ajuda que me deu no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

As técnicas do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), Carolina Sabatini, Eloiza Pozzi, Isabel Sakamoto e Maria Angela Adorno, e todos os pesquisadores e colegas que me auxiliaram no laboratório.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de iniciação científica, processo nº 2017/18718-6, concedida para o desenvolvimento deste trabalho e desenvolvimento da ciência e tecnologia brasileira.

A todos aqueles que lutam pela permanência, amplificação e melhoria do ensino, pesquisa e extensão na universidade pública a todos os cidadãos brasileiros.

E a São Carlos, a Universidade de São Paulo e ao Centro Acadêmico Armando de Salles Oliveira (CAASO) que me permitiram as vivências e aprendizados nestes quase 6 anos que os tive como casa.



## RESUMO

SELLA, C. F. **Influência da fonte de inóculo sobre a biodegradação de sulfametoxazol em reator anaeróbio de leito fixo estruturado: aspectos cinéticos, operacionais e microbiológicos.** 2020. 102 p. Monografia (Trabalho de Graduação). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

O sulfametoxazol (SMX) é um antibiótico muito utilizado na medicina humana e veterinária, sendo frequentemente encontrado no esgoto sanitário. Devido a isso, técnicas de remoção desse micropoluentes, nas estações de tratamento de esgoto, vêm sendo estudadas nas últimas décadas, visto ainda que sua presença no meio aquático pode estar ligada ao surgimento de genes de resistência bacteriana. Sendo assim, este estudo teve como objetivo analisar a influência da fonte de inóculo sobre a biodegradação do SMX em reator anaeróbio de leito fixo estruturado com espuma de poliuretano como material suporte, aplicando-se como fontes de inóculo lodos provenientes de reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) de três diferentes estações de tratamento de águas residuárias: abatedouro de aves (LA), cervejaria (LC) e estação de tratamento de esgoto municipal (LM). O reator foi alimentado com substrato sintético simulando esgoto e tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 h. As operações com os três inóculos obtiveram boa eficiência média na remoção da matéria orgânica, com eficiências de  $86 \pm 3 \%$ ,  $84 \pm 4 \%$  e  $84 \pm 5 \%$  com os inóculos LA, LC e LM, respectivamente. A fração molar de metano no biogás se manteve acima de 90 % na operação do reator para os três inóculos e obteve-se alta produção de metano, com rendimento de metano acima de  $270 \text{ mLCH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{DQOremovida}$ . Na remoção do SMX, a operação com o inóculo LA alcançou maior remoção, com média de eficiência de  $91 \pm 6 \%$ . Enquanto o inóculo LC removeu  $84 \pm 6 \%$  e o inóculo LM removeu  $70 \pm 5 \%$ . Além disso, o estudo cinético revelou que a biodegradação do antibiótico ocorreu de forma co-metabólica com o decaimento de DQO. O Domínio *Bacteria* sofreu maior seleção de sua comunidade pelas condições operacionais impostas, enquanto a atividade do Domínio *Archaea* foi favorecida durante a operação dos inóculos. Organismos semelhantes à *Methanosaeta sp.* foram encontrados nos inóculos LA e LM e organismos semelhantes à *Methanosaeta sp.*, *Methanosarcina sp.* e bacilos fluorescentes, no inóculo LC. Conclui-se, portanto, que a fonte de inóculo influenciou na biodegradação do SMX.

**Palavras-chave:** Micropoluentes; Cinética; Lodo de cervejaria; Lodo de avícola; Lodo de estação de tratamento de esgoto doméstico; Antibiótico sulfonamida.

## ABSTRACT

SELLA, C. F. **Influence of the inoculum source on the biodegradation of sulfamethoxazole in a structured fixed bed anaerobic reactor: kinetic, operational and microbiological aspects.** 2020. 102 p. Monografia (Trabalho de Graduação). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

Sulfamethoxazole (SMX) is an antibiotic widely used in human and veterinary medicine, and is often found in sanitary sewage. In this context, techniques for removing this micropollutant in sewage treatment plants have been studied in recent decades, as its presence in the aquatic environment may be linked to the emergence of bacterial resistance genes. Therefore, this study aimed to evaluate the influence of the inoculum source on the SMX biodegradation in an anaerobic structured bed reactor using polyurethane foam as a support material, inoculated with sludge from the UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) reactor from three different wastewater treatment plant sources such as inoculum: poultry (PS), brewery (BS) and municipal sewage treatment plant (SS). The reactor was fed with synthetic substrate simulating domestic sewage with an average organic load of  $0.410 \text{ gCOD.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  and hydraulic retention time (HRT) of 12 h. The operations with the three inoculants obtained good average efficiency in the removal of organic matter, with efficiencies of  $86 \pm 3\%$ ,  $84 \pm 4\%$  and  $84 \pm 5\%$  with the LA, LC and LM inocula, respectively. The molar fraction of methane in the biogas remained above 90% in the operation of the reactor for the three inocula and high methane production was obtained, with a methane yield above  $270 \text{ mLCH}_4.\text{g}^{-1}\text{CODremoved}$ . In removing SMX, the PS inoculum achieved greater removal, with an average efficiency of  $91 \pm 6\%$ . While the BS inoculum removes  $84 \pm 6\%$  and the SS inoculum removes  $70 \pm 5\%$ . In addition, the kinetic study revealed that antibiotic biodegradation occurred in a co-metabolic pathway with the COD decay. The *Bacteria* Domain underwent greater community selection due to the operational conditions imposed, while the activity of the *Archaea* Domain was favored during the inoculum operation. Organisms similar to *Methanosaeta* sp. were found in PS and SS inoculants and organisms similar to *Methanosaeta* sp., *Methanosarcina* sp. and fluorescent bacilli, without BS inoculum. It is concluded, therefore, that the inoculum source influenced the SMX biodegradation.

**Keywords:** Micropollutant; Kinetics; Brewery sludge; Poultry slaughterhouse sludge; Sewage sludge; Sulfonamide antibiotic.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Origem e vias de contaminação dos corpos d'água por fármacos.....	7
Figura 2 - Estrutura química geral das sulfonamidas (a) e; do sulfametoxazol (b).....	10
Figura 3 - Fases e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.....	17
Figura 4 - Reator de leito fixo estruturado utilizado no trabalho (a); Distribuição da espuma no reator (b).....	22
Figura 5 - Foto da bomba Gilson Minipuls 3 (a); foto da bomba Gilson Minipuls Evolution (b) .....	23
Figura 6 - Esquema do sistema usando o reator anaeróbio de leito fixo estruturado com espuma de poliuretano .....	23
Figura 7 - Foto do pHmêtro Digimed DM-22.....	27
Figura 8 - Foto do digestor HACH COD Reactor (a); foto do espectrofotômetro Nanocolor Vis da marca Macherey-Nagel (b) .....	29
Figura 9 - Foto do gasômetro modelo MGC-1 V30 (Ritter) .....	32
Figura 10 - Variação temporal da DQO afluente e efluente e sua eficiência de remoção na operação do LA (a); LC (b) e; LM (c). O período em vermelho é o tempo de partida .....	40
Figura 11 - <i>Boxplot</i> da eficiência de remoção de DQO .....	41
Figura 12 - Variação temporal da concentração de SMX afluente e efluente e sua eficiência de remoção na operação do LA (a); LC (b) e; LM (c). O período em vermelho é o tempo de partida .....	42
Figura 13 - <i>Boxplot</i> da eficiência de remoção de SMX .....	44
Figura 14 - Variação temporal da composição do biogás. O período em vermelho é o tempo de partida .....	45
Figura 15 - Variação temporal da VMM, RM e PVM na operação. O período em vermelho é o tempo de partida.....	46
Figura 16 - Variação da vazão do biogás durante a operação. O período em vermelho é o tempo de partida .....	47
Figura 17 - <i>Boxplot</i> da VMM (a); PVM (b) e; RM (c).....	48
Figura 18 - <i>Boxplot</i> da concentração de sólidos na operação.....	50
Figura 19 - Distribuição de SSV e SSF no reator após cada operação.....	52
Figura 20 - Variação do pH na operação do LA (a); LC (b) e; inóculo (c). O período em vermelho é o tempo de partida.....	53
Figura 21 - Variação da alcalinidade total na operação do LA (a); inóculo LC (b) e; inóculo (c). O período em vermelho é o tempo de partida.....	54
Figura 22 - Variação da relação AI/AP efluente na operação do LA (a); LC (b) e; LM (c). O período em vermelho é o tempo de partida.....	55

Figura 23 - Perfis cinéticos de remoção da COD e do SMX com pontos amostrais e perfis ajustados de cada fase de operação.....	58
Figura 24 - Dendrograma construído com base no coeficiente de similaridade de Pearson a partir do padrão de banda DGGE para os <i>Domínios Bacteria</i> (a) e <i>Archaea</i> (b) do inóculo (i) e biomassa residual (r) após a operação do reator .....	61
Figura 25 - Morfologias identificadas na microscopia de contraste de fase e fluorescência para as biomassas residuais do reator. Organismos semelhantes a <i>Methanosaeta</i> (a); bacilos (b); estreptobacilos (c); <i>Methanosarcina</i> (fluorescente) (d); bacilos fluorescnetes (e); cocos fluorescentes (f); vibrios (g); estafilococos (h); cocos (i); diplococos (j); esporos ou células em processo de esporulação (k); espiroquetas (l) e; cocobacilos (m).....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ocorrência de SMX ( $\text{ng.L}^{-1}$ ) em diferentes matrizes ambientais segundo a literatura .....	11
Tabela 1 (continuação) - Ocorrência de SMX ( $\text{ng.L}^{-1}$ ) em diferentes matrizes ambientais segundo a literatura .....	12
Tabela 2 - Valores de $K_d$ em $\text{L.kg}^{-1}\text{SS}$ para o SMX descritas na literatura em diferentes lodos .....	15
Tabela 3 - Concentração de sólidos nos inóculos.....	24
Tabela 4 - Composição do meio sintético .....	25
Tabela 5 - Análises físico-químicas realizadas no monitoramento .....	26
Tabela 6 - Concentrações médias de sólidos no efluente na operação dos diferentes inóculos	51
Tabela 7 - Tempo de retenção celular .....	51
Tabela 8 - Concentrações médias de ácidos voláteis normalizadas pelas concentrações de matéria orgânica .....	56
Tabela 9 - Expressões cinéticas de primeira ordem estimadas para a degradação de COD e SMX. Concentrações ( $C_0$ e $C_r$ ) em $\text{mg.L}^{-1}$ para DQO e $\text{ng.L}^{-1}$ para SMX; $k_1$ em $\text{h}^{-1}$ ; $k_1^*$ em $\text{h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$ .....	59
Tabela 10 - Índices de alfa-diversidade da caracterização microbiana de inóculos e comunidades residuais no final da operação do reator.....	62



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	OBJETIVOS.....	5
2.1	Objetivo principal .....	5
2.2	Objetivos específicos .....	5
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1	Fármacos e suas vias de ingresso no meio ambiente .....	6
3.2	Efeitos dos antibióticos no meio aquático .....	8
3.3	Sulfonamidas e Sulfametoxazol.....	9
3.4	Remoção de antibióticos em ETEs convencionais .....	12
3.5	Mecanismos de remoção de antibióticos pelos sistemas de tratamento biológicos...	13
3.5.1	Sorção .....	14
3.5.2	Biodegradação .....	15
3.6	Degradação anaeróbia e metanogênese .....	16
3.7	Reatores anaeróbios de leito fixo com espuma de poliuretano como material suporte 19	
3.8	Escolha do inóculo como fator de desempenho do reator .....	20
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	22
4.1	Configuração do reator e material suporte / condições operacionais .....	22
4.2	Inóculos e partida do reator.....	24
4.3	Substrato sintético.....	25
4.4	Análises físico-químicas .....	26
4.4.1	pH e alcalinidade .....	26
4.4.2	Ácidos voláteis totais.....	28
4.4.3	Demanda Química de Oxigênio (DQO) .....	28
4.4.4	Sólidos .....	30
4.4.5	Produção e composição de biogás .....	32
4.4.6	Determinação de SMX .....	33
4.5	Perfis espaciais de DQO e SMX.....	34
4.6	Avaliação estatística .....	34
4.7	Extração da biomassa do material suporte.....	35
4.8	Extração do SMX da biomassa e avaliação do mecanismo de adsorção .....	36
4.9	Análises microbiológicas .....	37

4.9.1	Microscopia óptica .....	37
4.9.2	Avaliação da comunidade microbiana por PCR/DGGE .....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
5.1	Remoção da DQO .....	39
5.2	Remoção do SMX.....	42
5.3	Produção e rendimento de metano .....	44
5.4	Sólidos .....	49
5.5	pH, alcalinidade e ácidos orgânicos.....	52
5.6	Perfis cinéticos de remoção de DQO e SMX .....	57
5.7	Análises microbiológicas .....	60
6	CONCLUSÕES.....	65
7	REFERÊNCIAS .....	66

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de antibióticos permitiu muitos avanços na medicina humana e veterinária moderna, com o combate à morbidade e mortalidade por doenças infecciosas, além de movimentar a economia mundial por meio de sua produção e comercialização.

Segundo Klein et al. (2018), apenas entre os anos de 2000 e 2015, o consumo mundial de antibióticos teve um aumento de 65%. O consumo desses fármacos e a tendência em continuar aumentando devido aos seus efeitos benéficos à saúde (STASINAKIS; GATIDOU, 2010; VAN BOECKEL et al., 2014), trazem preocupações quanto à ocorrência de antibióticos residuais no meio ambiente pelo despejo a partir das etapas de produção, após o seu uso (via fezes e urina) ou descartados diretamente nos sistemas de esgoto, na forma de resíduos sólidos e efluentes líquidos (TAMBOSI et al., 2010).

A importância de se estudar suas consequências biológicas nas matrizes ambientais receptoras e meios de reduzir seu potencial de contaminação está somado também ao fato de estes microcontaminantes emergentes estarem presente no ambiente em concentrações muito pequenas (na ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{ng.L}^{-1}$ ) (HALLING-SØRENSEN et al., 1998; KARTHIKEYAN; MEYER, 2006), o que torna sua identificação dependente de tecnologias avançadas de detecção (HIRSCH et al., 1999; TERNES et al., 1998) e podem promover patógenos humanos resistentes (KARTHIKEYAN; MEYER, 2006). Dessa forma, o lançamento de antibióticos no meio ambiente é considerado uma ameaça para a saúde pública, conforme as infecções não podem mais ser tratadas com os antimicrobianos conhecidos (HIRSCH et al., 1999; WINTERSDORFF; PENDERS; NIEKERK, 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2014).

Dentre os antibióticos amplamente utilizados está o sulfametoxazol (SMX), pertencente à classe das sulfonamidas. O SMX é responsável pela inibição de uma enzima envolvida na síntese do ácido tetra-hidrólico (YUN et al., 2012). Atualmente, é muito utilizado na medicina veterinária e, na medicina humana, em conjunto com a trimetoprima no tratamento de infecções respiratórias, gastrintestinais, renais e do trato urinário, da pele, entre outras infecções (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006; YUN et al., 2012). É frequentemente detectado no ambiente aquático em todo o mundo e em efluentes de estações de tratamento de água residuárias (ETARs) (HEBERER, 2002; LOCATELLI; SODRÉ; JARDIM, 2011; ZHAO et al., 2016), no qual não é totalmente degradado nos sistemas de tratamento convencionais (DANNER et al., 2019; LIMA GOMES et al., 2015; LUO et al., 2014).

Para tentar obter a melhoria na remoção de antibióticos nas estações de tratamento de esgotos convencionais e até mesmo sua eliminação, tecnologias mais avançadas vêm sendo estudadas, como processos de oxidação avançada, ozonização, radiação UV, filtração em membranas e carvão ativado (BEKÇI; SEKI; YURDAKOÇ, 2006; CERRETA et al., 2020; DU et al., 2020; GÖBEL et al., 2007; IKEHATA; JODEIRI NAGHASHKAR; GAMAL EL-DIN, 2006; LIU et al., 2020; SHAHMAHDI et al., 2020; SHEMER; KUNUKCU; LINDEN, 2006; SUN et al., 2020; ZHANG et al., 2008b). Entretanto, é necessário considerar os custos de implantação e operação, que em tais práticas são elevados. Sendo assim, é importante que novas possibilidades de tratamento mais econômicas e melhorias nos sistemas já existentes sejam investigadas.

Os processos aeróbios, como lodos ativados e biorreatores aeróbios com membrana possuem algumas pesquisas na área (CHOUBERT et al., 2009; CLARA et al., 2005). Os estudos quanto a processos anaeróbios são incipientes, porém mostram sua relevância no Brasil, onde a tecnologia anaeróbia para tratamento de esgotos domésticos é largamente utilizada e altamente aplicável.

No Brasil, os reatores anaeróbios são favorecidos pelas condições climáticas que possibilitam sua adaptação e boa atividade na remoção da matéria orgânica das águas residuárias domésticas e industriais, como também geram biogás que pode ser utilizado como fonte energética (CHERNICHARO et al., 2015). Para isso, existem muitas configurações de reatores disponíveis. Os reatores de biofilme de leito fixo, que consistem em biorreatores com material de suporte inerte para fixação e crescimento do biofilme, onde as reações biológicas acontecem, foram estudados como alternativa aos sistemas convencionais, por exemplo, Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket - UASB*) e lagoas de estabilização anaeróbia.

Esta configuração possui a vantagem de evitar o arraste da biomassa para o efluente, possibilitando uma operação com tempos de detenção hidráulica (TDH) reduzidos, por conta do maior tempo de retenção celular que a configuração permite, e alta *performance* e estabilidade do reator para o tratamento de águas residuárias, o que consequentemente, amplia a resistência a compostos tóxicos e recalcitrantes, como a eficiência de biodegradação (CARNEIRO et al., 2019; CUEL et al., 1997; MOCKAITIS et al., 2014).

Os biorreatores de leito fixo empacotados aleatoriamente são os mais tradicionalmente utilizados. Contudo eles apresentam problemas hidrodinâmicos, como entupimento com biomassa acumulada e ocorrência de caminhos preferenciais, ocasionados pela alta retenção de sólidos (JAWED; TARE, 2000). Para superar estes problemas e obter as

vantagens da biomassa imobilizada, Mockaitis et al. (2011) propuseram o reator anaeróbio de leito fixo estruturado, que consiste na colocação de tiras de espuma de poliuretano ao longo do comprimento do reator como material suporte para a biomassa e fluxo ascendente. A operação de fluxo ascendente permite um padrão de fluxo mais uniforme do que a operação de escoamento descendente, enquanto a configuração de leito fixo estruturado evita problemas de canalização e entupimento.

Alguns trabalhos foram desenvolvidos com objetivo de degradar biologicamente o SMX utilizando reatores anaeróbios com leito fixo, entre esses, Chatila et al. (2016) alcançaram remoção de SMX de 97% em reator anaeróbio de fluxo horizontal de biomassa imobilizada com TDH de 24 h e Carneiro et al. (2019) obtiveram remoção de 83% com TDH de 12 h em um reator anaeróbio de leito fixo estruturado, mesma configuração do reator do presente estudo. Os reatores anaeróbios de leito fixo demonstram ser uma tecnologia promissora, entretanto a variação nas eficiências dos estudos aponta a necessidade de elucidar os fatores que podem melhorar a performance dos reatores. Entre as diferenças operacionais dos estudos citados está a fonte específica de inoculação do material de suporte utilizada e esse ponto de partida pode ser crucial para conduzir o processo em uma operação de longo prazo.

A inoculação é um fator importante na fase de inicialização dos biorreatores, visto que a adoção de inóculos altamente ativos influencia positivamente as condições operacionais impostas em um menor tempo de adaptação e aumenta a eficiência da digestão (ESCUDIÉ et al., 2011; NEVES; OLIVEIRA; ALVES, 2004). Larcher e Yargeau (2011) utilizaram bactérias conhecidas por existir em lodos ativados (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus equi*, *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus rhodocrous* e *Rhodococcus zopfii*) para avaliar a capacidade de remoção de SMX em inóculos com culturas puras de consórcios individuais e mistos, e apontaram que a diferença na eficiência de remoção entre as culturas, além de consórcios mistos não necessariamente significarem efeitos positivos na degradação do SMX. A influência da fonte de inóculo na biodegradação anaeróbia de fenol e glicose foi estudada por Moreno-Andrade e Buitrón (2004), que aplicaram lodos provenientes de cinco diferentes sistemas de tratamento biológicos: estação de tratamento de efluentes de cervejaria, reator anaeróbio de indústria química, estação municipal de tratamento de esgoto, anaeróbio digestor de esterco de vaca e lodo ativado. Os autores observaram que a fonte de inóculo influenciou a biodegradação de glicose e fenol, sendo que a melhor eficiência de biodegradação foi obtida com o uso de lodo de cervejaria. Kim et al. (2017) estudaram a capacidade da biodegradação de produtos

farmacêuticos e de cuidados pessoais (PFCPs) de três fontes diferentes de inóculo - lodo ativado (L), sedimento de vala historicamente impactado por efluente de ETAR (S) e material de tratamento de colunas de solo de aquífero em escala de laboratório (M). Os resultados mostraram que as remoções de PFCPs foram maiores para L e S (> 80% em 8 dias), em comparação com o inóculo M (que não obteve remoção após 16 dias para a maioria das substâncias analisadas), e assim comprovaram que a fonte de inóculo afetou a eficiência de remoção dos PFCPs.

Diante do potencial de remoção de SMX durante o processo de tratamento biológico de efluentes apresentado por outras pesquisas, no presente estudo buscou-se avaliar a influência da fonte de inóculo na biodegradação de SMX em reator anaeróbio de leito estruturado (*Anaerobic Structured Bed Biofilm Reactor* - ASBBR) utilizando espuma de poliuretano como meio de suporte.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo principal**

O objetivo principal desse trabalho foi avaliar a influência da fonte do inóculo na biodegradação do antibiótico sulfametoxazol em reator anaeróbio de leito fixo estruturado com espuma de poliuretano como material suporte, testando os seguintes inóculos: lodo de abatedouro de aves, lodo de cervejaria e lodo de estação de tratamento de esgoto municipal.

### **2.2 Objetivos específicos**

Dentro do objetivo geral, desejou-se avaliar os seguintes objetivos específicos:

- Avaliação do impacto do antibiótico sobre a remoção de matéria orgânica e composição do biogás;
- Avaliação dos perfis cinéticos espaciais de remoção da demanda química de oxigênio (DQO) e do SMX ao longo do reator;
- Avaliação dos mecanismos de remoção do SMX, como sorção e biodegradação;
- Comparação das comunidades microbianas dos diferentes inóculos por microscopia óptica e biologia molecular antes e após a operação do reator.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Fármacos e suas vias de ingresso no meio ambiente

Os fármacos são compostos complexos desenvolvidos e consumidos para promover efeitos biológicos específicos nos organismos (KÜMMERER, 2009). Eles abrangem diferentes classes de medicamentos, como os analgésicos, antibióticos, anti-inflamatórios, reguladores endócrinos, entre outros, que podem ser administrados oralmente, topicamente (aplicação na pele e mucosas) ou parenteralmente (injeções e infusões).

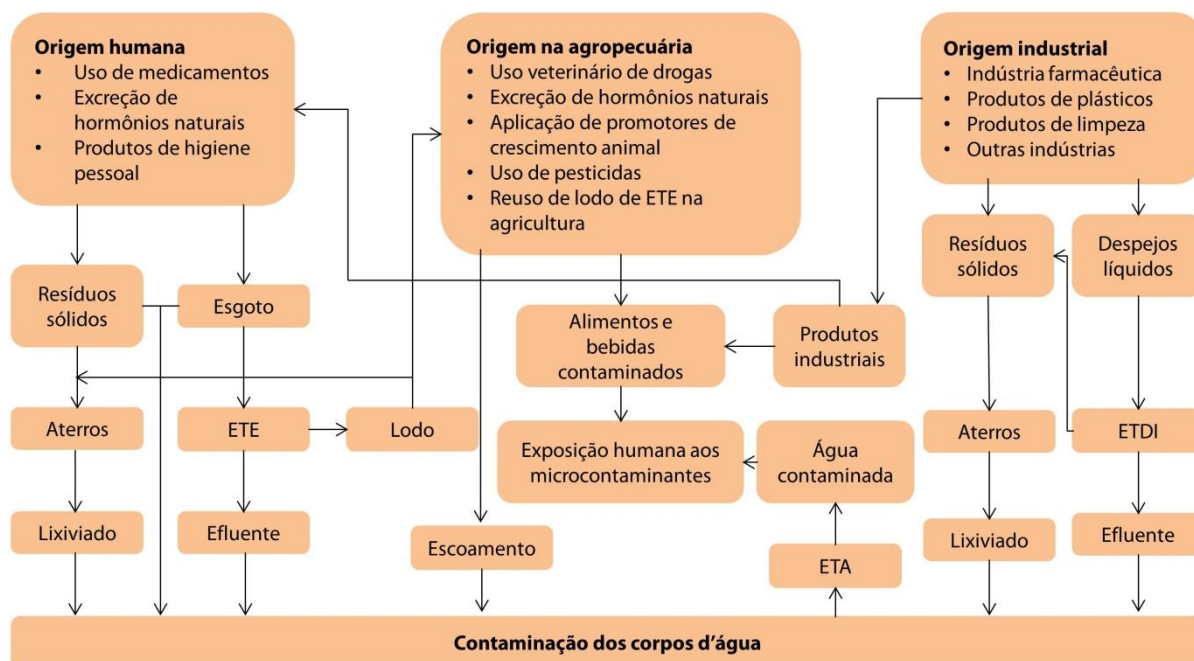
Quando os fármacos entram no organismo, uma parte deles ou sua totalidade é transformada em outras substâncias por enzimas existentes, principalmente, no fígado e em outros órgãos em menor quantidade, como rim, pulmão, intestino, glândulas adrenais e outros tecidos do corpo (ARCO, 2005). O metabolismo de um fármaco inicia-se com várias reações bioquímicas, que incluem a epoxidação, hidrólise, hidroxilação e redução, nas quais os grupos funcionais são introduzidos no composto original ou transformados. Posteriormente, moléculas endógenas polares, como sulfato e aminoácidos se unem aos produtos provenientes das transformações iniciais, gerando novos conjugados. Estas são, assim, excretadas do corpo (via fezes e urina) em suas formas originais, conjugadas ou como metabólitos (HEBERER, 2002; TAMBOSI et al., 2010), o que são chamados de fármacos residuais.

São várias as vias para a ocorrência de fármacos no meio ambiente. Os fármacos residuais acabam chegando as matrizes ambientais por meio do esgoto, visto que as estações de tratamento convencionais não são projetadas para degradá-los; pela destinação ambientalmente inadequada de esgoto aos corpos hídricos sem a passagem por nenhum tratamento prévio; e pelos resíduos sólidos, seja por suas embalagens, assim como o descarte inadequado de fármacos em aterros e lixões (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013). A **Figura 1** apresenta um esquema com as principais fontes de fármacos no meio ambiente.

Na medida em que tecnologias de monitoramento mais sensíveis a baixas concentrações são desenvolvidas e estudos apontam a presença destes compostos nos efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETEs), em águas superficiais e subterrâneas, em concentrações pequenas na ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{ng.L}^{-1}$  (CAHILL et al., 2004; CASTIGLIONI et al., 2005; GEBHARDT; SCHRÖDER, 2007; GONZÁLEZ; BARCELÓ; PETROVIC, 2007; MIAO; KOENIG; METCALFE, 2002; RODRÍGUEZ et al., 2003). O que pode indicar, em águas naturais, a contaminação das mesmas por esgoto (STUMPF et al., 1999).



**Figura 1 - Origem e vias de contaminação dos corpos d'água por fármacos**



ETE e ETDI = Estações de Tratamento de Esgoto e de Despejos Industriais; ETA = Estação de Tratamento de Água

Fonte: Adaptado de Aquino et al. (2013).

Devido às baixas concentrações nas quais esses compostos são encontradas no meio ambiente são considerados microcontaminantes (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013). Garrison, Pope e Allen (1976) foram os primeiros a relatarem a ocorrência de fármacos em efluentes de ETEs nos Estados Unidos na faixa de concentração de 0,8 a 2,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Seguidos de Richardson e Bowron (1985), em rios no Reino Unido, e inúmeros outros trabalhos que detectaram fármacos nas águas, como na Alemanha (KÜMMERER, 2001; TERNES, 1998), Canadá (MIAO et al., 2004; ROGERS; BIRTWELL; KRUYNSKI, 1986), China (GULKOWSKA et al., 2008) e Espanha (CARBALLA; OMIL; LEMA, 2005; SANTOS; APARICIO; ALONSO, 2007). No Brasil, Stumpf et al. (1999) foram os primeiros a reportarem a ocorrência de fármacos em efluentes de ETEs, em rios e águas de abastecimento no Estado do Rio de Janeiro.

Assim, contrariando a tendência de outros microcontaminantes em diminuir suas concentrações no meio ambiente nos próximos anos, espera-se um aumento na ocorrência dos fármacos no ambiente por conta de seus efeitos benéficos à saúde e seu consumo descontrolado (STASINAKIS; GATIDOU, 2010).

### 3.2 Efeitos dos antibióticos no meio aquático

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de bactérias. São usados para o tratamento de animais e humanos e podem ser considerados bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando proporcionam a inibição do crescimento microbiano (GUIMARÃES; DA SILVA MOMESSO; PUPO, 2010).

Os antibióticos são amplamente utilizados no mundo. Estima-se que seu consumo anual seja de 100 a 200 mil toneladas (KÜMMERER, 2003). Só nos EUA são produzidos 20 mil toneladas de antibióticos por ano, na qual cerca de 60% sejam destinados para o uso humano e os outros 40%, para uso veterinário e na agricultura (BROWN et al., 2006). Esses compostos são caracterizados por uma diversidade de substâncias. Kümmerer (2001) apontou que 90% dos antibióticos consumidos na Alemanha continham em torno de 900 substâncias ativas diferentes. Estudos internacionais, ainda, convergem quanto à ocorrência do sulfametoxazol, da trimetoprima e da tetraciclina como os mais comuns (BRANDT, 2012).

As principais preocupações da ocorrência e acúmulo desses compostos e derivados no ambiente consistem do fato de poderem gerar efeitos negativos no crescimento e desenvolvimento de plantas (MIGLIORE et al., 1995), favorecer a aquisição de resistência contra os mesmos pelas bactérias expostas a pequenas concentrações no ambiente e até ocasionar complicações para a saúde humana (DAUGHTON; TERNES, 1999; SINGH et al., 2019).

Embora até o momento, não seja possível avaliar os reais efeitos da exposição humana aos antibióticos (SANTOS et al., 2010), estudos ecotoxicológicos, nos quais são utilizados organismos que possuem vias metabólicas e receptores semelhantes aos encontrados nos seres humanos, estão sendo realizados na tentativa de conhecer as consequências do contato agudo e crônico a eles em concentrações relevantes de ocorrência no ambiente.

Em geral, estudos agudos realizados em crustáceos e peixes apenas apresentam danos quando realizados em concentrações muito maiores (na faixa de  $\text{mg.L}^{-1}$ ) que as encontradas no meio aquático, na ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{ng.L}^{-1}$  (FARRÉ et al., 2008; K. et al., 2008; SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006; ZHANG; GEISSEN; GAL, 2008). O interesse maior está nas pesquisas quanto à toxicidade crônica, visto que a literatura científica aponta a capacidade da ocorrência de efeitos em alguns animais expostos em condições ambientalmente relevantes (BROWN et al., 2006; COSTANZO; MURBY; BATES, 2005; SCHWAIGER et al., 2004; TRIEBSKORN et al., 2004). Ademais, Cleuvers (2004) defende a

importância da realização de mais experimentos de toxicidade quanto a misturas dos antibióticos com anti-inflamatórios, já que, conjugados, podem causar efeitos que sozinhos nas mesmas quantidades não eram observados.

Outra questão relevante é a possibilidade do desenvolvimento de bactérias patogênicas resistentes aos antibióticos no meio ambiente, visto que as concentrações encontradas nas matrizes ambientais são baixas, o que não possibilita a inibição ou morte, mas que pode causar mutação (JORGENSEN; HALLING-SORENSEN, 2000). Estudos sugerem que essas concentrações sub-letais de antibióticos tenham influência importante no desenvolvimento e disseminação de genes de resistência a antibióticos (BIROŠOVÁ et al., 2014; LEE et al., 2018; LIU et al., 2014; RODRIGUEZ-MOZAZ et al., 2015). Essa resistência pode reduzir ou eliminar a eficácia dos antibióticos no tratamento de doenças infecciosas, uma vez que bactérias multirresistentes que podem resistir fortemente a vários antibióticos podem levar a doenças intratáveis e comprometer a saúde das pessoas (MA et al., 2018).

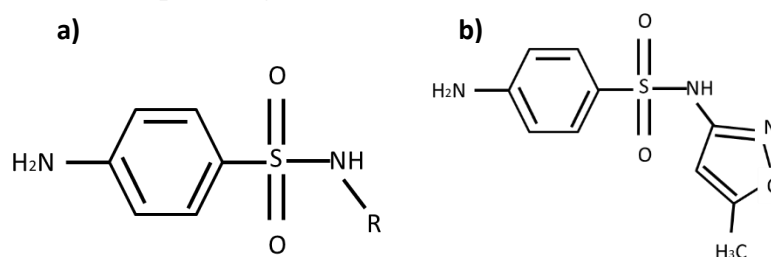
Estima-se que aproximadamente 23 mil pessoas morrem por ano nos EUA devido a infecções por bactérias resistentes a antibióticos (O'NEILL, 2016). Na Europa, esse número aumenta para mais de 25 mil pessoas por ano (O'NEILL, 2014). A Organização das Nações Unidas (ONU), em seu novo relatório “Global Sustainable Development Report 2019: The Future is Now – Science for Achieving Sustainable Development” (SECRETARY-GENERAL, 2019), associa o aumento do uso dos antibióticos com o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos, e cita o imenso perigo para a saúde mundial, uma vez que mais infecções não podem ser tratadas pelos antibióticos conhecidos.

### **3.3 Sulfonamidas e sulfametoxazol**

O sulfametoxazol (SMX) é um antibiótico sulfonamida bacteriostático que inibe competitivamente a dihidropteroato sintase, prevenindo a formação de ácido dihidropteroico, um intermediário da síntese de ácido tetrahidrofólico (THF) (SWEETMAN, 2009; YUN et al., 2012). Pode ser usado em associação com o trimetoprim, que inibe a diidrofolato redutase, outra etapa na síntese do THF (MASTERS et al., 2003). Assim, esta associação inibe o crescimento de células bacterianas ao impedir a síntese de ácido tetrahidrofólico e é usada para tratar infecções respiratórias, gastrointestinais, renais e do trato urinário (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006; YUN et al., 2012). O SMX é um antibiótico amplamente prescrito para humanos e animais (PENG et al., 2011; WATKINSON et al., 2009; ZUCCATO et al., 2010).

As sulfonamidas são compostas por um anel de benzeno, um grupamento básico amina ( $-\text{NH}_2$ ) e um grupamento ácido sulfonamida ( $-\text{SO}_2\text{NH}$ ) conectado a um radical orgânico ( $-\text{R}$ ) (SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006), como mostra a **Figura 2a**. Os grupos amina e sulfonamida precisam estar conectados ao anel de benzeno na conformação para que a molécula possua propriedade antibacteriana (QIANG; ADAMS, 2004; SARMAH; MEYER; BOXALL, 2006). O sulfametoxazol possui fórmula molecular dada por  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$  (massa molecular =  $253,3 \text{ g.mol}^{-1}$ ) e tem sua estrutura química apresentada na **Figura 2b**.

**Figura 2 - Estrutura química geral das sulfonamidas (a) e; do sulfametoxazol (b)**



Os avanços nos métodos analíticos de detecção de antibióticos permitiram a realização de pesquisas indicando as concentrações de Sulfametozaxol em diferentes compartimentos ambientais, como em águas residuárias municipais brutas na concentração de  $\text{ng.L}^{-1}$  a  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (HRUSKA; FRANEK, 2012; LARCHER; YARGEAU, 2012), efluentes de estações de tratamento de águas residuárias na concentração de  $\text{ng.L}^{-1}$  a  $\mu\text{g.L}^{-1}$  (HRUSKA; FRANEK, 2012; KOSMA; LAMBROPOULOU; ALBANIS, 2014; LARCHER; YARGEAU, 2012; LOOS et al., 2013; MORENO-GONZÁLEZ et al., 2014), águas superficiais que recebem efluentes de ETARs na concentração de  $\text{ng.L}^{-1}$  (BATT et al., 2016; SHIMIZU et al., 2013) e águas subterrâneas na concentração de  $\text{ng.L}^{-1}$  (SACHER et al., 2001; TONG et al., 2014). Alguns estudos podem ser vistos na **Tabela 1**.

**Tabela 1 - Ocorrência de SMX (ng.L<sup>-1</sup>) em diferentes matrizes ambientais segundo a literatura**

<b>Afluente ETE</b>	<b>Efluente ETE</b>	<b>Água Superficial</b>	<b>País</b>	<b>Referência</b>
<1,9 - 150,8 35 ± 46,8	<1,9 - 160,9 <1,9 - 123,3 <1,9 - 49,4 <1,9 - 124 <1,9 - 56,8	NR	Brasil	Queiroz et al. (2012)
NR	NR	<0,2 - 106	Brasil	Locatelli et al. (2011)
246	101	2,1 - 5,3	Itália	Zuccato et al. (2010)
NR	509 ± 35	93 ± 4,4	Alemanha	Nödling et al. (2010)
179 - 1760	47 - 964	NR	Taiwan	Lin et al. (2009)
20 - 1250	18 - 320	NR	França	Miège et al. (2009)
<3 - 150 20 - 274	<3 - 23 4 - 44	<0,5 - 8 <0,5 - 4	Reino Unido	Kasprzyk-Hordern et al. (2009)
194	<1 - 70	1,7 - 36	Coréia do Sul	Kim et al. (2007)
16 ± 5 118 ± 17 10 ± 3 25 ± 7	16 ± 7 20 ± 10 12 ± 3 9 ± 4	143 ± 21 143 ± 21 NR <1	China	Xu et al. (2007)
450	<30	NR	Coréia	Choi et al. (2007)
390 - 1000	310	300	México	Brown et al. (2006)
5450 - 7910	< 100	NR	China	Peng et al. (2006)
80 - 1250	50 - 210	NR	EUA	Karthikeyan e Meyer (2006)
NR	46 - 317	NR	Itália	Castiglioni et al. (2005)
20	70	<1 - 10	Suécia	Bendz et al. (2005)
230 - 570	211 - 860	NR	Suíça	Joss et al. (2005)
1090	210	NR	USA	Yang et al. (2005)
<10 - 145	<10 - 56	NR	Áustria	Clara et al. (2005)
580	250	NR	Espanha	Carballa et al. (2005)
NR	NR	98 <sup>1</sup>	Alemanha	Christian et al. (2003)
NR	NR	150 <sup>2</sup> - 1900 <sup>1</sup>	EUA	Kolpin et al. (2002)
NR	NR	0,01	EUA	Lindsey et al. (2001)
NR	300 ± 12 - 1500 ± 320	30 - 85	Alemanha	Hartig et al. (1999)
NR	400 <sup>2</sup> 2000 <sup>1</sup>	30 <sup>2</sup> 480 <sup>1</sup>	Alemanha	Hirsch et al. (1999)
NR	NR	5,9 - 13,4	China	Tong et al. (2014)
NR	NR	70	Alemanha	Wiegel et al. (2004)
70 ± 99	10 ± 13	NR	Espanha	Collado et al. (2014)
NR	390 <sup>2</sup> - 820 <sup>1</sup>	NR	Croácia	Gros et al. (2006)
NR	400 <sup>2</sup> - 2000 <sup>1</sup>	NR	Alemanha	Ternes (2001)

**Tabela 2 (continuação) - Ocorrência de SMX (ng.L<sup>-1</sup>) em diferentes matrizes ambientais segundo a literatura**

Afluentes ETE	Efluentes ETE	Água Superficial	País	Referência
NR	136 <sup>2</sup> - 407 <sup>1</sup>	NR	Coreia do Sul	Kim et al. (2007)
NR	142 <sup>2</sup> - 1147 <sup>1</sup>	NR	União Europeia (vários países)	Loos et al. (2013)
NR	200 - 2000	70 - 150	Canadá	Miao et al. (2004)
NR	1,1 - 18,2	NR	Espanha	Moreno-González et al. (2014)
740	240	NR	Grécia	Kosma et al. (2014)
1720 802 538 282 76	NR	NR	Vietnã Filipinas Malásia Indonésia Índia	Shimizu et al. (2013)
NR	2900 <sup>1</sup>	576,4 <sup>1</sup>	EUA	Batt et al. (2016)

<sup>1</sup> Valores máximos; <sup>2</sup> Valores Médios; NR - não reportado

Como é possível notar, o sulfametoxazol encontra-se em concentrações bastante diluídas nas águas residuárias. Sendo assim, uma melhor abordagem para a redução de seu contato com o meio aquático seria a detecção e remoção desse fármaco nas suas fontes primárias.

### 3.4 Remoção de antibióticos em ETEs convencionais

É conhecida a responsabilidade do esgoto doméstico bruto e tratado entre as principais fontes de contaminação por antibióticos e outros micropoluentes nos corpos d'água receptores (LOOS et al., 2013; MURATA et al., 2011). O lodo gerado nas ETEs é o ponto final de grande parte dos compostos hidrofóbicos por meio do processo de sorção (CARBALLA et al., 2008), como também de uma fração de micropoluentes hidrofílicos não biodegradados durante o tratamento de águas residuárias (LUO et al., 2014).

Estudos sobre a eficiência de remoção durante o tratamento em ETEs são baseados na medição das concentrações entre afluente e efluente nos sistemas convencionais de tratamento, que podem variar em função da construção e tecnologia de tratamento, do tempo de detenção hidráulica (TDH), da estação do ano e do desempenho da ETE (TAMBOSI et al., 2010).

A literatura relata várias tecnologias que degradam medicamentos com sulfonamida, incluindo métodos físicos, químicos e biológicos (ZHENG et al., 2020). Os potenciais processos para a melhoria na remoção de antibióticos nas ETEs convencionais disponíveis são

a oxidação avançada, ozonização, radiação UV, filtração em membranas e carvão ativado (STASINAKIS; GATIDOU, 2010). Os métodos físicos, como o método fotocatalítico (ZIEMIAŃSKA et al., 2010) e o método ultrassônico (MOHAJERANI; MEHRVAR; EIN-MOZAFFARI, 2012) podem ser utilizados para remoção de SMX, porém em seu processo ocorre a perda de componentes ativos do método que pode ocasionar uma dificuldade na recuperação de seu catalisador (ZHENG et al., 2020). Os métodos químicos têm uma alta eficiência de remoção de SMX, entretanto é importante que os subprodutos do processo químico sejam removidos por meio de tratamento subsequente (LIANG et al., 2019; YANG; CHE, 2017). Comparadas com os métodos físicos e químicos disponíveis, as tecnologias biológicas têm as vantagens de baixo custo (WANG et al., 2018b).

À vista disso, a possibilidade de biodegradação em sistemas de tratamento nas escalas de bancada, piloto e real tem sido investigada sob diferentes condições operacionais. Sendo os processos mais estudados os de lodos ativados (AYMERICH et al., 2016; DRILLIA et al., 2005; KOSMA; LAMBROPOULOU; ALBANIS, 2014; SUAREZ; LEMA; OMIL, 2010; WEI et al., 2018, 2019) e os biorreatores aeróbios com membrana (MBR) (DUTTA et al., 2014; MONSALVO et al., 2014; WEI et al., 2014, 2016; WIJEKOON et al., 2015). Os estudos acerca de processos anaeróbios ainda são incipientes (AYDIN et al., 2015; CETECIOGLU et al., 2013, 2015; GARTISER et al., 2007; MARTÍN et al., 2015). Apesar disso, o emprego da tecnologia anaeróbia na América Latina, e principalmente no Brasil, se mostra interessante, principalmente pelas suas condições climáticas favoráveis (BORZACCONI; LÓPEZ; VIÑAS, 1995). Além disso, de acordo com Cetecioglu et al. (2013), o SMX é mais facilmente degradado em condições anaeróbias do que aeróbias.

### **3.5 Mecanismos de remoção de antibióticos pelos sistemas de tratamento biológicos**

A remoção dos antibióticos em uma ETE se dá por mecanismos abióticos (como sorção e volatilização) e/ou bióticos (biotransformações) (CIRJA et al., 2008). Vários fatores influenciam nesses mecanismos de remoção, como as propriedades físico-químicas dos compostos (hidrofobicidade, isto é, seu coeficiente de partição octanol-água; carga, na forma aniônica ou catiônica e; grupos funcionais - presença de grupos doadores ou grupos de retirada de elétrons); a configuração dos sistemas de tratamento; as condições ambientais e operacionais das unidades de tratamento (tempo de retenção de lodo, pH e temperatura); as condições redox (anaeróbia, anóxica e aeróbia); a diversificação e adaptação das comunidades

microbianas presentes no processo; e a presença de enzimas microbianas específicas (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; GONZALEZ-GIL; CARBALLA; LEMA, 2017a; SEMBLANTE et al., 2015; YANG et al., 2016).

Os principais mecanismos envolvidos na remoção biológica são a sorção da biomassa e a biodegradação por co-metabolismo (CARBALLA et al., 2005; CLARA et al., 2004; FISCHER; MAJEWSKY, 2014; JOSS et al., 2005; LI; ZHANG, 2010; PENG et al., 2019; STASINAKIS; GATIDOU, 2010; STASINAKIS, 2012).

### 3.5.1 Sorção

A sorção acontece principalmente por meio de processos de absorção e adsorção. O processo de sorção pode ser estimado utilizando valores de  $K_d$  (coeficiente de distribuição sólido-água), que é dependente das características do composto e do tipo de lodo e representa o equilíbrio do soluto nas fases hidrofóbica e hidrofílica (SUÁREZ et al., 2008). De acordo com Kooijman et al. (2020), o pH do meio e a quantidade de matéria orgânica presente também são fatores importantes na capacidade de sorção de micropoluentes orgânicos. Este coeficiente, que é apresentado na **Equação 1**, envolve tanto os mecanismos de absorção quanto de adsorção (TERNES et al., 2004).

$$K_d = \frac{X}{S} \quad (1)$$

Em que:

$K_d$  é o coeficiente de de distribuição sólido-água em  $L.kg^{-1}SS$ ;

$X$  é a concentração da substância na fase sólida;

$S$  é a concentração da substância na fase aquosa.

Na **Tabela 3**, temos alguns valores de  $K_d$  manifestados na literatura para o SMX. De acordo com Ternes et al. (2004), valores de  $\log K_d$  menores ou iguais a 2 geralmente significam uma tendência quase nula para sorção; enquanto valores entre 2 e 2,7 baixa indicam uma tendência para sorção; e maior que 2,7, alta tendência de sorção em matriz sorvente. O SMX é um micropolvente de baixa absorção (FALÅS et al., 2016).



**Tabela 3 - Valores de  $K_d$  para o SMX descritas na literatura em diferentes lodos**

<b>Valor de <math>K_d</math> (<math>L.kg^{-1}SS</math>)</b>	<b>Lodo</b>	<b>Referência</b>
2,6 e 2,4	Primário e secundário do sistema de lodos ativados	Göbel et al. (2005)
2,6, 2,4 e 2,4	Primário e secundário de lodo ativado e de MBR	Joss et al. (2005)
2,21	Primário do sistema de lodos ativados	Hörsing et al. (2011)
2,05 – 2,81	Primário do sistema de lodos ativados	Hyland et al. (2012)

O mecanismo de sorção de microcontaminantes nos biofilmes dos lodos das estações de tratamento possui um risco. Devido às concentrações de esses compostos serem maiores nos sorventes do que na fase aquosa, há a formação de “reservatórios” de microcontaminantes, que ainda possuem seus efeitos nos organismos aquáticos ou como eles ficam dispostos desconhecidos (KÜMMERER, 2009).

### **3.5.2 Biodegradação**

A biodegradação é o processo natural de microrganismos, que por meio de suas enzimas aceleram as reações de degradação de compostos. Os dois principais processos de biodegradação são: o uso direto do composto como fonte de carbono e energia pelos microrganismos, por meio da mineralização; ou o uso dele como segunda fonte de carbono, na qual os microrganismos quebram parcialmente ou convertem a molécula, não a utilizando como fonte primária de carbono, por meio do co-metabolismo (BORJA et al., 2005). Esses processos são influenciados por fatores ambientais, como temperatura, pH, disponibilidade de aceptores de elétrons, tempo de retenção celular, interações entre os microrganismos e presença de substâncias inibidoras ou tóxicas. Além desses, são fatores influentes na biodegradação dos compostos sua estrutura química, suas características físicas e concentração (BORJA et al., 2005).

Os estudos reportados na literatura para a remoção de fármacos por meio da biodegradação possuem um foco maior nos processos aeróbios, com resultados inconsistentes de eficiência de remoção que variam de 0% a 100% para um mesmo fármaco utilizando uma mesma técnica de tratamento (AYMERICH et al., 2016; DRILLIA et al., 2005; KOSMA; LAMBROPOULOU; ALBANIS, 2014; SUAREZ; LEMA; OMIL, 2010; WEI et al., 2018, 2019). Segundo Müller et al. (2013), os estudos com a biodegradação de SMX mostram-se ainda incipientes, necessitando elucidar melhor seus metabólitos formados e realizar mais ensaios em reatores contínuos e com períodos suficientes de adaptação da biomassa. Koh et

al. (2008) afirmam que o melhor conhecimento da diversidade microbiana e das atividades degradadoras de fármacos permitirá a sua completa mineralização nas ETEs.

A biotransformação de micropoluentes orgânicos provavelmente ocorre principalmente por meio do co-metabolismo, devido as suas baixas concentrações no meio em comparação com o substrato de crescimento principal (FERNANDEZ-FONTAINA et al., 2016; FISCHER; MAJEWSKY, 2014). Esse processo é influenciado pelas propriedades físico-químicas dos compostos, pela diversidade microbiana do meio, pelas atividades enzimáticas e pelos fatores ambientais e operacionais (CARBALLA et al., 2008; ZHOU et al., 2017).

A aplicação do co-metabolismo é um método que vem se mostrando promissor para a rápida biodegradação microbiana de poluentes recalcitrantes, como compostos aromáticos e halogenados (DAWAS-MASSALHA et al., 2014; HARITASH; KAUSHIK, 2009). As condições co-metabólicas permitem que os microrganismos transformem poluentes recalcitrantes na presença obrigatória de um substrato de crescimento ou outro composto transformável (FISCHER; MAJEWSKY, 2014). De acordo com Carneiro et al. (2020), as enzimas envolvidas no metabolismo da principal fonte de carbono, como amido ou glicose, desempenham importante atividade e ação co-metabólica na degradação de micropoluentes orgânicos.

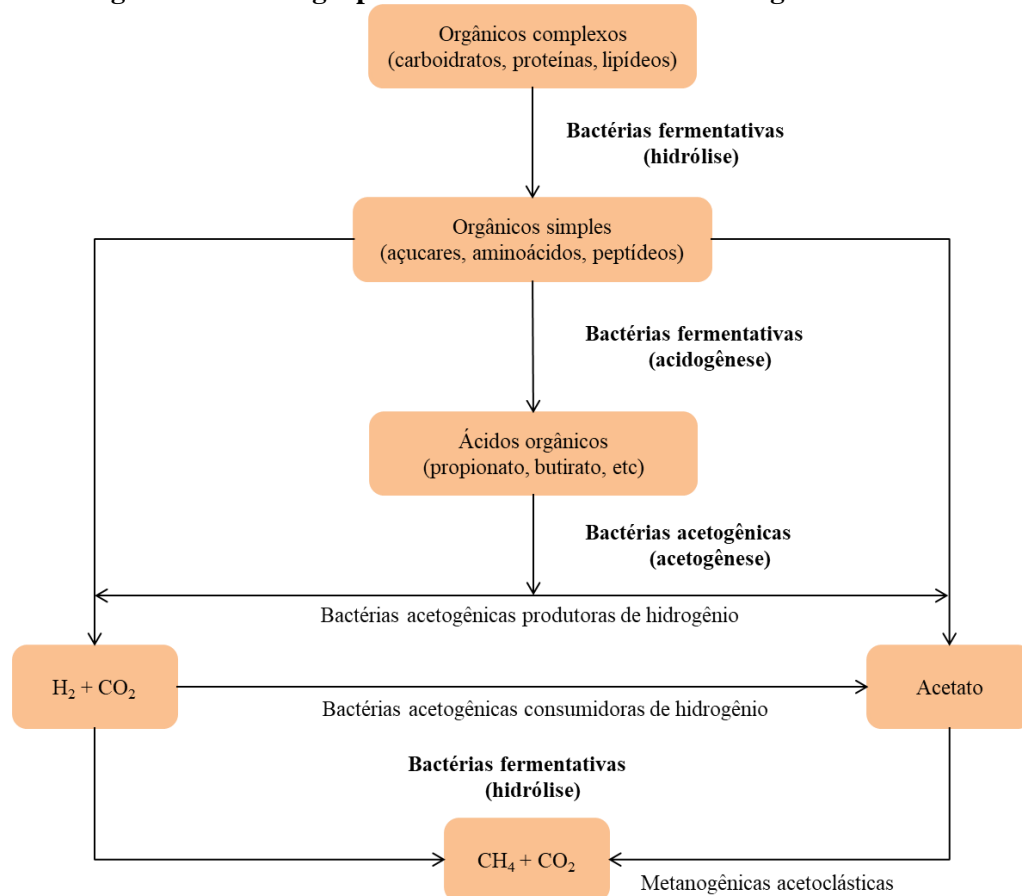
### 3.6 Degradação anaeróbia e metanogênese

Os processos de tratamento anaeróbio fundamentam-se na capacidade que os microrganismos apresentam de converter matérias orgânicas complexas em condições de ausência de oxigênio, transformando-os em substâncias que possam ser removidas do sistema de tratamento, como lodo biológico, água e gases (APPELS et al., 2011; CHERNICHARO, 1997; DEMIREL; YENIGUN; ONAY, 2005; WARD et al., 2008).

A digestão anaeróbia (esquematizada na **Figura 3**) é considerada um processo de fermentação de cultura mista, que envolve uma associação de três importantes grupos de microrganismos, dividido em quatro fases: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (CHERNICHARO, 1997; DEMIREL; SCHERER, 2008; JI et al., 2013). Esse processo é realizado por dois principais táxons microbianos: as bactérias, responsáveis pela hidrólise de compostos orgânicos poliméricos em monômeros e posterior decomposição esses monômeros em pequenos fragmentos orgânicos (álcoois e ácidos graxos voláteis), e

as arqueias, que decompõem esses subprodutos em metano e gás carbônico (SHI; LEONG; NG, 2017).

**Figura 3 - Fases e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia**



Fonte: Adaptado de Chernicharo (1997).

A primeira fase consiste da hidrólise por meio de bactérias fermentativas de materiais particulados complexos em materiais dissolvidos mais simples (CHERNICHARO, 1997). Essa fase ocorre de forma lenta e pode ser influenciada pela temperatura operacional do reator, tempo de detenção celular, tamanho das partículas, pH do meio, entre outros fatores (LETTINGA, 1996).

Na acidogênese, ainda pelos diversos grupos de bactérias fermentativas, como as espécies *Clostridium* e *Bacteroids*, os produtos solúveis da hidrólise podem ser metabolizados no seu interior. Estes, então, são convertidos em ácidos orgânicos, álcoois, gás carbônico, hidrogênio, amônia e outras novas células (CHERNICHARO, 1997).

A fase seguinte é a acetogênese, em que os produtos da fase anterior são oxidados, pelas bactérias acetogênicas, em substrato apropriado para as bactérias metanogênicas. Os

produtos dessa fase são o hidrogênio, o dióxido de carbono e o acetato (CHERNICHARO, 1997).

A última fase do processo é realizada pelas arqueias metanogênicas. Estas são divididas em dois grupos principais de acordo com sua compatibilidade por substrato e intensidade de produção de metano. No primeiro grupo estão as metanogênicas acetoclásticas, que produzem metano a partir do acetato. Cerca de 60% a 70% de todo o metano produzido é por meio desses microrganismos. Os principais gêneros deste grupo são o *Methanosarcina* e o *Methanosaeta*. No segundo grupo estão as metanogênicas hidrogenotróficas, que convertem o hidrogênio produzido nas fases anteriores e o dióxido de carbono em metano (CHERNICHARO, 1997).

Algumas populações microbianas são mais resistentes à toxicidade aguda e crônica causada pela presença de fármacos nos afluentes das estações de tratamento de águas residuárias e capazes de degradá-los no seu processo de digestão anaeróbia (SHI; LEONG; NG, 2017). O *Clostridium* sp. foi relatado como o microrganismo dominante nos reatores anaeróbios em batelada alimentados com águas residuárias contendo SMX (CETECIOGLU et al., 2016). A literatura científica indica que os filos *Bacteroidetes*, *Firmicutes* e *Proteobacteria*, para populações bacterianas, predominam na maioria dos sistemas anaeróbios relatados com presença de SMX no afluente. Os *Firmicutes* e *Proteobacteria* são conhecidos pela sua predominância nos processos biológicos e, conseqüentemente, importância no processo de fermentação. Já as classes *Methanomicrobia*, *Thermoplasmata* e *Methanobacteria*, em geral, são predominantes na conversão dos produtos intermediários em metano e apresentam resistência à toxicidade relativamente alta (SHI et al., 2015).

Segundo Carneiro et al. (2020), a acidogênese desempenha um papel importante na biotransformação anaeróbia de micropoluentes orgânicos, enquanto a hidrólise de carboidratos desempenha um papel menor.

Há fortes indícios que o local de ataque para biotransformação do SMX deve estar no anel de isoxazol (BERRY; FRANCIS; BOLLAG, 1987; JIA et al., 2017; MOHATT et al., 2011). De acordo com (MOHATT et al., 2011), o SMX é completamente biotransformado durante a acidogênese e acetogênese/metanogênese, devido a uma clivagem de seu anel isoxazol em condições de redução de ferro. Estudos tendem a crer, ainda, que a biotransformação do anel isoxazol ocorre por hidrogenação ou hidroxilação em condições anaeróbias (BERRY; FRANCIS; BOLLAG, 1987; ZHANG et al., 2008a) e que a clivagem do anel começa na ligação N-O (ALVARINO et al., 2016; HAYASE et al., 1982).

### **3.7 Reatores anaeróbios de leito fixo com espuma de poliuretano como material suporte**

O reator anaeróbio de leito fixo consiste de um reator biológico com uma camada suporte de material inerte no qual a biomassa está aderida, formando um biofilme, onde a matéria orgânica é convertida em metano e gás carbônico (SARTI et al., 2001). Vários materiais permitem a formação desse biofilme, entre eles, é encontrado na literatura o carvão granulado, plástico, esferas de vidro, espuma de poliuretano e cerâmica (KAWASE; NOMURA; MAJIMA, 1988; ORTEGA et al., 2001; ZAIAT, 1996; ZELLNER et al., 1987).

A camada suporte tem como objetivo a proteção física de sólidos biológicos no seu interior, evitando sua lavagem do reator e baixo teor de sólidos suspensos no efluente (YOUNG, 1990). Isto ocorre por meio da retenção da biomassa nos espaços vazios da matriz e pela sua adesão a superfície do suporte (ESCUDIÉ et al., 2011; RATUSZNEI; RODRIGUES; ZAIAT, 2003). A capacidade de manter um alto tempo de retenção celular (TRC), mesmo quando o reator é operado com baixos tempos de detenção hidráulica, é fundamental para aumentar a resistência dos organismos aos compostos tóxicos e recalcitrantes, permitindo sua degradação (CUEL et al., 2011). Processo que ocorre pela possibilidade do enriquecimento de bactéria de crescimento lento e de uma interação entre os organismos presentes capaz de degradar os micropoluentes (CLARA et al., 2005; JOSS et al., 2005).

A porosidade do leito operacional é a principal característica que distingue reatores de leito fixos de outros reatores, como os de leito expandido ou fluidizado. Em comparação a esses, o leito fixo apresenta menor porosidade, entretanto ele possui maior eficiência pelo fato de não precisar de energia adicional para manter a expansão ou fluidificação do meio (MOCKAITIS et al., 2014).

Esta configuração de reatores tem como outra vantagem permitir um alto desempenho e estabilidade operacional, principalmente no momento de partida do reator, que é uma das fases de operação menos conhecidas e que incide em grandes dificuldades de controle. A aplicação do leito fixo proporciona ao reator menor sensibilidade a mudanças do pH durante sua partida e uma estabilização geralmente em poucos dias (VEIGA; MENDEZ; LEMA, 1994; ZAIAT et al., 1997).

Além da rápida inicialização do reator, essa configuração apresenta durante sua operação boa capacidade de manter o pH ótimo e produção de alcalinidade, apesar da produção natural de ácidos graxos voláteis no meio (MOCKAITIS et al., 2014). Característica muito importante para reatores anaeróbios, visto que as comunidades metanogênicas são microrganismos sensíveis em relação à variação do pH, e que a etapa metanogênica não pode

ser afetada pela rápida produção de ácido (SPEECE, 1983). Outro aspecto positivo de sua operação é que os reatores anaeróbios de leito fixo não necessitam de recirculação e produzem pouco lodo (MOCKAITIS et al., 2014).

A espuma de poliuretano como material suporte para a adesão de microrganismos anaeróbios foi estudada por muitos anos e mostrou resultados promissores (CARNEIRO, 2019; DOMINGUES et al., 2014; MOCKAITIS et al., 2011, 2014; VARESCHE et al., 1997). Sua alta porosidade permite boas condições para o desenvolvimento de biofilme, principalmente devido à alta área superficial e proteção contra tensão de cisalhamento (LIMA et al., 2005).

Varesche et al. (1997) trabalharam com um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) e mostraram como uma grande diversidade de morfologias estava presente em todas as amostras examinadas ao longo do leito operacional do biorreator. Além disso, um único cubo de espuma de poliuretano continha uma grande variedade de organismos, incluindo bactérias acidogênicas, acetogênicas e arqueias metanogênicas. Esses resultados mostraram como cada matriz do leito fixo atua como um micro-reator, no qual ocorre uma série completa de reações do processo anaeróbio (LIMA et al., 2005).

Estudos como de Domingues et al. (2014) e Mockaitis et al. (2014) demonstraram que esta configuração de reator anaeróbio possui viabilidade e aplicabilidade por meio da comparação desta tecnologia com configurações mais amplamente utilizadas.

### **3.8 Escolha do inóculo como fator de desempenho do reator**

A fase de partida é o tempo necessário para que o reator adquira uma estabilidade do efluente nos parâmetros estudados (HICKEY et al., 1991; OLIVA, 1997). O processo pode ser longo e difícil e é um dos principais fatores que definirá a eficiência do reator durante sua operação. É neste período que ocorre a seleção de forma natural dos microrganismos que estarão presentes no reator e definirão o tratamento da matéria orgânica e dos micropoluentes como um sucesso ou não (ZANELLA, 1999). A fase de partida pode demorar de 2 a 6 meses em processos anaeróbios com temperaturas mesofílicas, dependendo do grau de adaptação do lodo às características da água residuária que pretende ser tratada (CHERNICHARO, 1997; HICKEY et al., 1991).

A partida do reator pode ser dada de formas diferentes, tais como: sem a utilização de lodo de inóculo, com o uso de microrganismos presentes na própria água residuária (inóculo natural); com a utilização de lodo de inóculo de outras fontes, podendo este ser

adaptado à água residuária a ser tratada ou não (CHERNICHARO; BORGES, 1996). A origem do lodo, juntamente com a utilização ou não de um material suporte no interior do reator, as condições operacionais e ambientais impostas a ele, podem diminuir ou aumentar o tempo de estabilização (CHERNICHARO; BORGES, 1996).

Os estudos sobre tratamento biológico do SMX estão muitas vezes focados no enriquecimento de comunidades puras e características da degradação. No entanto, as funções metabólicas das comunidades puras são limitadas, não permitindo a completa degradação do micropoluentes e não reproduz as verdadeiras condições de uma estação de tratamento biológico (DENG et al., 2016; TAPPE et al., 2013).

A capacidade dos sistemas com comunidades mistas na remoção das sulfonamidas são raramente estudadas. Além disso, as vias metabólicas de degradação das sulfonamidas em culturas mistas podem variar mais do que as de linhagens puras devido à diversidade de micróbios funcionais (ZHENG et al., 2020).

O processo anaeróbio depende principalmente da atividade mútua dos microrganismos envolvidos. Portanto, a composição da comunidade microbiana também possui naturalmente uma influência significativa no desempenho da biodegradação do tratamento anaeróbio (AYDIN; INCE; INCE, 2016).

A literatura aponta que as comunidades microbianas de bactérias e arqueias sofrem diferentes mudanças em suas estruturas com efluentes contendo antibióticos. Além disso, de acordo com Wang et al. (2018b), bactérias com funções diferentes podem participar amplamente dos processos metabólicos. Estes fatos reforçam a possibilidade que a biodegradação de antibióticos e a ocorrência de genes de resistência possam depender da mudança da comunidade bacteriana durante o tratamento anaeróbio de águas residuárias (AYDIN; INCE; INCE, 2016). Assim, autores como Wang et al. (2018b) e Zheng et al. (2020) afirmam que sistemas mistos têm um grande potencial de biodegradar completamente antibióticos sulfonamidas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

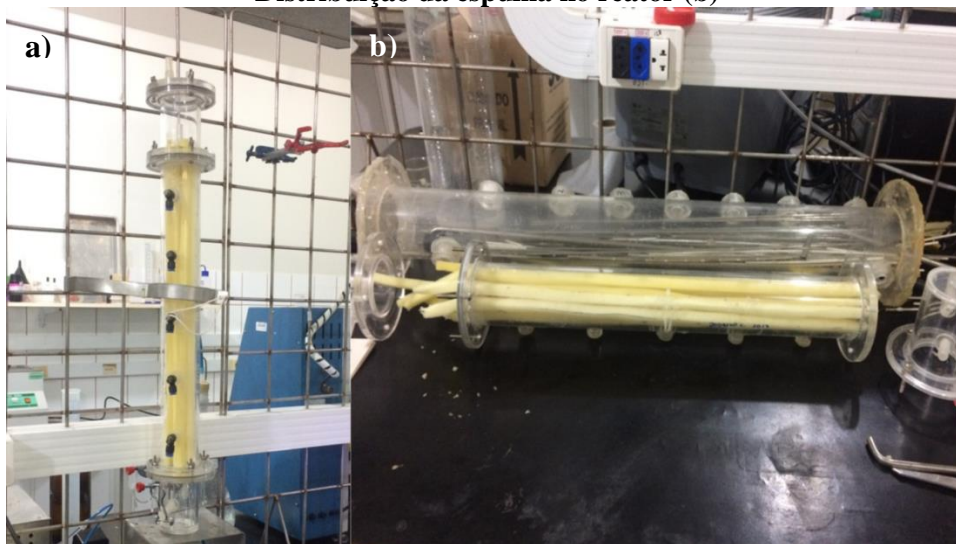
### 4.1 Configuração do reator e material suporte / condições operacionais

O reator foi operado nas dependências do Laboratório de Processos Biológicos (LPB) do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC).

Este estudo utilizou um biorreator tubular em escala de bancada (volume total de 1,9 L) de diâmetro interno de 6 cm, altura do leito reacional de 50 cm, com 6 saídas intermediárias para coleta do efluente (**Figura 4a**).

O reator foi preenchido com espuma de poliuretano como material suporte, que foi cortada em oito tiras prismáticas com 1 cm de aresta e 55 cm de comprimento, e dispostas verticalmente no reator (**Figura 4b**). O leito foi separado mediante telas perfuradas de inox e plástico, evitando uma possível flutuação ou afundamento do material suporte. Por conta deste material suporte, o volume útil resultante foi de 1,6 L, com uma porosidade de leito de 84%.

**Figura 4 - Reator de leito fixo estruturado utilizado no trabalho (a);  
Distribuição da espuma no reator (b)**



Fonte: Autoria própria.

O nível da água dentro do reator foi mantido por selo hídrico conectado ao medidor de biogás. Esse sistema controlou o nível do *headspace*, o que permitiu o acúmulo e a saída do biogás na parte superior do tubo acima do nível d'água.

O reator foi acondicionado em câmara com controle de temperatura, mantida a 30 °C, com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 horas e alimentado por bomba peristáltica



Gilson Minipuls 3 (**Figura 5a**) nas duas primeiras fases de operação e por bomba Gilson Minipuls Evolution na última fase (**Figura 5b**).

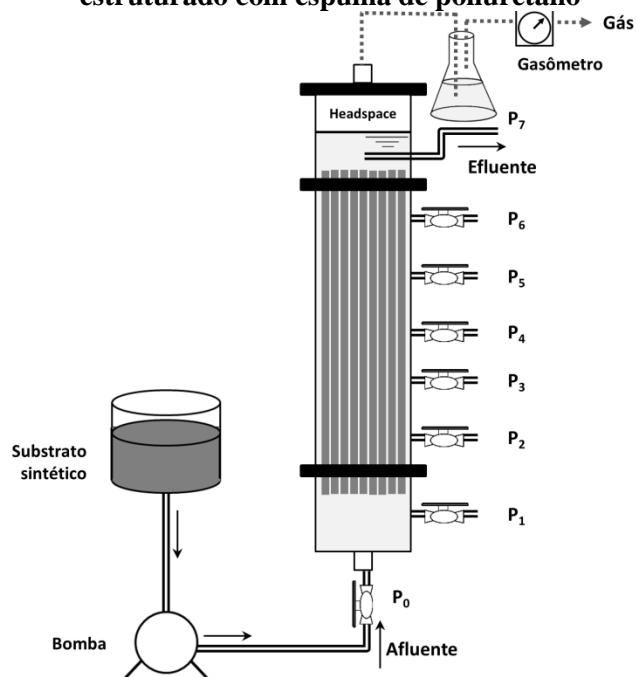
**Figura 5 - Foto da bomba Gilson Minipuls 3 (a); foto da bomba Gilson Minipuls Evolution (b)**



Fonte: Autoria própria (2018).

Por fim, a **Figura 6** apresenta o esquema do sistema com o reator anaeróbio de leito fixo estruturado com espuma de poliuretano como material suporte montado no laboratório para a realização das fases operacionais.

**Figura 6 - Esquema do sistema usando o reator anaeróbio de leito fixo estruturado com espuma de poliuretano**



Fonte: Autoria própria.

## 4.2 Inóculos e partida do reator

O trabalho foi dividido em três operações do reator, no qual cada operação usou um lodo de reator UASB em escala real de diferentes estações de tratamento de água residuária como inóculo para a partida do sistema: lodo de abatedouro de aves (LA) (Avícola Ideal, localizada na cidade de Pereiras/SP, Brasil); lodo de cervejaria (LC) (Heineken, localizada na cidade de Itu/SP, Brasil); e lodo de ETE municipal (LM) (São Carlos/SP, Brasil).

Para imobilização das espumas de poliuretano com lodo, seguiu-se metodologia proposta por Zaiat et al. (1994). O procedimento consistiu em bater os lodos granulares em liquidificador com um pouco de água (aproximadamente 40% água e 60% lodo fresco em volume). As espumas ficaram em contato com o lodo batido durante um período de 2 horas para a aderência dos microrganismos no reator. Por fim, foi drenado o excesso de biomassa pelo fundo do reator e iniciou-se a alimentação com substrato sintético.

Na inoculação do reator com lodo municipal, visto que as características físicas do lodo não eram muito boas, isto é, lodo muito líquido e grânulos muito pequenos, após duas tentativas de inoculá-lo seguindo a metodologia das fases anteriores, optou-se por inoculá-lo com uma menor proporção de água (aproximadamente 10% água e 90% lodo fresco em volume). As espumas ficaram em contato com o lodo batido durante 2 horas e por fim, o excesso de biomassa no reator drenado e iniciou-se a alimentação com o substrato sintético.

O teor de sólidos suspensos voláteis em cada inóculo variou de acordo com a qualidade do lodo utilizado, sendo assim de: 25,5 gVSS L<sup>-1</sup>, 55,3 gVSS L<sup>-1</sup> e 2,5 gVSS L<sup>-1</sup>, respectivamente para os inóculos LA, LC e LM. A **Tabela 4** exibe a concentração inicial de sólidos no reator dos lodos batidos e inoculados em cada fase operacional.

**Tabela 4 - Concentração de sólidos nos inóculos**

Inóculos	Concentração (g.L <sup>-1</sup> )	
	Sólidos totais (ST)	Sólidos suspensos voláteis (SSV)
LA	32,6	25,5
LC	67,4	55,3
LM	3,9	2,5

O período de partida do reator foi monitorado por meio da eficiência de remoção da DQO, até que fosse observada estabilidade do sistema na remoção da DQO (>70%). Só após esse período, iniciou-se a aplicação do antibiótico SMX no substrato de alimentação e avaliação de sua remoção, bem como o impacto sobre o processo anaeróbio do reator.

### 4.3 Substrato sintético

Para a alimentação do reator foi utilizado um substrato sintético que simula a fração solúvel do esgoto sanitário, que representa uma DQO teórica total de  $500 \text{ mg.L}^{-1}$ , sendo composta por 50% de proteína (extrato de carne), 40% de carboidratos (20% de sacarose, 60% de amido e 20% de celulose) e 10% de lipídeo (óleo de soja emulsionado com solução detergente). A composição apresentada na **Tabela 5**, foi baseada em Torres (1992) adaptada por Mockaitis et al. (2014) e Lima Gomes et al. (2015).

O meio de alimentação foi armazenado em balde plástico e sob refrigeração a  $4^\circ\text{C}$  em uma câmara fria para evitar sua fermentação. Visando o tamponamento do meio adicionou-se bicarbonato de sódio na concentração de  $300 \text{ mg.L}^{-1}$ . Para emulsionar o óleo de soja preparou-se uma solução de detergente comercial (LAS – *linear alquilbenzeno sulfonado*) na concentração de  $50 \text{ mL.L}^{-1}$ , na qual o óleo foi adicionado. Para cada litro de meio preparado adicionou-se 1 mL da solução detergente e 35  $\mu\text{L}$  de óleo.

**Tabela 5 - Composição do meio sintético**

Componente	Concentração ( $\text{mg.L}^{-1}$ )
Sacarose	43,0
Amido	135,0
Celulose	42,5
Extrato de Carne	219,0
Óleo de Soja	31,1
Bicarbonato de Sódio ( $\text{NaHCO}_3$ )	300,0
Fosfato de Potássio Monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	15,0
Cloreto de Sódio ( $\text{NaCl}$ )	250,0
Cloreto de Cálcio Diidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	7,0
Cloreto de Magnésio Hexaidratado ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	4,5
LAS (Surfactante Aniônico)	15,0

Fonte: Adaptado de Lima Gomes et al. (2015).

Como a dissolução dos componentes da mistura não ocorreu integralmente, especialmente devido ao amido, foram coletadas amostras imediatamente na entrada do reator a fim de verificar a DQO e o SMX total real na alimentação do reator.

Após o meio de alimentação preparado, o antibiótico SMX era adicionado na concentração de  $400 \text{ ng L}^{-1}$  aproximadamente, adotada por ser uma concentração típica para

esgotos sanitários, de acordo com valores reportados na literatura (CARNEIRO et al., 2019; CHOI et al., 2007; CHOUBERT et al., 2009; DU; FAN; QIAN, 2015; GAO et al., 2016; GÖBEL et al., 2005; LIMA GOMES et al., 2015).

#### 4.4 Análises físico-químicas

O monitoramento do desempenho do reator foi realizado por meio de análises físico-químicas conforme metodologias analíticas e frequências dispostas na **Tabela 6**.

**Tabela 6 - Análises físico-químicas realizadas no monitoramento**

Parâmetro (Unidade)	Método	Frequência (por semana)	Referência
pH	Potenciométrico	2 vezes	APHA (2005)
Alcalinidade (mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	Titulométrico	2 vezes	Ripley; Boyle; Converse, 1986)
Ácidos Orgânicos Voláteis (mg.L <sup>-1</sup> )	Cromatografia Gasosa – GC	1 vez	Adorno; Hirasawa; Varesche (2014)
DQO (mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	Espectrofotométrico	2 vezes	APHA (2005)
Série de Sólidos (mg.L <sup>-1</sup> )	Gravimétrico	Quinzenal	APHA (2005)
Composição do biogás (CH <sub>4</sub> , CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S)	Cromatografia Gasosa – GC	2 vezes	APHA (2005)
Antibióticos SMX (ng.L <sup>-1</sup> )	Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massas – LC-MSMS	2 vezes	Lima Gomes et al. (2015)

##### 4.4.1 pH e alcalinidade

Para a análise, primeiramente, separaram-se 25 mL do afluente e do efluente filtrados em membrana 1,2 µm e mediu-se o pH com o auxílio de um pHmêtro Digimed DM-22 (**Figura 7**), previamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0 à temperatura ambiente.

**Figura 7 - Foto do pHmêtro  
Digimed DM-22**



Fonte: Autoria própria.

Com o pH determinado, do auxílio do mesmo aparelho e de um agitador magnético, titularam-se as amostras com ácido sulfúrico 0,0359 M, até o pH baixar para aproximadamente 5,75 e 4,30, para a determinação da alcalinidade parcial e total, respectivamente. A primeira refere-se à aproximação da alcalinidade proveniente do monohidrogeno carbonato (bicarbonato) adicionado no afluente, e a segunda alcalinidade representa os ácidos voláteis.

Os cálculos para obtenção da alcalinidade parcial (AP) ( $\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ ), total (AT) ( $\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ ) e intermediária (AI) ( $\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ ) estão descritos pelas **Equações 2, 3 e 4** segundo proposta a metodologia de Ripley; Boyle; Converse (1986).

$$AP = \frac{V_{\text{pH } 5,75} \cdot M_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 100\,000}{V_{\text{amostra}}} \quad (2)$$

$$AT = \frac{V_{\text{pH } 4,30} \cdot M_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 100\,000}{V_{\text{amostra}}} \quad (3)$$

$$AI/AP = \frac{AT - AP}{AP} \quad (4)$$

Em que:

$V_{\text{pH } 5,75}$  é o volume de ácido utilizado para atingir o pH de 5,75;

$V_{\text{pH } 4,30}$  é o volume de ácido utilizado para atingir o pH de 4,3;

$V_{\text{amostra}}$  é o volume da amostra utilizado (25 mL);

$M_{\text{H}_2\text{SO}_4}$  é a molaridade da solução de ácido sulfúrico utilizado.

Considerou-se também no monitoramento do reator a relação entre a alcalinidade intermediária e parcial (AI/AP) – parâmetro que indica a ocorrência de distúrbios do processo anaeróbio, visto que o desequilíbrio na produção e no consumo de ácidos voláteis provoca o aumento dessa relação (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986).

#### 4.4.2 Ácidos voláteis totais

Para o monitoramento dos ácidos voláteis totais (AVT) que podem ocasionalmente aparecer nas rotas de degradação anaeróbia, tem-se como referência o método desenvolvido por Adorno et al. (2014), que contempla sete ácidos orgânicos voláteis (acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico e caprótico) e os solventes acetona, metanol, etanol e n-butanol, que podem ocasionalmente aparecer nas rotas de degradação anaeróbia. A análise separa e quantifica os ácidos produzidos por meio do cromatógrafo gasoso GC-2010 Shimadzu com detector de ionização de chama (GC/FID), com coluna HP INNOWAX de 30 m x 0,25 mm (diâmetro interno) x 0,25  $\mu\text{m}$  (espessura do filme).

Primeiramente, foram coletadas e congeladas 3,5 mL das amostras do afluente e do efluente. Para a leitura no cromatógrafo, pipetou-se 2,0 mL da amostra em um vial de análise de 10 mL, adicionando a ele 1,0 g de cloreto de sódio previamente seco com 2,0 mL da amostra e as soluções de padrão interno, sendo 70  $\mu\text{L}$  de isobutanol e 100  $\mu\text{L}$  de ácido crotônico. Previamente a injeção no cromatógrafo, pipetou-se 200  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico (2  $\text{mol.L}^{-1}$ ).

#### 4.4.3 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Para a determinação da matéria orgânica do meio em  $\text{mg.L}^{-1}$ , em tubos de DQO padrão HACH e com o auxílio de uma pipeta automática, adicionaram-se 1,25 mL das amostras coletadas do afluente e do efluente, 0,75 mL da solução de dicromato de potássio (com dicromato de potássio 0,035  $\text{mol.L}^{-1}$  e sulfato de mercúrio 0,134  $\text{mol.L}^{-1}$ ) e 1,75 mL da solução de sulfato de prata (0,032  $\text{mol.L}^{-1}$ ), estes dois com o auxílio de dispensadores automáticos. Uma amostra “branco”, com água destilada, era preparada nas mesmas proporções. Em seguida, os tubos eram agitados por inversão, segurando-os pela tampa e

colocados no digestor HACH COD Reactor (**Figura 8a**) previamente aquecido à temperatura de 150°C, onde foram mantidos durante 120 minutos para serem digeridas.

Após atingir o tempo necessário, esperou-se o resfriamento dos tubos e realizou-se a leitura da absorbância em  $\text{mg.L}^{-1}$  nos comprimentos de ondas de 420 nm (chamada de curva baixa de DQO) para a amostra do efluente e de 600 nm para a amostra do afluente (chamada de curva alta de DQO) com o auxílio do espectrofotômetro Nanocolor Vis da marca Macherey-Nagel (**Figura 8b**). Foi utilizado o branco como zero de referência. O procedimento foi em duplicata tanto para o afluente como para o efluente.

**Figura 8 - Foto do digestor HACH COD Reactor (a); foto do espectrofotômetro Nanocolor Vis da marca Macherey-Nagel (b)**



Fonte: Autoria própria.

Assim, pode-se calcular a eficiência de remoção da matéria orgânica pela **Equação 5**.

$$E_{\text{DQO}} = \frac{\text{DQO}_{\text{afluente}} - \text{DQO}_{\text{efluente}}}{\text{DQO}_{\text{afluente}}} \cdot 100\% \quad (5)$$

Em que:

$\text{DQO}_{\text{afluente}}$  é o valor de DQO em  $\text{mg.L}^{-1}$  no afluente;

$\text{DQO}_{\text{efluente}}$  é o valor de DQO em  $\text{mg.L}^{-1}$  no efluente.

#### 4.4.4 Sólidos

Para a determinação de sólidos totais, inicialmente, foram coletadas e congeladas amostras do efluente. Para a análise, calcinou-se uma cápsula de porcelana em mufla a 550 °C por 15 minutos até atingir massa constante. Passado esse tempo, aguardou-se a mufla atingir a temperatura de segurança para sua abertura (300°C) e transferiu-se a cápsula para estufa a 103-105 °C, na qual permaneceu por tempo adequado para a estabilização da temperatura. Depois disso, levou-se a cápsula calcinada para o dessecador, até a mesma atingir a temperatura ambiente. Após esse procedimento, pesou-se a cápsula em balança analítica para determinação de sua massa  $P_0$  em g.

Na cápsula de massa conhecida, transferiu-se 50 mL da amostra (volume determinado garantindo que a quantidade de resíduo não supere 200 mg) para a mesma e secou a amostra em estufa a 105 °C durante 24 horas. Depois disso, a cápsula foi resfriada em dessecador e a massa  $P_1$  em g foi determinada.

Com os valores obtidos, calculou-se o valor de sólidos totais (ST) em  $\text{mg.L}^{-1}$  conforme a **Equação 6**.

$$ST = \frac{P_1 - P_0}{V_{\text{amostra}}} \cdot 1000 \quad (6)$$

Em que:

$P_0$  é a massa da cápsula de porcelana em g;

$P_1$  é a massa do conjunto cápsula e amostra em g após secagem em estufa a 100 °C;

$V_{\text{amostra}}$  é o volume da amostra utilizado em mL.

Após a determinação da concentração de sólidos totais, a cápsula foi calcinada novamente em mufla a 550°C durante 15 minutos. Após resfriado, a massa do conjunto foi determinada,  $P_2$  em g. Em seguida, calculou-se o valor de sólidos totais fixos (STF) e voláteis (STV) em  $\text{mg.L}^{-1}$  de acordo com as **Equações 7 e 8**.

$$STF = \frac{P_2 - P_0}{V_{\text{amostra}}} \cdot 1000 \quad (7)$$

$$STV = \frac{P_1 - P_2}{V_{\text{amostra}}} \cdot 1000 \quad (8)$$



Em que:

$P_2$  é a massa do conjunto cápsula e amostra em g após calcinação em mufla a 550 °C.

Além da determinação de sólidos totais, foram realizadas análises para a determinação de sólidos suspensos totais. Para isso, inicialmente, lavou-se uma membrana filtrante (micro-fibra de vidro de 1,2  $\mu\text{m}$ ) com água Milli-Q e com o auxílio de uma pinça metálica, transferiu-a para uma cápsula de porcelana e calcinou-a em uma mufla a 550 °C durante 15 minutos. Após o resfriamento, pesou-se a membrana em balança analítica para determinar a massa  $P_3$  em g.

Feito isso, filtrou-se 50 mL da amostra utilizando a membrana em sistema de filtração a vácuo. A membrana contendo o resíduo foi transferida novamente para a cápsula e levada para secagem em estufa a 100 °C. Após 24 horas, o conjunto foi retirado da estufa e colocado no dessecador para resfriar. A membrana foi pesada novamente para determinação da massa  $P_4$  em g e levada para calcinação em mufla a 550 °C. Por fim, o conjunto foi resfriado e a membrana pesada para determinação da massa  $P_5$  em g.

Os valores de concentração de sólidos suspensos totais (SST), fixos (SSF) e voláteis (SSV) em  $\text{mg.L}^{-1}$  foram então calculados a partir das **Equações 9 a 11**.

$$\text{SST} = \frac{P_4 - P_3}{V_{\text{amostra}}} \cdot 1000 \quad (9)$$

$$\text{SSF} = \frac{P_5 - P_4}{V_{\text{amostra}}} \cdot 1000 \quad (10)$$

$$\text{SSV} = \frac{P_4 - P_5}{V_{\text{amostra}}} \cdot 1000 \quad (11)$$

Em que:

$P_3$  é a massa da membrana filtrante em g;

$P_4$  é a massa da membrana em g após secagem em estufa a 100 °C;

$P_5$  é a massa da membrana em g após calcinação em mufla a 550 °C;

$V_{\text{amostra}}$  é o volume da amostra utilizado em mL.

#### 4.4.5 Produção e composição de biogás

Para monitorar a produção de biogás presente no *headspace* do reator, utilizou-se o gasômetro modelo MGC-1 V30 (Ritter) para medir sua vazão em mL.d<sup>-1</sup>, apresentado na **Figura 9**.

A determinação da composição do biogás (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>S) foi realizada utilizando-se o cromatógrafo de gases Shimadzu GC 2014AT, equipado com detector de condutividade térmica (GC/TCD) e coluna HP-PLOT Q (30m x 0,53 mm x 40 µm). A temperatura do injetor foi de 160°C no detector e no forno, de 170°C. Foi utilizado hidrogênio como gás de arraste.

**Figura 9 - Foto do gasômetro modelo MGC-1 V30 (Ritter)**



Fonte: Autoria própria.

A partir dos resultados de vazão e composição do biogás puderam-se determinar algumas variáveis que auxiliam no monitoramento do desempenho da metanogênese no reator, como: a vazão molar de metano (VMM) em mmolCH<sub>4</sub>.d<sup>-1</sup>, a produção volumétrica de metano (PVM) em mLCH<sub>4</sub>.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e o rendimento de metano (RM) em mLCH<sub>4</sub>.gDQOremovida<sup>-1</sup>, descritas nas **Equações 12 a 14**, respectivamente.

$$VMM = \frac{Q_{\text{biogás}} \cdot n_{\text{CH}_4}}{V_i} \quad (12)$$

Em que:

$Q_{\text{biogás}}$  é a vazão de biogás medida por meio do gasômetro em  $\text{mL.d}^{-1}$ ;

$n_{\text{CH}_4}$  é o número de mols de metano em  $\mu\text{mol}$  obtido pela curva de calibração do cromatógrafo;

$V_i$  é o volume de biogás injetado no cromatógrafo =  $500 \mu\text{L}$ .

$$\text{PVM} = \frac{Q_{\text{biogás}} \cdot X_{\text{CH}_4}}{V_u \cdot \text{SSV}} \quad (13)$$

Em que:

$X_{\text{CH}_4}$  é a fração molar de metano (número de mols de metano pelo número de mols total no biogás);

$V_u$  é o volume útil do reator em L.

$$\text{RM} = \frac{Q_{\text{biogás}} \cdot X_{\text{CH}_4}}{Q_{\text{afl}} (\text{DQO}_{\text{afl}} - \text{DQO}_{\text{efl}})} \quad (14)$$

Em que:

$Q_{\text{afl}}$  é a vazão de alimentação do reator em  $\text{L.d}^{-1}$ ;

$\text{DQO}_{\text{afl}} - \text{DQO}_{\text{efl}}$  é a DQO removida do reator em  $\text{g.L}^{-1}$ .

#### 4.4.6 Determinação de SMX

A determinação de SMX nas amostras de afluente e efluente foi realizada por meio de um sistema de análise constituído por cromatógrafo a líquido 1200 Infinity (Agilent, EUA) com detector com arranjo de diodo (UV/Vis) e um espectrômetro de massas QTRAP 5500 (ABSCIEX, Canadá) que monitora os analitos usando o modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM - selected reaction monitoring) cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS). O método utilizado foi desenvolvido e validado por Lima Gomes et al. (2015).

As amostras do afluente e do efluente dos reatores eram coletadas e filtradas em membrana com  $1,2 \mu\text{m}$  seguida de uma membrana  $0,2 \mu\text{m}$ . Após a filtração, a amostra era acidificada com ácido fórmico 98% até pH de 3,0 e resfriadas dentro de frasco *vial ambar*. Para a leitura no equipamento, preparou-se uma solução com 1,48 mL da amostra, juntamente

com 20 µL de padrão interno do antibiótico SMX. Foi realizada uma curva de calibração específica, no qual o limite de detecção obtido foi de 12,9 ng.L<sup>-1</sup>.

Com os valores de concentração do afluente e do efluente, calculou-se a eficiência de remoção do sulfametoxazol a partir da **Equação 15**.

$$E_{\text{SMX}} = \frac{\text{SMX}_{\text{afluente}} - \text{SMX}_{\text{efluente}}}{\text{SMX}_{\text{afluente}}} \cdot 100\% \quad (15)$$

Em que:

SMX<sub>afluente</sub> é o valor da concentração de SMX em ng.L<sup>-1</sup> no afluente;

SMX<sub>efluente</sub> é o valor da concentração de SMX em ng.L<sup>-1</sup> no efluente.

#### 4.5 Perfis espaciais de DQO e SMX

A cinética de biodegradação de COD e SMX foi avaliada a partir das análises de amostras coletadas nos pontos laterais do reator, representando os diferentes tempos de detenção hidráulica ( $\theta_h$ ) de 0 a 12 h, considerando o ASBBR um reator *plug-flow* ideal, como demonstrado por Mockaitis et al. (2014) e Carneiro et al. (2019). O modelo cinético utilizado para ajustar os dados experimentais foi de primeira ordem com concentração residual descrito por Camargo et al. (2002) e expresso pela **Equação 16**. Os perfis cinéticos foram avaliados em duas amostragens para cada inóculo operado.

$$C = (C_0 - C_R) \cdot e^{(-k_1 \cdot \theta_h)} + C_R \quad (16)$$

Em que:

C é a concentração no meio líquido de DQO ou SMX (mg.L<sup>-1</sup> para DQO e ng.L<sup>-1</sup> para SMX);

C<sub>0</sub> é a concentração afluente de DQO ou SMX (mg.L<sup>-1</sup> para DQO e ng.L<sup>-1</sup> para SMX);

C<sub>R</sub> é a concentração residual de DQO ou SMX (mg.L<sup>-1</sup> para DQO e ng.L<sup>-1</sup> para SMX);

$\theta_h$  é o tempo de detenção hidráulica em horas;

$k_1$  é a constante cinética aparente de primeira ordem.

#### 4.6 Avaliação estatística

A avaliação estatística valeu para a realização de comparações entre os valores de eficiência de remoção do SMX e da DQO, produção e rendimento do metano (VMME, PVME e RME) para os três inóculos por meio da Análise de Variância (ANOVA) *one-way*

seguida do Teste de Tukey. O primeiro tem como finalidade verificar se existe uma diferença significativa entre as médias e se o fator (neste trabalho, o inóculo) exerce influência em alguma variável dependente. Como a resposta é apenas se há existência ou não de influência, quando comprovada, buscou-se saber quais inóculos tiveram desempenhos diferentes. Para isso, empregou-se o Teste de Tukey, o qual fez combinações de modo que os resultados das fases pudessem ser comparados entre si, como exemplificado abaixo:

- Valores dos inóculos LA e LB;
- Valores dos inóculos LA e LM;
- Valores dos inóculos LB e LM;

O teste foi realizado no software PAST (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001) e o nível de significância admitido foi de 5 %. Foram consideradas as seguintes hipóteses:

- Hipótese nula: os valores (de eficiência de remoção ou produção de metano) entre as fases comparadas são iguais;
- Hipótese alternativa: os valores (de eficiência de remoção ou de produção de metano) entre as fases comparadas são diferentes.

Por fim, obteve-se o valor  $-p$  e comparou-se com o nível de significância admitido. Nos casos em que o valor  $-p$  é menor que 5 %, a hipótese nula foi rejeitada, já quando o valor  $-p$  é maior que 5 %, a hipótese nula foi aceita.

#### 4.7 Extração da biomassa do material suporte

Para conhecer os mecanismos envolvidos na remoção do antibiótico sulfametoxazol do ASBBR, as comunidades microbianas presentes em cada lodo e suas alterações após o período de operação de cada inóculo, realizou-se a extração da biomassa do material suporte do reator. O objetivo foi realizar a:

- Quantificação da massa de biomassa aderida ao material suporte durante a operação do reator, a partir dos sólidos suspensos voláteis (SSV) e procedimentos descritos na **Seção 4.5.4**;
- Cálculo do tempo de retenção celular (TRC), como apresentado na **Equação 17**;

- Análise do mecanismo de sorção na remoção do SMX;
- Análise da biomassa inoculada e aderida ao material suporte do reator por meio de microscopia óptica e pela técnica da Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE).

A metodologia de extração da biomassa consistiu em após cada operação do reator com um inóculo diferente, coletar, para cada análise desejada, 2 paralelepípedos de espuma colonizada de cada ponto de amostragem do reator e a mistura das espumas para a formação de uma amostra composta do leito reacional.

As espumas foram colocadas com a ajuda de uma pinça em um tubo Falcon de 50 mL com água destilada e pérolas de vidro, mexidas e despejadas em uma peneira, na qual com uma colher, as espumas foram maceradas. Esse procedimento foi repetido, em cada amostra, até que se fosse retirado o máximo possível de biomassa aderida ao material suporte. Feito isso, a biomassa lavada da espuma foi centrifugada a 30 °C, 6000 rpm por 5 min. O sobrenadante formado foi descartado e o pellet foi resfriado a -4 °C para interromper a atividade biológica.

$$TRC = \frac{SSV_{\text{reator}}}{Q_{\text{efluente}} \cdot SSV_{\text{efluente}}} \quad (17)$$

Em que:

TRC é o tempo de retenção celular ou idade do lodo em d (dias);

$SSV_{\text{reator}}$  é a massa de sólidos suspensos voláteis presente no reator em gSSV;

$Q_{\text{efluente}}$  é a vazão efluente do reator em L.d<sup>-1</sup>;

$SSV_{\text{efluente}}$  é a concentração de biomassa efluente do reator em gSSV.L<sup>-1</sup>.

#### 4.8 Extração do SMX da biomassa e avaliação do mecanismo de adsorção

O protocolo do ensaio de sorção foi realizado de acordo com Carneiro (2019). Para a extração de SMX foram adicionados 8 mL de acetonitrila a 5 g da biomassa, sendo mantida sob agitação em *shaker* por 24 h a 30 °C e 150 rpm. Após este período, a amostra foi centrifugada e o extrato resultante foi separado. O precipitado foi ressuspense em 8 mL de metanol e repetido o procedimento anterior. A mistura de extratos de acetonitrila e metanol foi evaporada sob fluxo de N<sub>2</sub> em banho-maria a 35 °C. O material seco foi ressuspense em

um volume de 20 mL de água destilada, filtrado em 0,22 µm e acidificado para pH 3 com ácido fórmico. Finalmente, procedeu-se a análise de SMX conforme descrito na **Seção 4.5.6**.

#### **4.9 Análises microbiológicas**

No intuito de avaliar as comunidades microbianas presentes em cada lodo e suas alterações após o período de operação da fase, realizou-se a análise da biomassa inoculada e da aderida ao material suporte do reator por meio de microscopia óptica e pela técnica da Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE).

##### **4.9.1 Microscopia óptica**

Para os ensaios microbiológicos, a biomassa inoculada e a biomassa aderida após o período operacional foram submetidas à microscopia de contraste de fase e fluorescência utilizando o microscópio óptico LEICA, acoplado à câmara OPTRONICS e software IMAGE PRO-PLUS. Para a análise, foi adicionada fina camada de ágar estéril (2%) a uma lâmina, em seguida, uma gota da amostra, e sob ela foi colocada uma lamínula.

##### **4.9.2 Avaliação da comunidade microbiana por PCR/DGGE**

A caracterização das comunidades microbianas do inóculo e da biomassa aderida ao final de cada operação foi realizada pela técnica de PCR/DGGE. A extração do DNA dessas amostras foi realizada com o kit FAST DNA Spin Kit For Soil (Bio101, Vista, CA, USA) de acordo com instruções do fabricante.

Na etapa da PCR (reação em cadeia da polimerase), os fragmentos do gene RNAr 16S foram amplificados usando o conjunto iniciador 968 FGC - 1401 R para o domínio Bacteria (NÜBEL et al., 1996) e 1100 FGC - 1400R para o domínio Archaea (KUDO et al., 1997). Para reação de amplificação, foram adicionados 25 µL de DNA padrão e 30 ng.L<sup>-1</sup> da amostra, o procedimento foi realizado de acordo com o manual do fabricante (TAQ DNA POLIMERASE – INVITROGEN, Carlsbad, CA, USA) e utilizando o termociclador Eppendorf AG - 22331 Hamburgfoi.

A eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE) foi realizada segundo descrito por Muyzer et al. (1993), utilizando o DCode<sup>TM</sup> Universal Mutation Detection System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). O produto da PCR foi separado por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo gradiente desnaturante de 45% a 65% (MUYZER; DE WAAL; UITTERLINDEN, 1993). As condições de corrida do DGGE foram

de voltagem constante de 75 V a temperatura de 60 °C por 16 h. Os géis foram observados no Sistema de Fotodocumentação (L.PixTouch - Loccus Biotechnology) sob a exposição de luz UV.

A partir do perfil de bandas do DGGE utilizou-se o software BioNumerics versão 7.6.2 para o cálculo do coeficiente de similaridade e a construção do dendrograma. O cálculo dos índices ecológicos foi executado no software PAST: dominância, Simpson, Shannon e Chao1.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

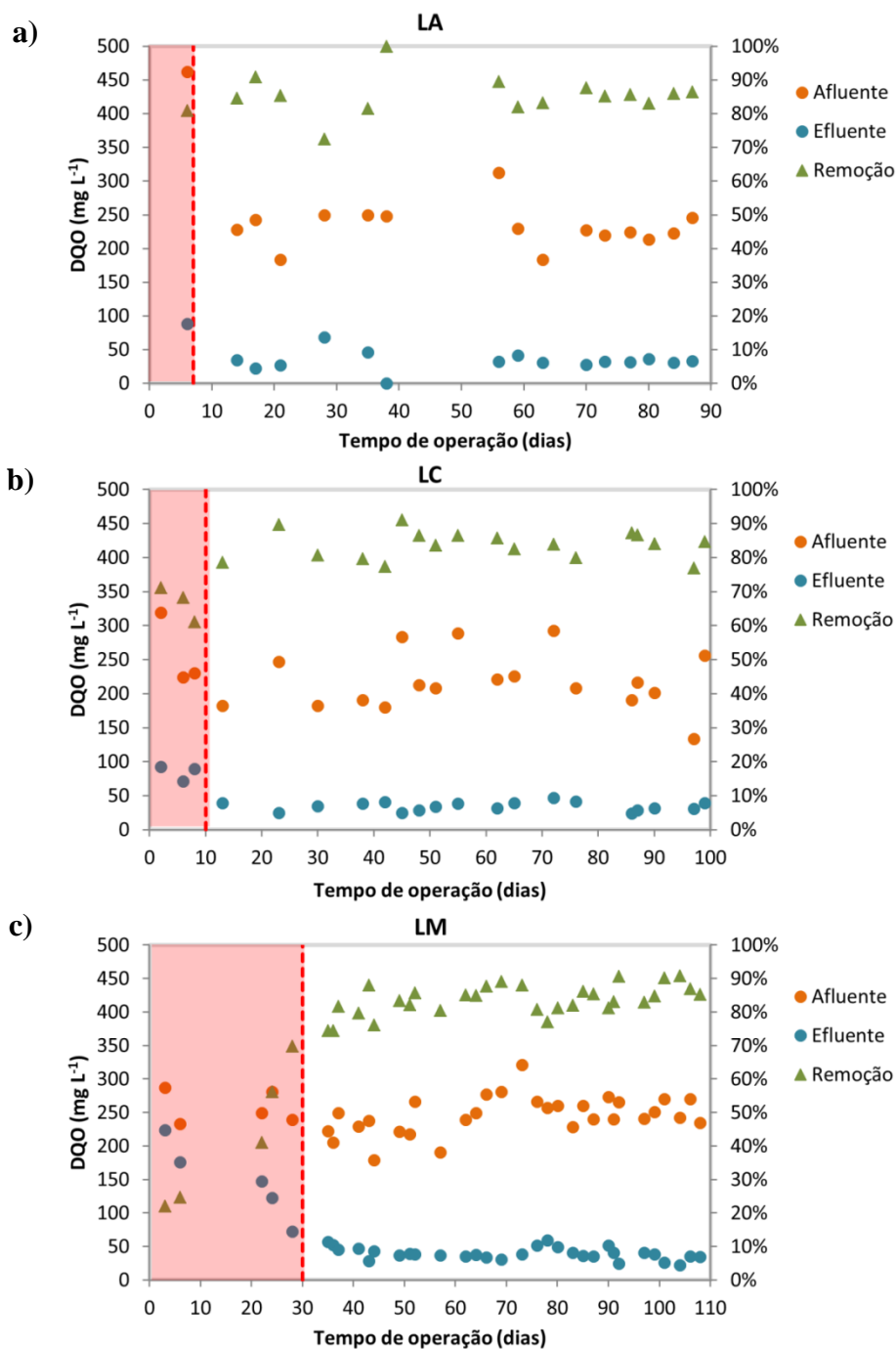
O ASBBR foi operado durante 91, 100 e 108 dias com os inóculos de LA, LC e LM, respectivamente, o que variou de acordo com o período de partida de cada inóculo e estabilização de *performance* do reator. Neste capítulo estão apresentados os resultados obtidos durante a operação do reator e sua discussão em função dos objetivos pretéritos deste estudo.

### 5.1 Remoção da DQO

A **Figura 10** exibe a variação temporal da DQO afluente e efluente e sua eficiência de remoção no reator. A diminuição do período de partida com a utilização de inóculos imobilizados tem sido relatada na literatura científica (MOCKAITIS et al., 2011; PRIYA et al., 2015; RODRIGUEZ; ZAIAT, 2011; ZINATIZADEH et al., 2017). Neste estudo, o tempo de início, considerado o período necessário para estabilização da remoção de DQO acima de 70% no sistema operacional como parâmetro com substrato sintético sem SMX, foi de: sete dias para o inóculo LA, dez dias para o inóculo LC e trinta dias para o inóculo LM. O resultado obtido permite concluir que a fonte do inóculo pode ter influenciado na estabilização do sistema operacional no período de partida e adaptação do reator às condições operacionais impostas. Possivelmente, o maior tempo de partida com o inóculo LM ocorreu pela característica de seu lodo muito aquosa.

Outra hipótese pode ser a presença de grande quantidade de microrganismos inativos no lodo (as metodologias de análises microbiológicas realizadas neste trabalho – microscopia óptica e PCR/DGGE não avaliam se as comunidades analisadas estavam ativas ou inativas). O inóculo LM foi o único do lodo da cor marrom (os inóculos LA e LC eram da cor preta). Segundo Díaz et al. (2006), os grânulos marrons geralmente são grânulos velhos, com pouca ou nenhuma atividade microbiana na parte interior - essa região dos grânulos é onde estão localizadas as metanogênicas (SEKIGUCHI et al., 1998).

**Figura 10 - Variação temporal da DQO afluente e efluente e sua eficiência de remoção na operação do LA (a); LC (b) e LM (c). O período em vermelho é o tempo de partida**



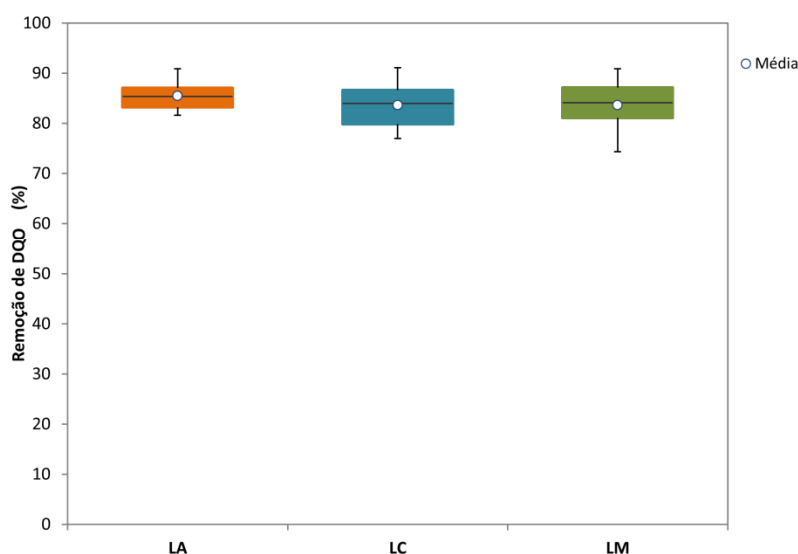
Fonte: Autoria própria.

A DQO do afluente teve uma média de  $246 \pm 67 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$  na operação com LA,  $224 \pm 45 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$  com LC e  $256 \pm 25 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$  com LM, não estando próxima da DQO teórica de  $500 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ . Sendo assim, a carga orgânica média afluente foi de  $0,79 \pm 0,21 \text{ gDQO}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$ ,  $0,72 \pm 0,14 \text{ gDQO}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$  e  $0,82 \pm 0,08 \text{ gDQO}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$  nas operações com os inóculos LA, LC e LM, respectivamente. No efluente, o reator obteve-se uma média de  $39,0 \pm$

17,4 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>, 41,7 ± 19,2 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> e 38,1 ± 8,8 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> com os inóculos de LA, LC e LM, respectivamente. De acordo com Carneiro (2019), a DQO afluente real abaixo da concentração teórica de interesse pode ser consequência da composição do substrato sintético contendo amido, substância que como observado nas operações do reator neste trabalho não era totalmente solubilizado no meio, ou ainda pela biomassa que se acumula na linha de alimentação ocasionando uma degradação da matéria orgânica e do antibiótico antes de sua entrada no reator.

A **Figura 11** apresenta o gráfico *boxplot* com a variação da eficiência de remoção de DQO para cada lodo inoculado. A remoção da matéria orgânica obteve boa eficiência média nas operações dos três inóculos, com remoções de 86 ± 3 %, 84 ± 4 % e 84 ± 5 % com os inóculos LA, LC e LM, respectivamente. Comparando-se os resultados dos diferentes lodos por ANOVA e Teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ), concluiu-se que a fonte de inóculo não influenciou a remoção global de matéria orgânica do reator nas condições de operação trabalhadas, que se manteve estável ao longo do tempo. Estudos anteriores indicam que as sulfonamidas não exercem impactos negativos significativos na remoção da matéria orgânica em reatores anaeróbios nas concentrações típicas encontradas nos esgotos sanitários (faixas abaixo de mg.L<sup>-1</sup>) (CETECIOGLU; ORHON, 2017; FOUNTOULAKIS et al., 2004; MOHRING et al., 2009; OLIVEIRA; SANTOS-NETO; ZAIAT, 2017; SHAHMAHDI et al., 2020; SPONZA; DEMIRDEN, 2007).

**Figura 11 - Boxplot da eficiência de remoção de DQO**

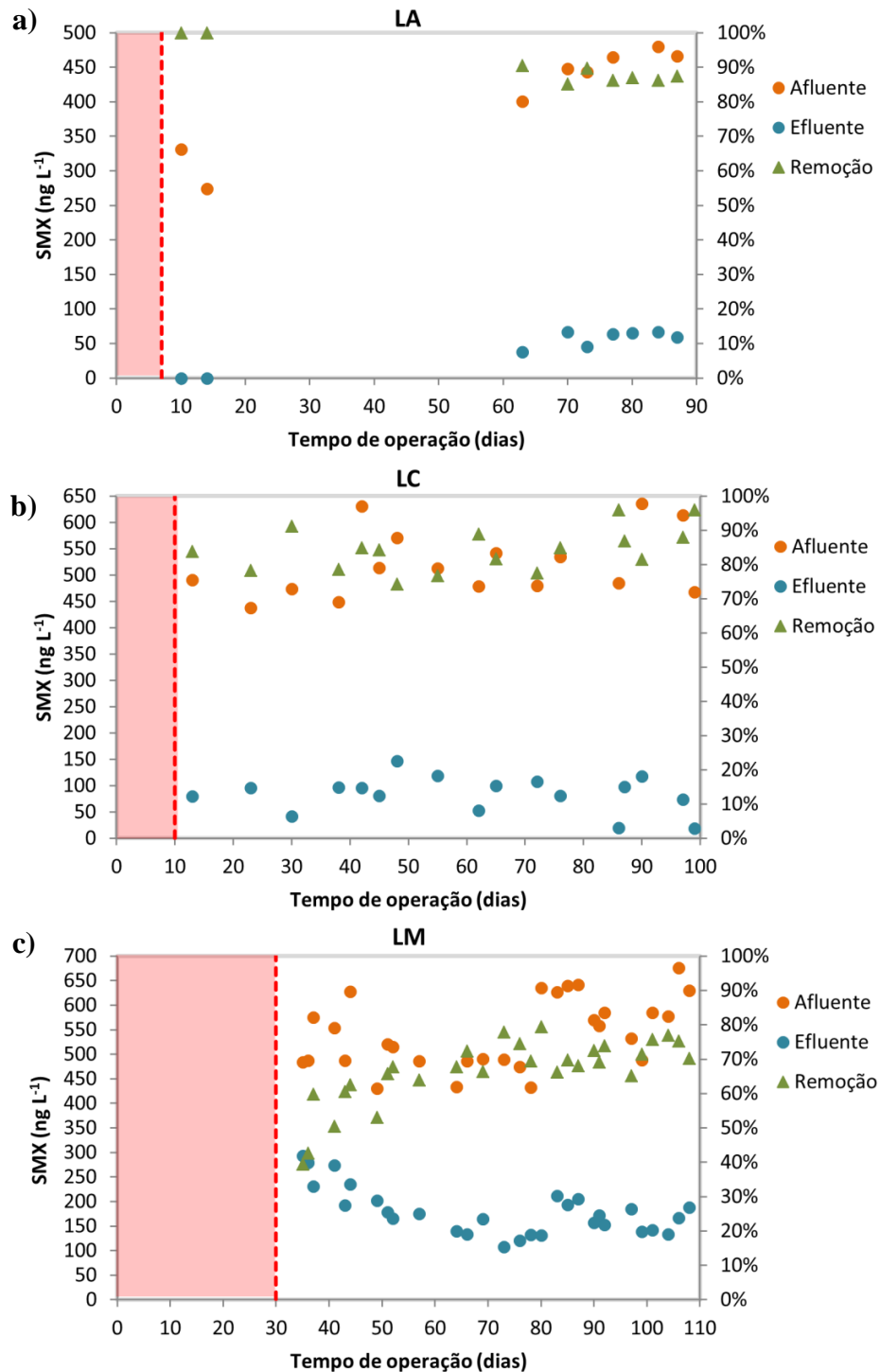


Fonte: Autoria própria.

## 5.2 Remoção do SMX

Para avaliar a remoção do antibiótico em cada lodo inoculado para a operação do reator, foram coletados amostras de seu afluente e efluente, como apresentado na **Figura 12**.

**Figura 12 - Variação temporal da concentração de SMX afluente e efluente e sua eficiência de remoção na operação do LA (a); LC (b) e; LM (c). O período em vermelho é o tempo de partida**



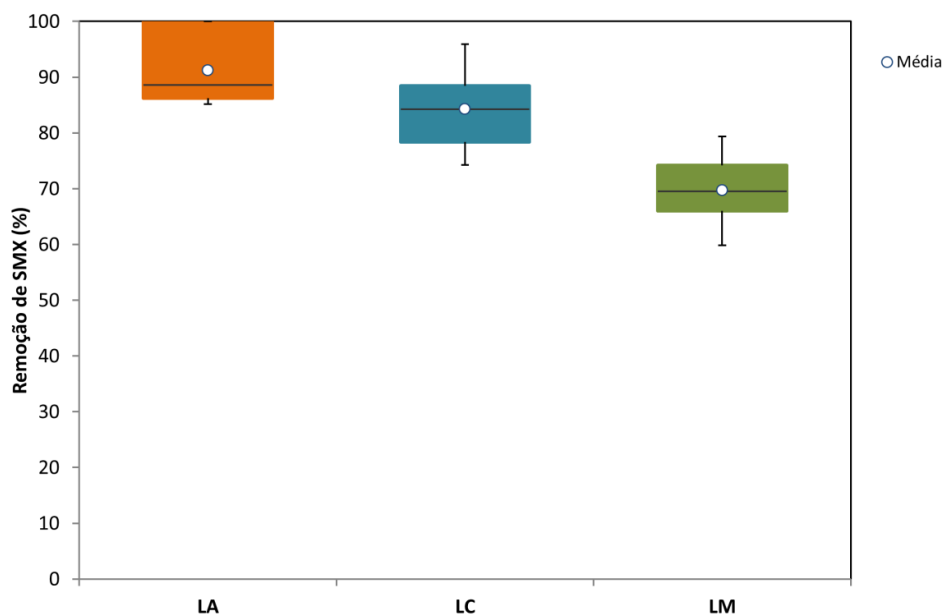
Fonte: Autoria própria.

O LA apresentou concentração de SMX média no afluente de  $421,10 \pm 71,28 \text{ ng.L}^{-1}$ , enquanto o LC, média de  $533,06 \pm 81,52 \text{ ng.L}^{-1}$ , e LM, média de  $543,77 \pm 68,99 \text{ ng.L}^{-1}$ . Os inóculos de LA e LC apresentaram uma adaptação mais rápida no quesito de tempo de operação, em dias, a introdução do SMX e uma remoção mais estável, com médias no efluente de  $44,23 \pm 25,90 \text{ ng.L}^{-1}$  no LA e  $83,84 \pm 34,47 \text{ ng.L}^{-1}$  no LC. Já o LM que precisou de mais tempo para estabilizar sua eficiência de remoção obteve média de  $184,58 \pm 50,37 \text{ ng.L}^{-1}$ .

Como podem ser observadas na **Figura 12**, as concentrações de SMX no afluente foram acima da concentração teórica de interesse ( $400 \text{ ng.L}^{-1}$ ). Essas concentrações acima da concentração alvo podem ser devido a erros na aplicação do antibiótico do afluente. A correção da diluição do antibiótico na alimentação para solucionar essa diferença não foi realizada durante a operação devido ao fato do cromatógrafo utilizado nas análises ter passado por uma manutenção corretiva a maior parte do período de pesquisa, tempo no qual as amostras foram refrigeradas para que fossem realizadas tais análises, só sendo obtido os resultados e a observação dessas concentrações maiores que  $400 \text{ ng.L}^{-1}$  tempos depois, só no final da operação do reator.

Entretanto, é possível observar que as concentrações do efluente acompanharam a variação do afluente, mostrando que a eficiência de remoção se manteve estável. Outro fator a ser observado é o período sem dados entre os dias 20 e 70 de operação com o LA devido a erros durante a realização do procedimento de análise, inviabilizando os resultados desses dias.

A **Figura 13** apresenta o gráfico *boxplot* da eficiência de remoção de SMX para cada lodo inoculado.

**Figura 13 - Boxplot da eficiência de remoção de SMX**

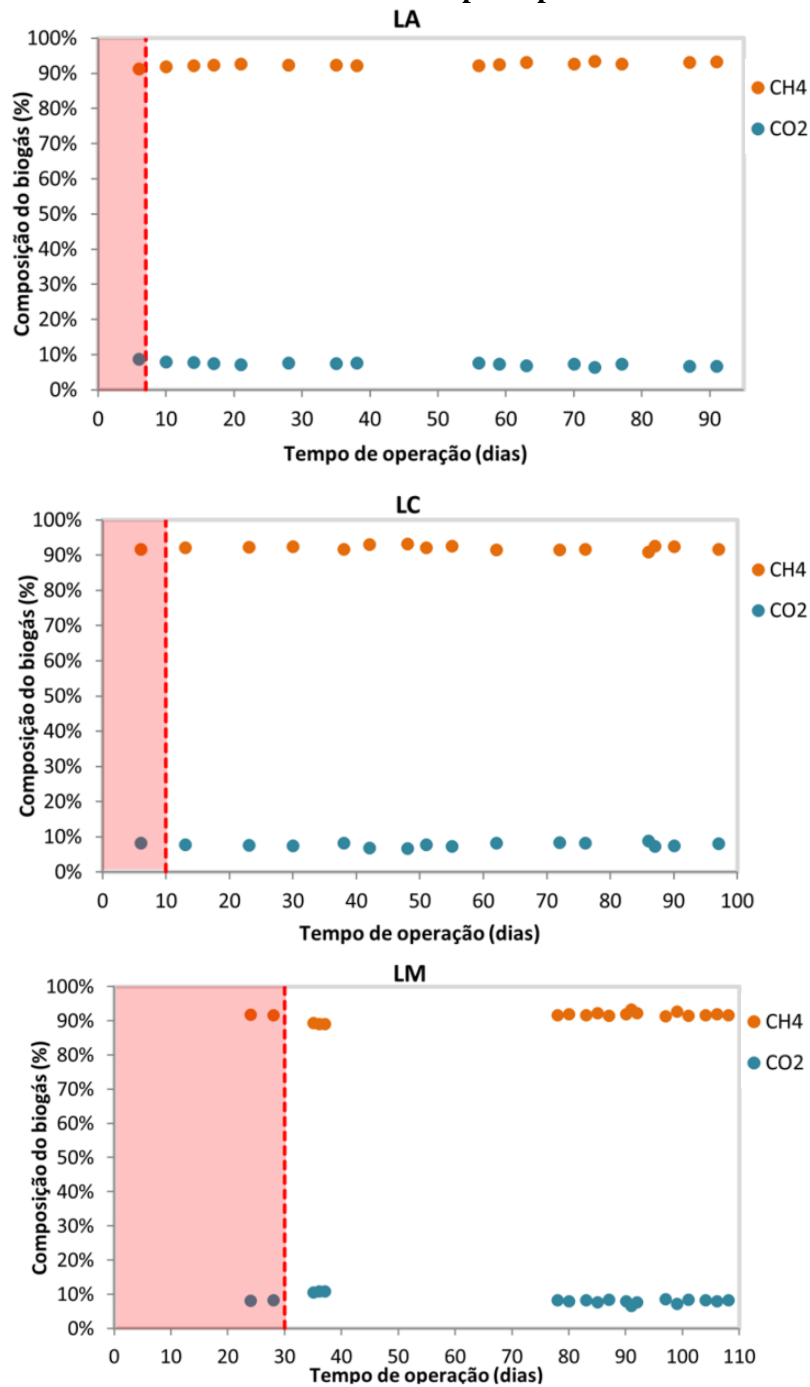
Fonte: Autoria própria.

Para remoção de SMX, os inóculos LA, LC e LM apresentaram médias de degradação do SMX de  $91 \pm 6 \%$ ,  $84 \pm 6 \%$  e  $70 \pm 5 \%$ , respectivamente. Foi constatado que a eficiência de remoção apresentou diferença estatística entre os lodos inoculados. Esses valores de remoção de SMX estão contidos nas faixas de eficiências obtidas em estudos anteriores. Carneiro et al. (2019) alcançaram remoção média de  $83 \pm 12 \%$  para SMX em ASBBR com inóculo proveniente de abatedouro de aves e Chatila et al. (2016) alcançaram 97 % de remoção para SMX em reator anaeróbico de fluxo horizontal com biomassa imobilizada. No estudo de Kang et al. (2018) foi obtido remoção de SMX de 84 % e 73 % em reatores sequenciais anóxico/anaeróbico/óxico com lodo granular e lodo ativado, respectivamente. Estes autores atribuem aos grânulos a melhor eficiência devido a maior retenção e concentração de biomassa, que seria eficaz na remoção de fármacos sulfonamidas.

### 5.3 Produção e rendimento de metano

Considerou-se o biogás constituído somente pelas parcelas de metano ( $\text{CH}_4$ ) e  $\text{CO}_2$ , visto que não foram detectados níveis de  $\text{H}_2\text{S}$  no biogás pelo método utilizado. O reator teve uma alta porcentagem de metano no biogás ( $>90\%$ ), que se manteve estável em todo o período de operação (**Figura 14**).

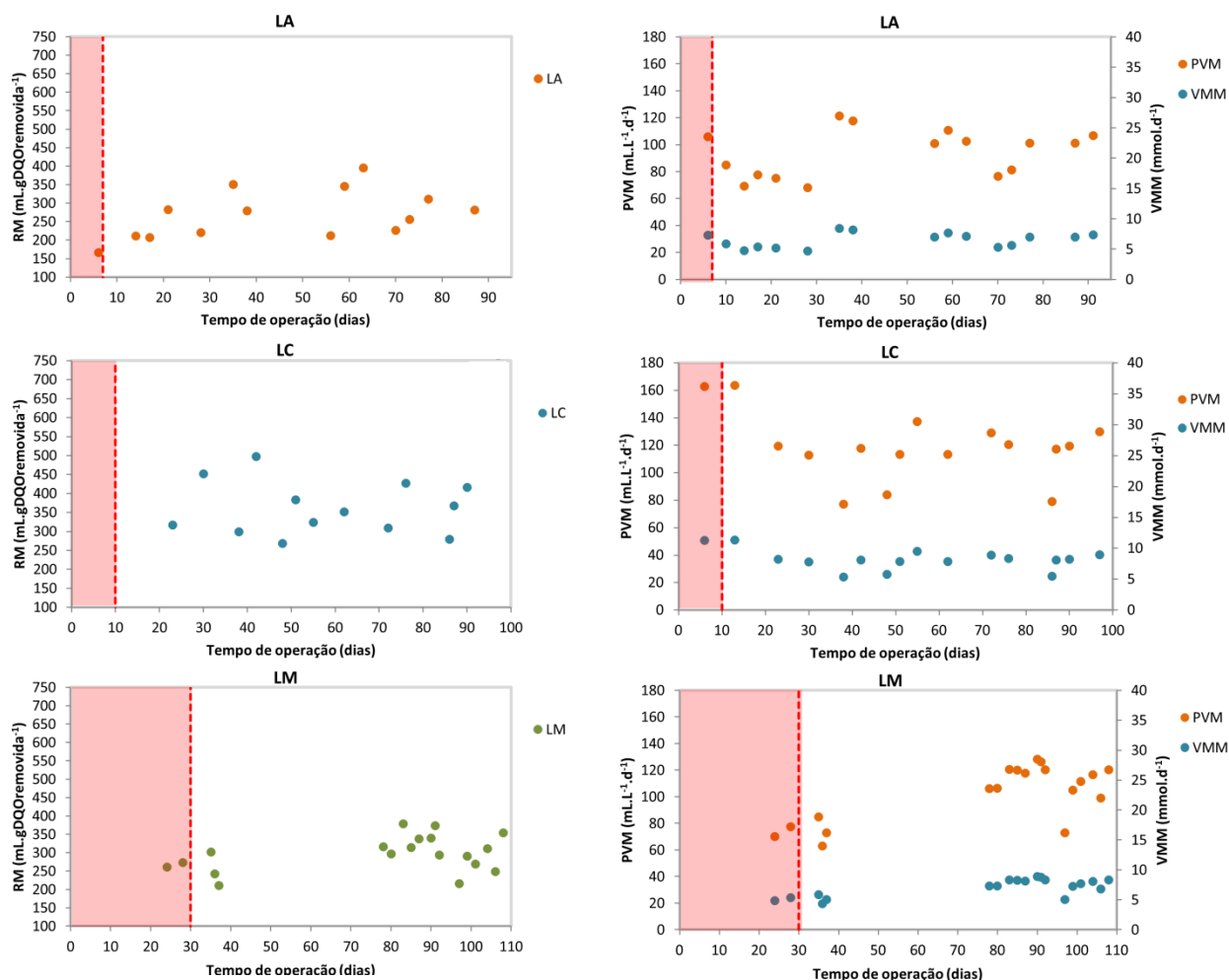
**Figura 14 - Variação temporal da composição do biogás. O período em vermelho é o tempo de partida**



Fonte: Autoria própria.

Na **Figura 15** são apresentados os resultados referentes à produção, vazão molar e rendimento de metano. O período sem dados na operação do LM, entre os dias 40 e 76, ocorreu devido à manutenção do cromatógrafo gasoso.

**Figura 15 - Variação temporal da VMM, RM e PVM na operação. O período em vermelho é o tempo de partida**

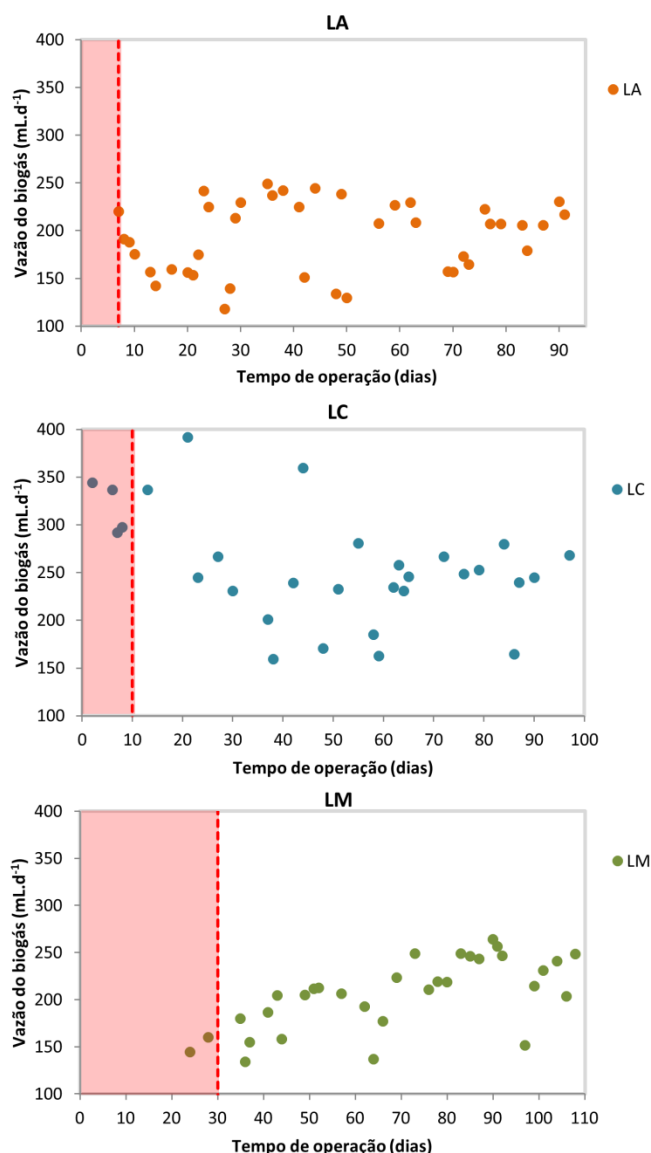


Fonte: Autoria própria.

Observou-se que a vazão molar de metano se manteve estável durante a operação, enquanto a produção volumétrica e o rendimento de metano apresentaram maiores flutuações em seus valores. Isso ocorreu provavelmente pela alta variação da vazão de biogás produzida (LA –  $193,61 \pm 37,36 \text{ mL.d}^{-1}$ , LC –  $255,76 \pm 58,55 \text{ mL.d}^{-1}$  e LM –  $205,86 \pm 37,87 \text{ mL.d}^{-1}$ ), visto que ela é uma das componentes de seus cálculos, como mostrados nas **Equações 12 e 13** no **item 4.5.5**. A variação da vazão de biogás durante a operação do reator é mostrada na **Figura 16**.



**Figura 16 - Variação da vazão do biogás durante a operação. O período em vermelho é o tempo de partida**

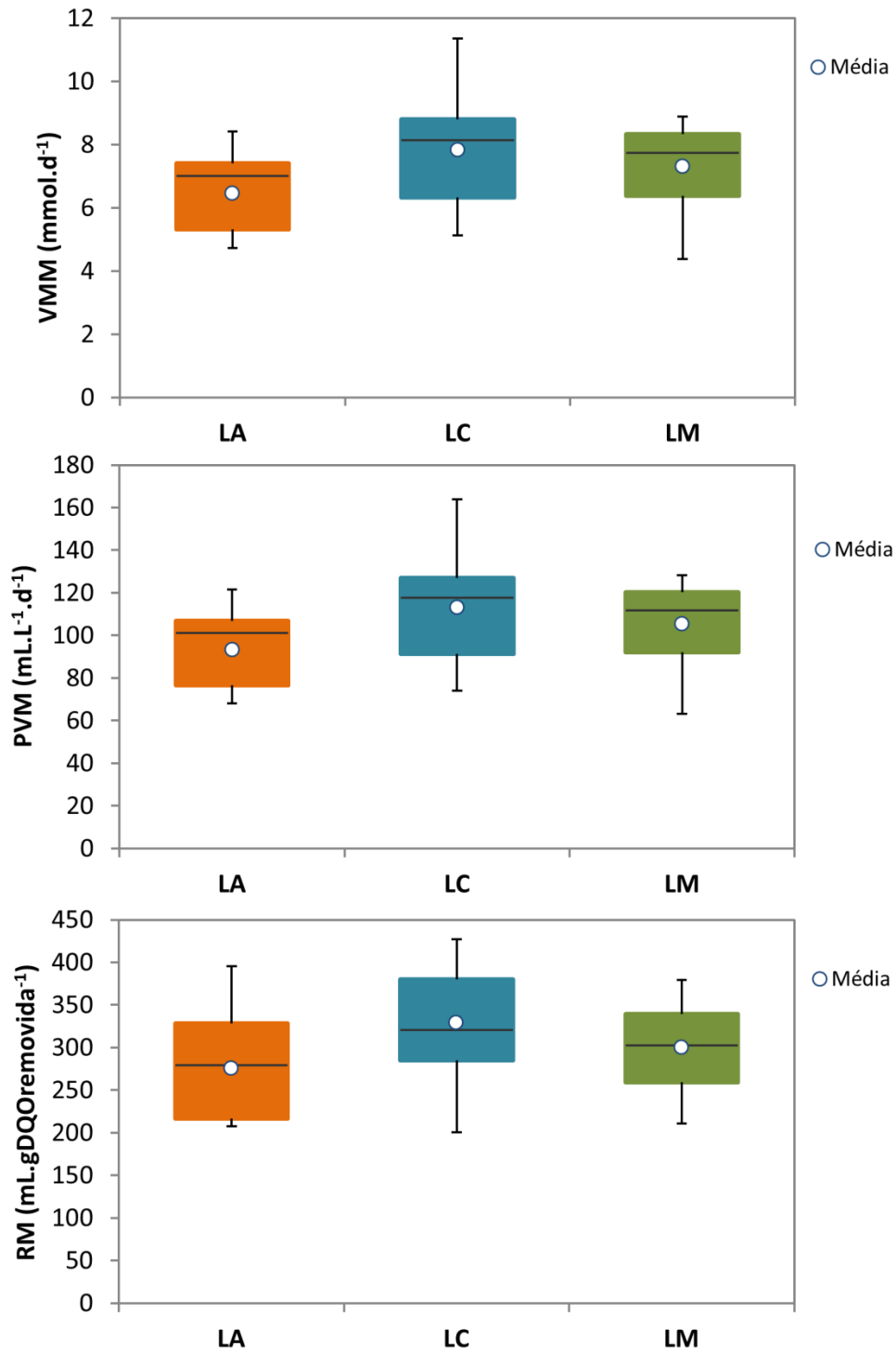


Fonte: Autoria própria.

A **Figura 17** apresenta os gráficos *boxplot* da vazão molar, produção volumétrica e rendimento de metano. A operação do reator com o inóculo LC apresentou médias de vazão molar ( $7,8 \pm 1,7 \text{ mmol.d}^{-1}$ ), produção volumétrica ( $113 \pm 24 \text{ mL.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ) e rendimento de metano ( $329 \pm 65 \text{ mL.g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$ ) maiores que os demais inóculos. A operação com LA apresentou médias de VM de  $6,5 \pm 1,2 \text{ mmol.d}^{-1}$ , PVM de  $93 \pm 18 \text{ mL.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  e RM de  $276 \pm 61 \text{ mL.g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$ . A operação com LM apresentou médias de VM de  $7,3 \pm 1,4 \text{ mmol.d}^{-1}$ , PVM de  $105 \pm 21 \text{ mL.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  e RM de  $300 \pm 50 \text{ mL.g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$ . De acordo com os estudos estatísticos realizados, as operações com os inóculos LA e LC apresentaram diferenças significativas para vazão molar e produção volumétrica de metano aplicando ANOVA e Teste

de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). O LM não apresentou diferença estatística com os resultados obtidos nas operações com LA e LC.

**Figura 17 - Boxplot da VMM (a); PVM (b) e RM (c)**



Fonte: Autoria própria.

Li et al. (2011) estudaram o efeito da fonte de inóculo no desempenho da digestão anaeróbia e na produção de biogás, e observaram que a operação com o inóculo de um digestor de esterco suíno obteve melhor RM ( $212 \text{ mL.g}^{-1}\text{VS}$ ) em comparação com os inóculos de um esterco leiteiro, de digestor anaeróbio tratando resíduo de milho e de um digestor de lodo municipal, que apresentaram redução de 8 a 11 % no rendimento de metano. Li et al. (2013) avaliaram a produção de metano durante a digestão de substratos orgânicos do esterco de galinha, usando dois inóculos de fontes diferentes provenientes de lodo de digestores de estação de tratamento de água residual municipal (DETARM) e lodo digerido de uma estação de tratamento de esterco de galinha (DETEG), e constataram que o DETARM apresentou melhores resultados em relação à produção de metano ( $351$  e  $298 \text{ mL g}^{-1}\text{VS}$  para DETARM e DETEG, respectivamente).

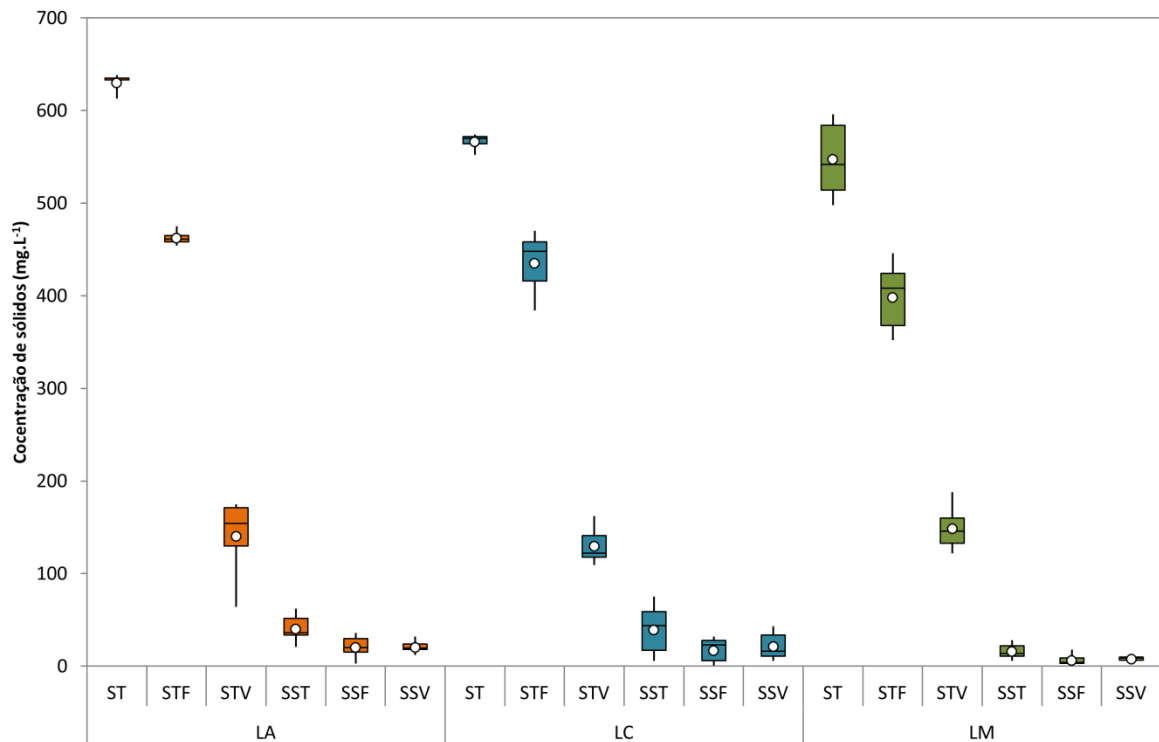
De acordo com Alvarino et al. (2014), a biodegradação dos compostos farmacêuticos depende da boa atividade metanogênica em reatores anaeróbios, corroborando os altos níveis de remoção de SMX alcançados neste estudo. Comparando os resultados de Carneiro et al. (2019), que obtiveram PVM de  $59 \pm 21 \text{ mLCH}_4.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  e RM de  $151 \pm 57 \text{ mL CH}_4.\text{gCOD}_{\text{removed}}^{-1}$  em um ASBBR de 2,7 L, com o relatado neste trabalho, foi possível observar que as três fontes de inóculo (LA, LC e LM) atingiram resultados bem superiores.

As operações com os inóculos LA e LC conduziram a valores mais altos de produção e rendimento de metano em relação ao LM, denotando que os microrganismos desse lodo eram mais sensíveis às condições operacionais impostas. De acordo com Delforno et al. (2017), o lodo de abatedouro de aves apresenta uma microbiota resistente a alguns antibióticos. Os autores analisaram o perfil de amplo espectro da composição microbiana e diversidade metabólica de um inóculo de reator UASB em larga escala aplicado ao tratamento de águas residuárias de abatedouro de aves e constataram que a comunidade microbiana continha 43 tipos diferentes de genes de resistência a antibióticos, incluindo sulfonamidas, algumas das quais são associadas à promoção do crescimento de galinhas.

## 5.4 Sólidos

A série de sólidos é um importante parâmetro de monitoramento que indica a estabilidade do processo anaeróbio no sistema e a eficácia do leito fixo estruturado em diminuir a lavagem de microrganismo para fora do reator. Os valores de sólidos totais e sólidos suspensos referentes ao efluente estão apresentados na **Figura 18**.

**Figura 18 - Boxplot da concentração de sólidos na operação**



Fonte: Autoria própria.

As concentrações de STF ( $462,6 \pm 8,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $435,7 \pm 32,1 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $398,6 \pm 36,0 \text{ mg.L}^{-1}$  no LA, LC e LM, respectivamente) em todas as amostras coletadas, ao longo da operação dos lodos, foram maiores do que de STV ( $140,9 \pm 42,6 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $130,0 \pm 21,1 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $148,9 \pm 22,6 \text{ mg.L}^{-1}$  no LA, LC e LM, respectivamente). Isso pode estar relacionado aos macronutrientes, em forma de sais, inseridos no substrato sintético que não foram consumidos pelos microrganismos (MOURA, 2011). A **Tabela 7** apresenta todas as médias e desvio padrão da série de sólidos analisados na operação do reator.

**Tabela 7 - Concentrações médias de sólidos no efluente na operação dos diferentes inóculos**

Sólidos	LA (mg.L <sup>-1</sup> )	LC (mg.L <sup>-1</sup> )	LM (mg.L <sup>-1</sup> )
ST	<b>630,4</b> (9,9)	<b>566,4</b> (8,9)	<b>547,4</b> (40,7)
STF	<b>462,6</b> (8,0)	<b>435,7</b> (32,1)	<b>398,6</b> (36,0)
STV	<b>140,9</b> (42,6)	<b>130,0</b> (21,1)	<b>148,9</b> (22,6)
SST	<b>40,8</b> (15,6)	<b>39,6</b> (26,5)	<b>16,3</b> (8,1)
SSF	<b>21,0</b> (12,2)	<b>17,6</b> (13,6)	<b>6,6</b> (6,7)
SSV	<b>21,0</b> (6,8)	<b>22,0</b> (14,5)	<b>8,0</b> (2,5)

Fonte: Autoria própria.

A concentração de biomassa efluente do reator foi medida em forma de SSV. As concentrações de SSV no efluente foram próximas aos encontrados por Carneiro (2019) em ASBBR utilizando lodo de abatedouro de aves (Avícola Dacar S.A) como inóculo e com TDH de 12 h ( $23,0 \pm 13,0$  mg.L<sup>-1</sup> de SST;  $9,0 \pm 10,0$  mg.L<sup>-1</sup> de SSF; e  $14,0 \pm 4,0$  mg.L<sup>-1</sup> de SSV). Os valores baixos de sólidos suspensos voláteis indicam que não houve arraste expressivo de biomassa do sistema no efluente do reator, o que comprova as boas condições do leito fixo com espuma de poliuretano na aderência da biomassa e constituição do biofilme. Outra vantagem desta técnica de imobilização de biomassa para este estudo é que, sua capacidade de manter um alto tempo de retenção de sólidos (como pode ser visto na **Tabela 8**), mesmo quando operados com baixos tempos de detenção hidráulica, aumenta o desempenho e estabilidade do reator, e consequentemente, pode aumentar a resistência a compostos tóxicos e recalcitrantes, bem como o aumento da biodegradação (CARNEIRO et al., 2019; CUEL et al., 1997; MOCKAITIS et al., 2014).

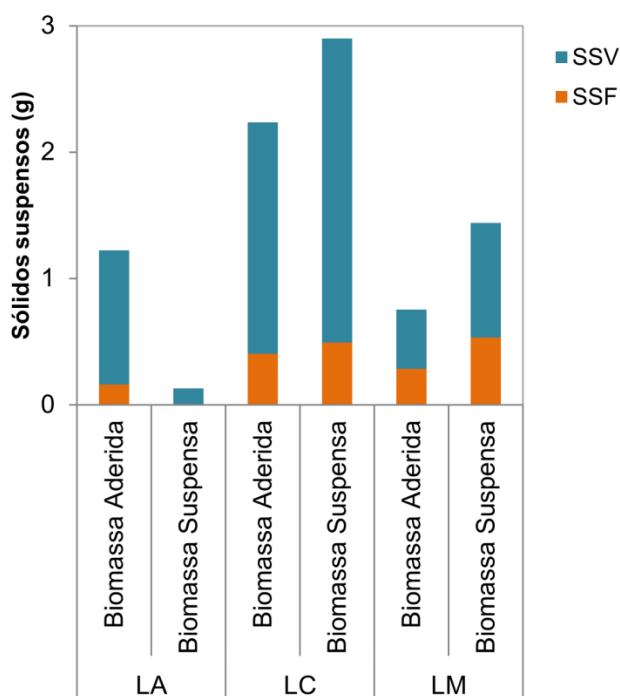
**Tabela 8 - Tempo de retenção celular**

	LA	LC	LM
<b>TRC (d)</b>	15	39	45

Fonte: Autoria própria.

No final da operação de cada inóculo, foi realizada a quantificação da biomassa presente dentro do reator, aderida ao leito reacional e suspensa, como apresentada na **Figura 19**. O inóculo LA apresentou 0,16 gSSF.L<sup>-1</sup> e 1,06 gSSV.L<sup>-1</sup> de sólidos aderidos e 0,00 gSSF.L<sup>-1</sup> e 0,13 gSSV.L<sup>-1</sup> de sólidos em suspensão, totalizando massa de 1,35 gSST.L<sup>-1</sup> no interior do reator. O inóculo LC apresentou 0,40 gSSF.L<sup>-1</sup> e 1,83 gSSV.L<sup>-1</sup> de sólidos aderidos e 0,49 gSSF.L<sup>-1</sup> e 2,41 gSSV.L<sup>-1</sup> de sólidos em suspensão, totalizando massa de 5,13 gSST.L<sup>-1</sup> no interior do reator. Por fim, o LM apresentou 0,28 gSSF.L<sup>-1</sup> e 0,47 gSSV.L<sup>-1</sup> de sólidos aderidos e 0,53 gSSF.L<sup>-1</sup> e 0,91 gSSV.L<sup>-1</sup> de sólidos em suspensão, totalizando massa de 2,19 gSST.L<sup>-1</sup> no interior do reator.

**Figura 19 - Distribuição de SSV e SSF no reator após cada operação**

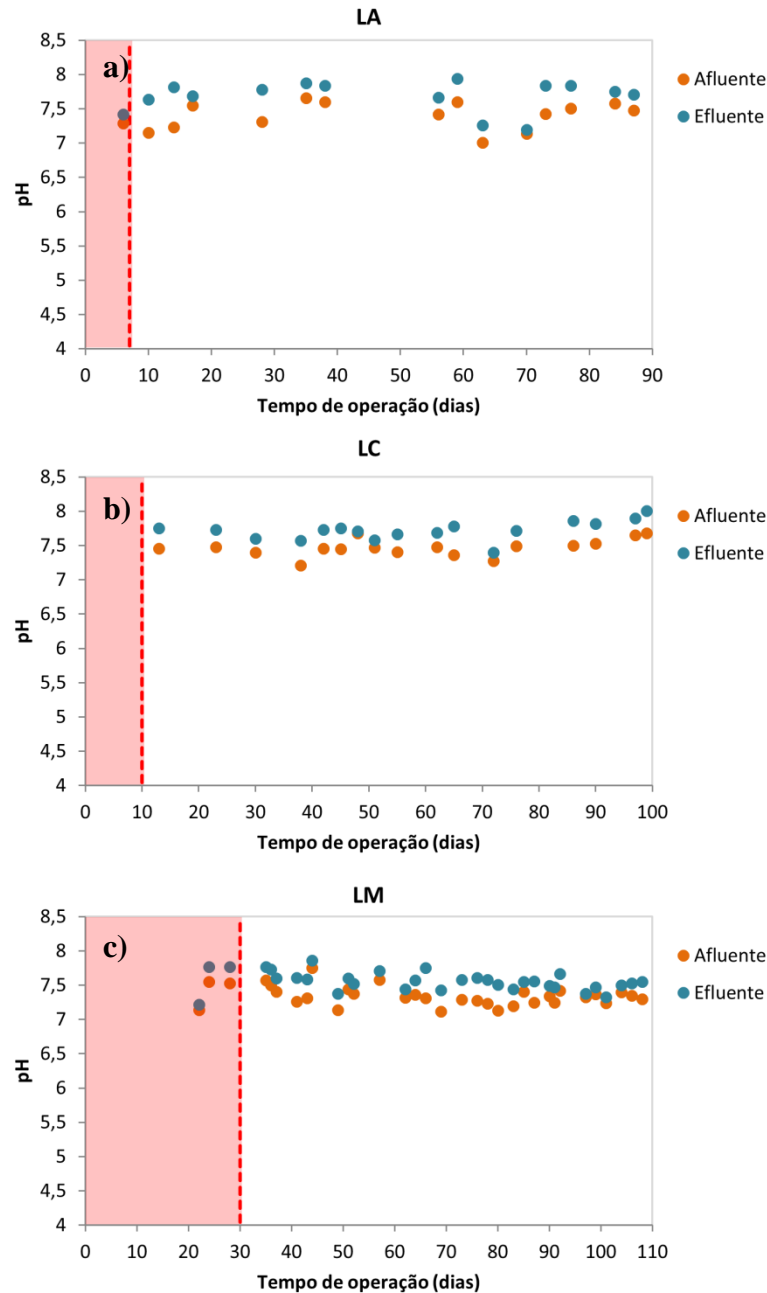


Fonte: Autoria própria.

### 5.5 pH, alcalinidade e ácidos orgânicos

O monitoramento do pH se mostra importante no tratamento de águas residuárias por sistemas biológicos, visto a necessidade de manter o parâmetro o mais próximo possível do valor ótimo para o processo em questão, visando a manutenção da biomassa ativa e o desenvolvimento das reações bioquímicas, especialmente as que abrangem atividade enzimática. A **Figura 20** exhibe a variação do pH ao longo das operações do reator.

**Figura 20 - Variação do pH na operação do LA (a); LC (b) e; inóculo (c). O período em vermelho é o tempo de partida**



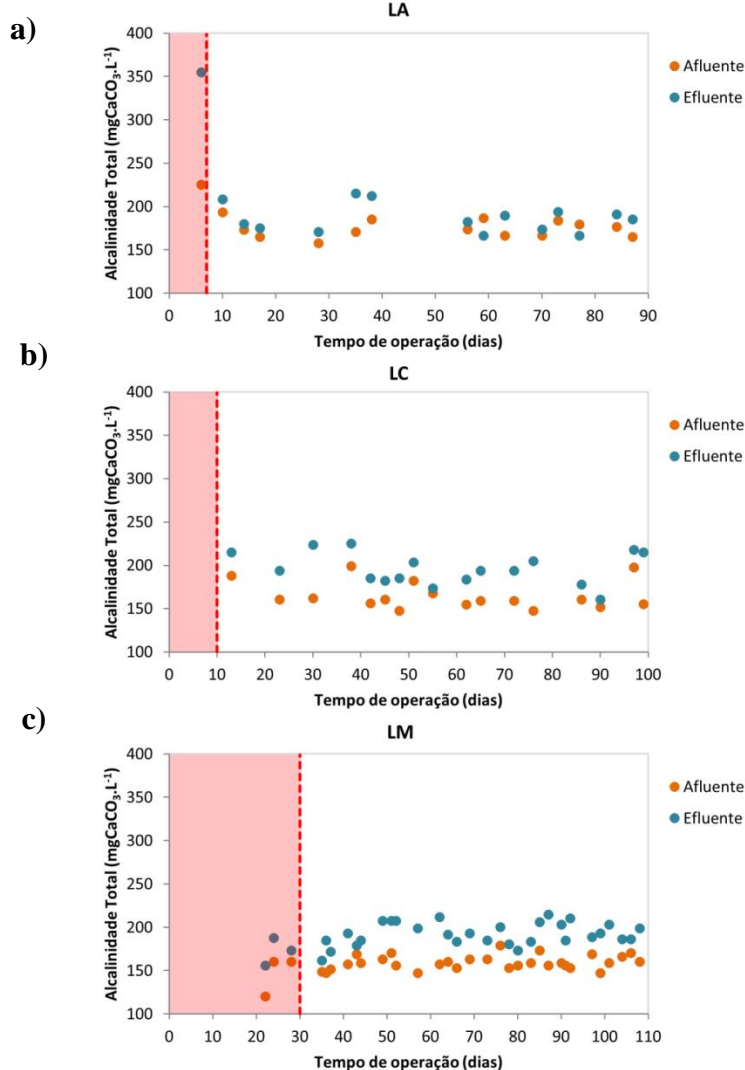
Fonte: Autoria própria.

O pH afluente deve ser mantido preferencialmente na faixa entre 6,50 e 7,50, visto que valores abaixo de 6,2 e acima de 7,8 resultam na diminuição da taxa de metanogênese (HAANDEL, A. C.VAN; LETTINGA, 1994; VON SPERLING, 2005). Como é possível observar na Figura 20, o pH afluente se manteve dentro da faixa de 7,0 a 7,75 nas três operações do reator com os diferentes inóculos. Sendo as médias nos afluentes de  $7,40 \pm 0,19$  com o inóculo LA,  $7,47 \pm 0,13$  com o inóculo LC e  $7,35 \pm 0,14$  com o inóculo LM.

As operações com os diferentes inóculos obtiveram pH efluentes médios de  $7,69 \pm 0,22$  com LA,  $7,72 \pm 0,14$  com LC e  $7,56 \pm 0,14$  com LM. A operação com o inóculo LA apresentou maior variação do pH afluente e efluente. Contudo, todas as fases mantiveram-se dentro da faixa de interesse a maior parte das medições durante a operação.

Com a produção de ácidos orgânicos no reator devido ao processo de digestão anaeróbia, é importante que o meio tenha alcalinidade suficiente para tamponar o meio. Segundo von Sperling (2005), a alcalinidade nos esgotos domésticos mantém-se dentro da faixa de 100 a 250 mg  $\text{CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ . Como pode ser visualizada na **Figura 21**, esta faixa foi atendida nas operações dos três inóculos. Além disso, os valores da alcalinidade aumentaram do afluente para o efluente, e consequentemente os valores de pH aumentaram, sinalizando que houve geração de alcalinidade no reator.

**Figura 21 - Variação da alcalinidade total na operação do LA (a); inóculo LC (b) e; inóculo (c). O período em vermelho é o tempo de partida**



Fonte: Autoria própria.

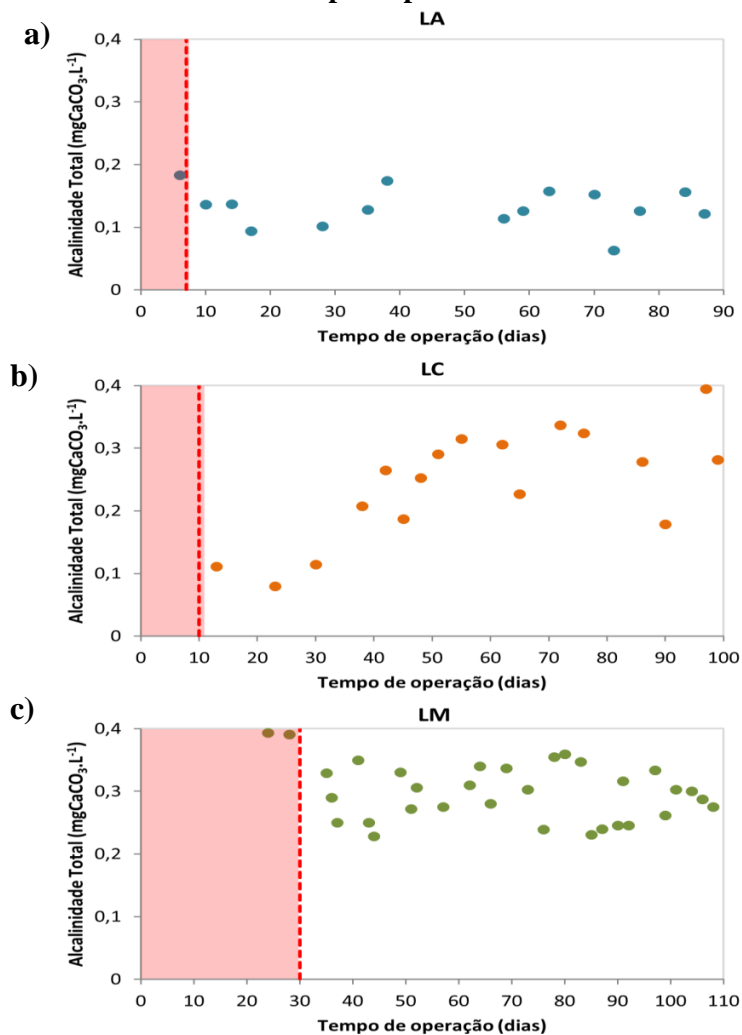


A estabilidade do pH e da alcalinidade ao longo das operações do reator indicam a não ocorrência de distúrbios na digestão anaeróbia e que a rota metabólica permaneceu direcionada para a metanogênese durante todo o período de operação.

Outro parâmetro utilizado para monitorar a estabilidade do sistema foi a relação adimensional de alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial (AI/AP). Segundo Ripley, Boyle e Converse (1986), é importante que este parâmetro se mantenha estável na digestão anaeróbia. Em seus trabalhos, esta relação se manteve abaixo de 0,30.

A **Figura 22** apresenta a variação da relação AI/AP ao longo das operações do reator. Pode-se considerar que o reator teve uma boa operação, mostrando no inóculo LA estabilização na faixa de 0,10 a 0,20, no inóculo LC, na faixa de 0,10 a 0,40 e, por fim, no inóculo LM, faixa de 0,20 a 0,40.

**Figura 22 - Variação da relação AI/AP efluente na operação do LA (a); LC (b) e LM (c). O período em vermelho é o tempo de partida**



Fonte: Autoria própria.

Os AVT são produtos intermediários da digestão anaeróbia e o aumento na sua concentração pode indicar um desequilíbrio na atividade das bactérias acidogênicas e arqueias metanogênicas, e consequentemente, na falência do processo, visto que a inibição do processo anaeróbio por AVT está associada ao pH, pois baixos valores de pH, geralmente, estão relacionados a altas concentrações de AVT (KUS; WIESMANN, 1995; SILVA; NOUR, 2005). Assim, eles se mostram importantes no auxílio da identificação da rota metabólica que ocorre no reator e na garantia que a rota seja a metanogênese, no caso deste estudo (AQUINO; CHERNICHARO, 2005).

A **Tabela 9** apresenta as concentrações médias de ácidos voláteis, no afluente e efluente apresentados em equivalentes de DQO.

**Tabela 9 - Concentrações médias de ácidos voláteis e desvios padrões entre parênteses**

Ácidos	LA		LC		LM	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
Ácido acético (mgO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	<b>30,2</b> (37,5)	<b>2,9</b> (5,5)	<b>11,1</b> (17,6)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>1,6</b> (7,7)	<b>0,0</b> (0,0)
Ácido propiônico (mgO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	<b>5,2</b> (7,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)
Ácido butírico (mgO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	<b>1,4</b> (4,2)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)
Ácido isovalérico (mgO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	<b>0,0</b> (0,0)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>2,7</b> (4,1)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>1,8</b> (4,1)	<b>0,0</b> (0,0)
AVT (mgO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	<b>36,8</b> (46,9)	<b>2,9</b> (5,5)	<b>13,8</b> (21,5)	<b>0,0</b> (0,0)	<b>3,4</b> (9,8)	<b>0,0</b> (0,0)

Pelo método utilizado na análise de ácidos, foram observadas pequenas concentrações ou valores abaixo do limite de detecção e quantificação de ácido acético, propiônico, butírico e isobutírico. Os demais produtos da fermentação englobados pelo método não foram detectados em 100 % das amostras analisadas. Cetecioglu et al. (2015) estudaram o efeito inibitório do SMX nas vias metabólicas por meio de um reator de batelada e observou que nos afluentes contendo até 40 mg.L<sup>-1</sup> de SMX, o acúmulo de ácidos graxos voláteis era mínimo, não sendo detectado no efluente. E com o aumento da concentração de SMX no afluente na ordem de 45 mg.L<sup>-1</sup>, os ácidos propiônico e acético se mostraram presentes, aumentando gradativamente durante a operação do reator nessa condição imposta, na qual chegaram a atingir 50 % da DQO do efluente.

As pequenas concentrações de AVT nos afluentes podem ser justificadas pela fermentação do substrato sintético que pode ter ocorrido antes de sua entrada no reator. Mesmo assim, esse fenômeno não demonstrou ter prejudicado a rota metanogênica do reator e foi total ou parcialmente consumido dentro do reator para os três inóculos.

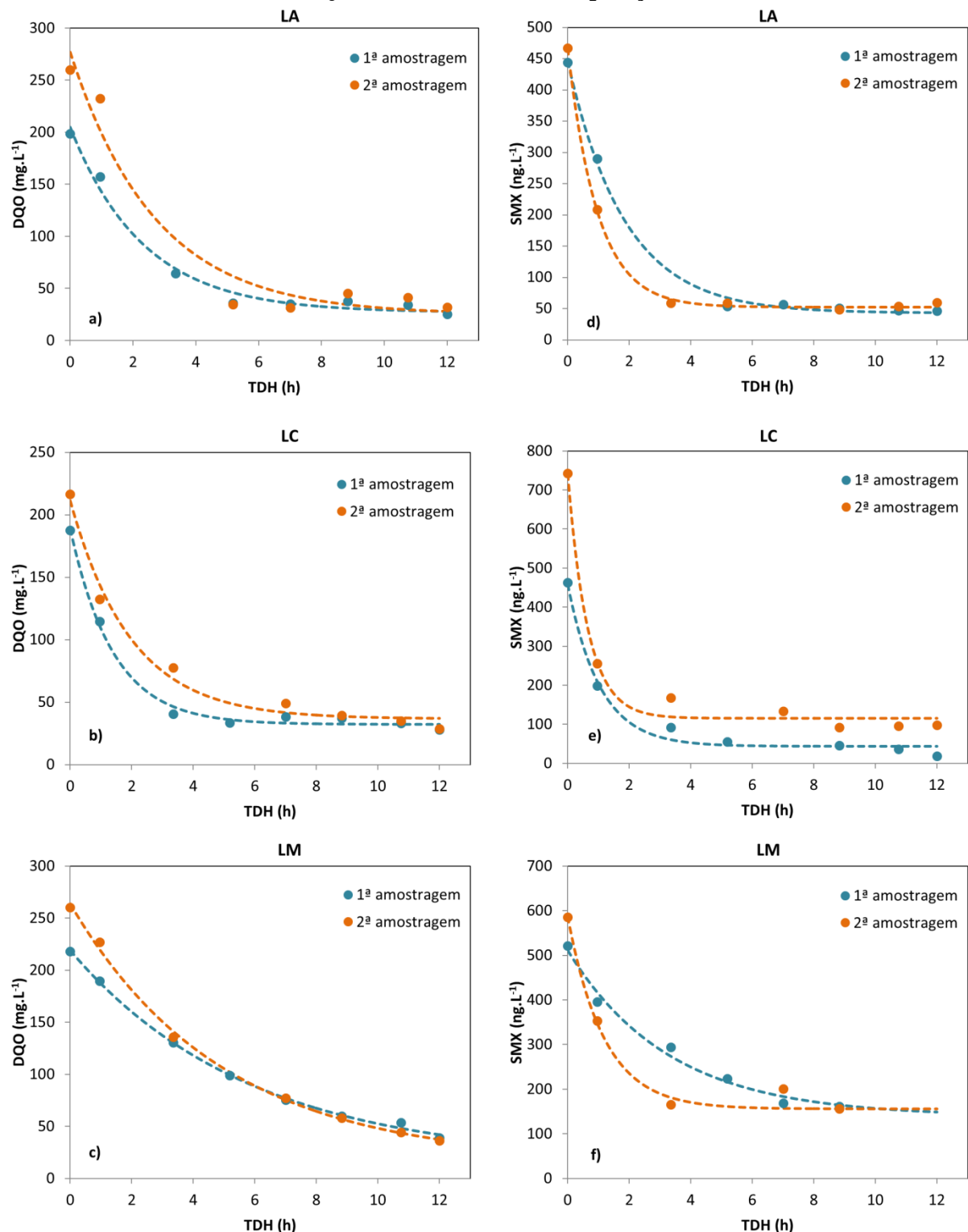
Pode-se concluir pelas médias dos ácidos e com a comparação dos outros resultados (pH, alcalinidade total e AI/AP), que não houve acúmulo de ácidos orgânicos voláteis que fossem prejudiciais aos organismos metanogênicos presentes no reator (MOCKAITIS et al., 2014). E por fim, que a rota metabólica permaneceu direcionada à metanogênese, o que corrobora os altos valores de rendimento de metano no biogás.

## 5.6 Perfis cinéticos de remoção de DQO e SMX

A **Figura 23** apresenta os perfis espaciais de decaimento para remoção de DQO e SMX. O modelo cinético de primeira ordem com residual se ajustou bem aos dados experimentais ( $r^2 \geq 0,94$ ). A degradação da matéria orgânica durante a operação do LA e LC ocorreu principalmente entre o afluente e o quinto ponto de amostragem (TDH de 9 h), indicando um excesso de capacidade do reator inoculado com esses lodos, ou seja, teoricamente, caso houvesse um aumento na taxa de carga orgânica aplicada, a eficiência da remoção da matéria orgânica não seria afetada significativamente. Em relação à degradação do SMX, a operação do LA e LC levou a uma estabilização no perfil cinético a partir do terceiro ponto de amostragem (TDH de 5 h) e a operação LM a partir do quinto ponto (TDH de 9 h). Esse resultado pode indicar que a cinética não é um fator limitante na degradação do SMX.

Ao analisar a concentração de SMX nas amostras de biomassa aderidas ao meio de suporte do leito do reator após cada operação, não foi detectada sua presença. Assim, a remoção do antibiótico foi atribuída inteiramente à biodegradação. Da mesma forma, Oliveira et al. (2017) demonstraram que o mecanismo de sorção não foi significativo para a remoção de sulfametazina (SMZ) em um reator anaeróbio de biomassa imobilizado de fluxo horizontal. Os autores atribuíram esse resultado à concentração de SMZ baixa no fluxo de alimentação ( $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e ao baixo coeficiente de partição das sulfonamidas. Yang et al. (2011), em seu estudo com a tecnologia de lodos ativados, atribuíram a via de biodegradação do SMX nas ETEs principalmente devido à sua natureza de carga negativa e a sua baixa capacidade de sorção em ambiente de pH próximo ao neutro.

**Figura 23 - Perfis cinéticos de remoção da COD e do SMX com pontos amostrais e perfis ajustados de cada fase de operação**



Fonte: Autoria própria.

A **Tabela 10** apresenta os parâmetros de ajuste do modelo cinético obtidos para biodegradação de DQO e SMX. Devido ao fato da operação dos inóculos terem apresentado diferentes massas de biomassa dentro do reator, foram calculadas as constantes cinéticas

específicas (ou seja, por grama de SSV no interior do reator), para cada lodo, para possibilitar uma comparação real da capacidade dos inóculos na biodegradação da DQO e do SMX.

**Tabela 10 - Expressões cinéticas de primeira ordem estimadas para a degradação de COD e SMX. Concentrações ( $C_0$  e  $C_R$ ) em  $\text{mg.L}^{-1}$  para DQO e  $\text{ng.L}^{-1}$  para SMX;  $k_1$  em  $\text{h}^{-1}$ ;  $k_1^*$  em  $\text{h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$**

Parâmetros	1º amostragem					2º amostragem				
	$C_0$	$C_R$	$k_1$	$k_1^*$	$r^2$	$C_0$	$C_R$	$k_1$	$k_1^*$	$r^2$
DQO (LA)	205	27	0,43	0,36	0,982	277	25	0,37	0,31	0,943
DQO (LC)	189	32	0,71	0,17	0,993	211	37	0,51	0,12	0,980
DQO (LM)	219	16	0,17	0,12	0,998	264	16	0,20	0,15	0,997
SMX (LA)	446	43	0,54	0,45	0,997	466	52	1,03	0,86	0,997
SMX (LC)	459	44	0,95	0,22	0,981	741	115	1,53	0,36	0,982
SMX (LM)	511	139	0,30	0,22	0,970	587	156	0,84	0,61	0,973

Fonte: Autoria própria.

A biodegradação da DQO obteve constante cinética de primeira ordem específica de  $0,34 \pm 0,04 \text{ h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$  na operação do reator com o inóculo LA, concentração afluenta ( $C_0$ ) de  $241 \pm 51 \text{ mg.L}^{-1}$  e concentração residual ( $C_R$ ) (máxima obtida no perfil) de  $26 \pm 1 \text{ mg.L}^{-1}$ . Na operação com o inóculo LC, a constante cinética de primeira ordem específica foi de  $0,15 \pm 0,04 \text{ h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$ , com  $C_0$  de  $200 \pm 16 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $C_R$  de  $35 \pm 4 \text{ mg.L}^{-1}$ . E na operação com o inóculo LM, a constante cinética de primeira ordem específica foi de  $0,14 \pm 0,02 \text{ h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$ , com  $C_0$  de  $242 \pm 32 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $C_R$  de  $16 \pm 0 \text{ mg.L}^{-1}$ .

A biodegradação da SMX obteve constante cinética de primeira ordem específica de  $0,66 \pm 0,29 \text{ h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$  na operação do reator com o inóculo LA, concentração afluenta ( $C_0$ ) de  $456 \pm 14 \text{ mg.L}^{-1}$  e concentração residual ( $C_R$ ) (máxima obtida no perfil) de  $48 \pm 6 \text{ mg.L}^{-1}$ . Na operação com o inóculo LC, a constante cinética de primeira ordem específica foi de  $0,29 \pm 0,10 \text{ h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$ , com  $C_0$  de  $600 \pm 199 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $C_R$  de  $80 \pm 50 \text{ mg.L}^{-1}$ . E na operação com o inóculo LM, a constante cinética de primeira ordem específica foi de  $0,42 \pm 0,28 \text{ h}^{-1}.\text{g}^{-1}\text{SSV}$ , com  $C_0$  de  $549 \pm 54 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $C_R$  de  $148 \pm 12 \text{ mg.L}^{-1}$ .

A análise estatística das concentrações de DQO e SMX afluentes (iniciais) dos perfis permitiu concluir que não houve diferença significativa que invalidasse a comparação dos dados. Sendo assim, seguiu-se para a avaliação estatística dos dados cinéticos, que comprovou que há diferença entre as operações dos lodos na remoção do SMX, no qual o inóculo LM apresentou diferença entre os outros dois e a maior concentração residual. Concluiu-se que a

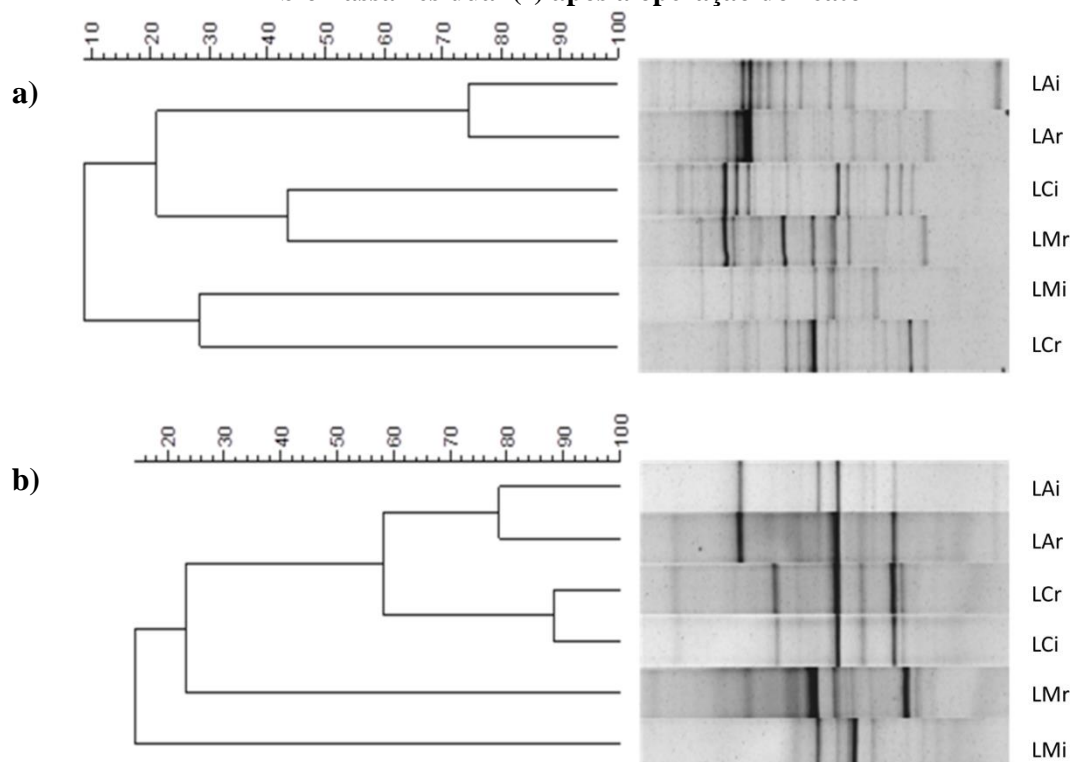
operação inoculada com LA mostrou a cinética mais favorável de biodegradação de DQO e SMX, e a operação com o inóculo LC apresentou a menor  $k_1^*$ .

A cinética da biodegradação indicou um co-metabolismo na biodegradação SMX relacionada à remoção de DQO, uma vez que o decaimento do antibiótico ao longo do comprimento do biorreator seguiu a remoção da matéria orgânica. O mecanismo de biodegradação cometabólica também foi observado por Fischer e Majewsky (2014), que estudaram a remoção de micropoluentes orgânicos no tratamento biológico de águas residuárias, e por Gonzalez-Gil, Carballa e Lema (2017) que investigaram os mecanismos envolvidos na degradação de vários micropoluentes orgânicos, incluindo o SMX.

### 5.7 Análises microbiológicas

Os resultados das análises de DGGE dos fragmentos dos produtos de PCR amplificados com *primers* Domínio *Bacteria* do inóculo (i) e biomassa residual (r) estão apresentados na **Figura 24**. Comparando a comunidade microbiana presente no lodo antes de sua inoculação e após sua operação (lodo residual) por meio da análise de agrupamento do perfil de banda DGGE utilizando o coeficiente de similaridade de Pearson, foram observadas mudanças significativas, visto que a similaridade para o Domínio *Bacteria* foi de 74%, 9% e 9% e para o Domínio *Archaea* foi de 79%, 88% e 14% para as amostras da operação LA, LC e LM, respectivamente. Esses resultados indicam que a comunidade microbiana do abatedouro de aves se adaptou melhor às condições operacionais no reator, considerando os Domínios *Bacteria* e *Archaea*. Isso corrobora com os melhores resultados de remoção de DQO ( $86 \pm 3\%$ ) e SMX ( $91 \pm 6\%$ ). Além disso, o inóculo LM apresentou alterações significativas em sua comunidade microbiana residual (isto é, após a operação do reator) e comprovou ser mais sensível à presença de SMX, indicada pelos índices de similaridade mais baixos para os Domínios *Bacteria* e *Archaea* em comparação com os outros inóculos, o que está de acordo com o valor mais baixo mostrado em termos de remoção de SMX ( $70 \pm 5\%$ ) ao longo da operação do reator.

**Figura 24 - Dendrograma construído com base no coeficiente de similaridade de Pearson a partir do padrão de banda DGGE para os Domínios *Bacteria* (a) e *Archaea* (b) do inóculo (i) e biomassa residual (r) após a operação do reator**



Fonte: Autoria própria.

A **Tabela 11** apresenta os índices ecológicos para os Domínios *Bateria* e *Archaea*. O índice de Shannon refere-se à diversidade ecológica das amostras de biomassa. Os valores para o Domínio *Bateria* diminuíram em todas as amostras de lodo residual em comparação com sua respectiva biomassa de inóculo, enquanto para o Domínio *Archaea* aumentaram em todas as amostras residuais.

Os resultados indicaram o declínio da riqueza e diversidade da comunidade bacteriana com a operação do biorreator nos três lodos inoculados, o que converge com a literatura (DU et al., 2020; LIAO et al., 2016; WANG et al., 2018a). Além disso, observou-se que a seleção da comunidade atinge principalmente as bactérias do que as arqueias das comunidades microbianas dos inóculos (CETECIOGLU; ORHON, 2018).

Esses resultados indicaram que a atividade metanogênica foi favorecida durante a operação do ASBBR, o que corrobora com os valores bastante elevados de produção e rendimento de metano apresentados na **Seção 5.4** deste trabalho. Segundo Briones e Raskin (2003), a diversidade de microrganismos tende a crescer em um ambiente estressante. Os índices de Shannon significativamente mais elevados do Domínio *Bacteria* para LA após a operação do reator em comparação com os outros inóculos indicaram um melhor equilíbrio

entre as bactérias hidrolíticas/fermentativas e as arqueias metanogênicas, o que está de acordo com os melhores resultados em termos de remoção de DQO e SMX, conforme apontado anteriormente.

As mudanças ocorridas nas comunidades microbianas são explicadas pela adaptação às condições operacionais. Mesmo assim, os resultados apontaram que embora as espécies microbianas tenham sido afetadas negativamente, as espécies sobreviventes foram capazes de degradar o substrato.

**Tabela 11 - Índices de alfa-diversidade da caracterização microbiana de inóculos e comunidades residuais no final da operação do reator**

<i>Domínio Bacteria</i>						
<b>Índice</b>	<b>LAi</b>	<b>LCi</b>	<b>LMi</b>	<b>LAr</b>	<b>LCr</b>	<b>LMr</b>
Dominância - D	0,10	0,09	0,11	0,12	0,14	0,12
Diversidade - Simpson	0,90	0,90	0,89	0,88	0,86	0,88
Diversidade - Shannon	2,54	2,65	2,37	2,48	2,32	2,39
Riqueza - Chao-1	17	21	13	19	15	15
<i>Domínio Archaea</i>						
<b>Índice</b>	<b>LAi</b>	<b>LCi</b>	<b>LMi</b>	<b>LAr</b>	<b>LCr</b>	<b>LMr</b>
Dominância - D	0,22	0,23	0,15	0,19	0,19	0,12
Diversidade - Simpson	0,77	0,77	0,84	0,81	0,81	0,88
Diversidade - Shannon	1,72	1,69	2,05	1,83	1,81	2,27
Riqueza - Chao-1	8	8	10	9	8	12

Fonte: Autoria própria.

A análise microscópica do lodo após a operação do biorreator mostrou semelhança de morfologias microbianas nos três lodos inoculados. No Domínio *Archaea*, foram identificados organismos semelhantes às *Methanosaeta* sp. nos inóculos LA e LM, os quais indicam uma via metanogênica, preferencialmente acetoclástica no reator; e presença de organismos semelhantes a *Methanosaeta* sp. e *Methanosarcina* sp. no inóculo da LC, além de bacilos fluorescentes.

As diferenças morfológicas de algumas arqueias metanogênicas, como as *Methanosaeta* sp. e *Methanosarcina* sp. identificadas nas biomassas inoculadas e residuais, podem ser identificadas em amostras naturais por meio da microscopia de contraste de fase e fluorescência, especialmente para *Methanosarcina* sp. (ZINDER, 1993). A *Methanosarcina* sp. apresenta como característica sua disposição cúbica dos cocos, que formam sarcinas, e sua fluorescência natural causada pela presença da coenzima F<sub>420</sub>. Essa coenzima exerce interação com diferentes enzimas na metanogênese, como a hidrogenase e NADP<sup>+</sup>. Além disso, ela



pode agir como doadora de elétrons em etapas da redução do CO<sub>2</sub>. Quando absorve luz em 420 nm, a forma oxidada da coenzima F<sub>420</sub> fluoresce com coloração azulada, podendo ser observada microscopicamente (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 1997).

A *Methanosaeta* sp. é caracterizada por bacilos de extremidade reta que formam filamentos longos e flexíveis. Por apresentarem baixas concentrações da coenzima F<sub>420</sub>, essas arqueias metanogênicas não apresentam auto fluorescência visível sob microscopia com ultravioleta (KONIG, 1992).

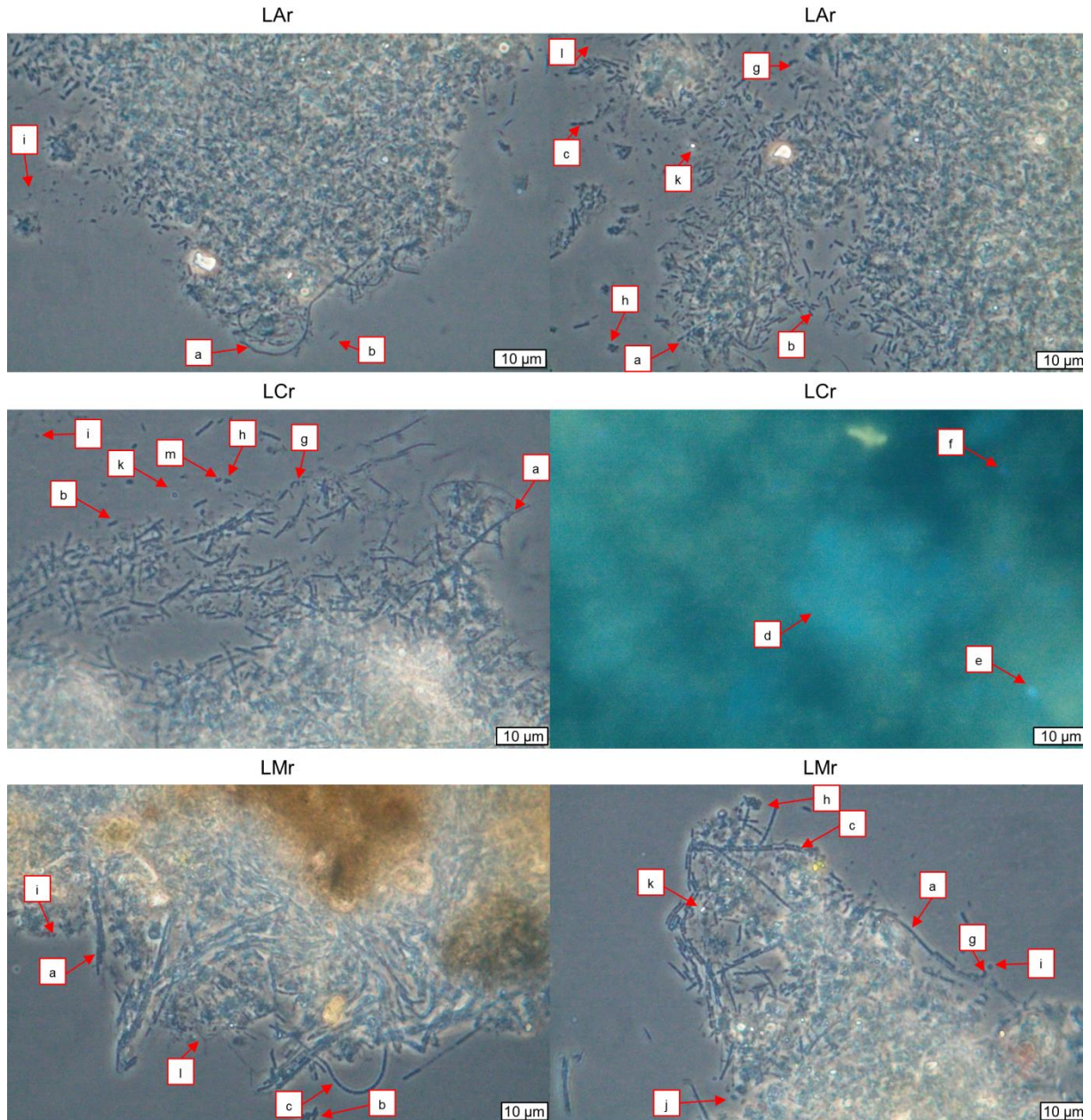
A presumida presença de *Methanosaeta* sp. neste estudo representaria a ocorrência da via metilotrófica de degradação presente no reator. Já a presumida presença de *Methanosarcina* sp. representaria a ocorrência de degradação por via acetoclástica.

As condições operacionais exerceram um efeito de seleção nas comunidades microbianas dos lodos inoculados (ALIGHARDASHI et al., 2009; LOUVET et al., 2010). Segundo Fountoulakis et al. (2004), os metanógenos acetoclásticos são o grupo de microrganismos da digestão anaeróbia.

De acordo com Cetecioglu et al. (2016), microrganismos *metanogênios hidrogenotróficos* apresentam-se mais dominantes e ativos durante a operação do reator anaeróbio. Enquanto microrganismos acetoclásticos diminuem drasticamente ao longo da operação do reator (CETECIOGLU et al., 2013; SHIN et al., 2010). Sendo assim, pode-se reafirmar que as condições operacionais pelo qual os inóculos foram expostos causaram pequenas alterações nas comunidades microbianas (conforme observado pelos índices ecológicos), entretanto não foram suficientes para causar efeitos crônicos nesses microrganismos e inibir sua atividade. Além disso, os resultados indicaram que diferentes populações microbianas podem desempenhar o mesmo papel funcional e metabólico na biodegradação anaeróbia cometabólica de SMX no reator.

O Domínio *Bacteria* foi representado pela presença de bacilos, cocos, coco-bacilos, estreptobacilos e estafilococos nos lodos operados. A **Figura 25** apresenta as diferentes morfologias encontradas nos lodos inoculados e nas biomassas residuais.

**Figura 25 - Morfologias identificadas na microscopia de contraste de fase e fluorescência para as biomassas residuais do reator. Organismos semelhantes a *Methanosaeta* (a); bacilos (b); estreptobacilos (c); *Methanosarcina* (fluorescente) (d); bacilos fluorescentes (e); cocos fluorescentes (f); vibrios (g); estafilococos (h); cocos (i); diplococos (j); esporos ou células em processo de esporulação (k); espiroquetas (l) e; cocobacilos (m)**



Fonte: Autoria própria.

## 6 CONCLUSÕES

O estudo mostrou que a fonte de inóculo pode desempenhar um papel importante na biodegradação do antibiótico sulfametoxazol durante a digestão anaeróbia.

O reator anaeróbio de leito fixo estruturado com espuma de poliuretano como material suporte se adaptou bem às condições impostas (carga orgânica média de 0,410 gDQO.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e TDH de 12 horas) e com a adição de SMX. A operação com o inóculo LA alcançou melhor desempenho na remoção do SMX, com média de eficiência de 91 ± 6 %. Enquanto a operação com o inóculo LC removeu 84 ± 6 % e, o inóculo LM não alcançou esses desempenhos, removendo apenas 70 ± 5 %.

As operações dos três inóculos obtiveram boa eficiência média na remoção da matéria orgânica, com eficiências de 86 ± 3 %, 84 ± 4 % e 84 ± 5 % com os inóculos LA, LC e LM, respectivamente. A composição de metano no biogás se manteve acima de 90 % durante toda a operação do reator para os diferentes inóculos estudados e apresentou alta produção de metano (rendimento específico de metano acima de 276 mLCH<sub>4</sub>.g<sup>-1</sup>DQOremovida).

A remoção do antibiótico foi inteiramente devido à biodegradação, que ocorreu de forma co-metabólica com o decaimento de DQO. A operação com o inóculo LA obteve cinética de biodegradação de DQO e SMX mais favorável, com constantes cinéticas de primeira ordem específicas para DQO e SMX de 0,34 ± 0,04 h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>SSV e 0,66 ± 0,29 h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>SSV, respectivamente.

Considerando a análise de biologia molecular, o inóculo LM foi o mais sensível às condições operacionais impostas nos Domínios *Bacteria* e *Archaea*. O Domínio *Bacteria* sofreu maior seleção de sua comunidade e a atividade metanogênicas, pelo Domínio *Archaea*, foi favorecida durante a operação do reator com os inóculos.

Os inóculos LA e LM apresentaram organismos semelhantes às *Methanosaeta sp.*, os quais indicam uma via metanogênica, preferencialmente acetoclástica no reator; e organismos semelhantes às *Methanosaeta sp.* e *Methanosarcina sp.* no inóculo da LC, além de bacilos fluorescentes.

O estabelecimento de comunidades microbianas funcionalmente semelhantes na operação do reator com os diferentes inóculos apresentaram diferentes capacidades de biotransformação de SMX.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABEGGLEN, Christian; JOSS, Adriano; MCARDELL, Christa S.; FINK, Guido; SCHLÜSENER, Michael P.; TERNES, Thomas A.; SIEGRIST, Hansruedi. The fate of selected micropollutants in a single-house MBR. **Water Research**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1016/j.watres.2009.02.005.
- ADORNO, Maria; HIRASAWA, Julia; VARESCHE, M. Development and validation of two methods to quantify volatile acids. **American Journal of Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 5, n. May, p. 406–414, 2014. DOI: 10.4236/ajac.2014.57049.
- ALIGHARDASHI, A.; PANDOLFI, D.; POTIER, O.; PONS, M. N. Acute sensitivity of activated sludge bacteria to erythromycin. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.07.051.
- ALVARINO, T.; NASTOLD, P.; SUAREZ, S.; OMIL, F.; CORVINI, P. F. X.; BOUJU, H. Role of biotransformation, sorption and mineralization of <sup>14</sup>C-labelled sulfamethoxazole under different redox conditions. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 542, p. 706–715, 2016. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.10.140. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.140>.
- ALVARINO, T.; SUAREZ, S.; LEMA, J. M.; OMIL, F. Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 278, p. 506–513, 2014. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.031.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater. **American Journal of Public Health and the Nations Health**, Washington, DC, USA, v. 51, n. 6, p. 940–940, 2005. DOI: 10.2105/AJPH.51.6.940-a. Disponível em: <http://ajph.aphapublications.org/doi/10.2105/AJPH.51.6.940-a>.
- APPELS, Lise; LAUWERS, Joost; DEGRVE, Jan; HELSEN, Lieve; LIEVENS, Bart; WILLEMS, Kris; VAN IMPE, Jan; DEWIL, Raf. **Anaerobic digestion in global bio-energy production: Potential and research challenges** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2011. DOI: 10.1016/j.rser.2011.07.121.
- AQUINO, Sérgio F. De; CHERNICHARO, Carlos A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 152–161, 2005. DOI: 10.1590/s1413-41522005000200009.
- AQUINO, Sérgio Francisco; BRANDT, Emanuel Manfred Freire; CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: Revisão da literatura. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1590/S1413-41522013000300002.
- ARCO, C. Metabolismo de los fármacos. **Biblioteca Universia**, [S. l.], 2005. Disponível em: [http://dspace.universia.net/bitstream/2024/480/4/CAP+5+\(73-85\).PDF](http://dspace.universia.net/bitstream/2024/480/4/CAP+5+(73-85).PDF).
- AYDIN, Sevcan; INCE, Bahar; CETECIOGLU, Zeynep; ARIKAN, Osman; OZBAYRAM, E. Gozde; SHAHI, Aiyoub; INCE, Orhan. Combined effect of erythromycin, tetracycline and sulfamethoxazole on performance of anaerobic sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2015. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.03.043.
- AYDIN, Sevcan; INCE, Bahar; INCE, Orhan. Assessment of anaerobic bacterial diversity and its effects on anaerobic system stability and the occurrence of antibiotic resistance genes. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 207, p. 332–338, 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.01.080. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.080>.
- AYMERICH, I. et al. Attenuation of pharmaceuticals and their transformation products in a wastewater treatment plant and its receiving river ecosystem. **Water Research**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1016/j.watres.2016.04.022.
- BATT, Angela L.; KINCAID, Thomas M.; KOSTICH, Mitchell S.; LAZORCHAK, James M.; OLSEN, Anthony R. Evaluating the extent of pharmaceuticals in surface waters of the United States using a National-scale Rivers and Streams Assessment survey. **Environmental Toxicology**

- and Chemistry, [S. l.], 2016. DOI: 10.1002/etc.3161.
- BEKÇI, Zehra; SEKI, Yoldaş; YURDAKOÇ, M. Kadir. Equilibrium studies for trimethoprim adsorption on montmorillonite KSF. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 133, n. 1–3, p. 233–242, 2006. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.10.029.
- BENDZ, David; PAXÉUS, Nicklas A.; GINN, Timothy R.; LOGE, Frank J. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2005. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.03.012.
- BERRY, D. F.; FRANCIS, A. J.; BOLLAG, J. M. **Microbial metabolism of homocyclic and heterocyclic aromatic compounds under anaerobic conditions** *Microbiological Reviews*, 1987. DOI: 10.1128/mmbr.51.1.43-59.1987.
- BIROŠOVÁ, Lucia; MACKULAK, Tomáš; BODÍK, Igor; RYBA, Jozef; ŠKUBÁK, Jaroslav; GRABIC, Roman. Pilot study of seasonal occurrence and distribution of antibiotics and drug resistant bacteria in wastewater treatment plants in Slovakia. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.05.030.
- BORJA, Josephine; TALEON, Donna Marie; AURESENIA, Joseph; GALLARDO, Susan. **Polychlorinated biphenyls and their biodegradation** *Process Biochemistry*, 2005. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.08.006.
- BORZACCONI, L.; LÓPEZ, I.; VIÑAS, M. Application of anaerobic digestion to the treatment of agroindustrial effluents in Latin America. **Water Science and Technology**, [S. l.], 1995. DOI: 10.1016/0273-1223(96)00144-8.
- BRANDT, E. M. F. Avaliação da remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em sistemas simplificados de tratamento de esgoto (reatores uasb seguidos de pós-tratamento). **Dissertação de Mestrado em Saneamento do Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais**, [S. l.], 2012.
- BRIONES, Aurelio; RASKIN, Lutgarde. Diversity and dynamics of microbial communities in engineered environments and their implications for process stability. **Current Opinion in Biotechnology**, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 270–276, 2003. DOI: 10.1016/S0958-1669(03)00065-X. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095816690300065X>.
- BROWN, Kathryn D.; KULIS, Jerzy; THOMSON, Bruce; CHAPMAN, Timothy H.; MAWHINNEY, Douglas B. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2006. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.10.007.
- CAHILL, Jeffery D.; FURLONG, Edward T.; BURKHARDT, Mark R.; KOLPIN, Dana; ANDERSON, Larry G. Determination of pharmaceutical compounds in surface- and ground-water samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], 2004. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.04.005.
- CAMARGO, E. F. M.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; BORZANI, W. Treatment of low-strength wastewater using immobilized biomass in a sequencing batch external loop reactor: Influence of the medium superficial velocity on the stability and performance. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 267–275, 2002. DOI: 10.1590/S0104-66322002000300001.
- CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; LLOMPART, M.; GARCÍA, C.; RODRIGUEZ, I.; GÓMEZ, M.; TERNES, T. Behaviour of pharmaceuticals and personal care products in a sewage treatment plant of northwest Spain. **Water Science and Technology**, [S. l.], 2005. DOI: 10.2166/wst.2005.0218.
- CARBALLA, Marta; FINK, Guido; OMIL, Francisco; LEMA, Juan M.; TERNES, Thomas. Determination of the solid-water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals, estrogens and musk fragrances in digested sludge. **Water Research**, [S. l.], 2008. DOI: 10.1016/j.watres.2007.07.012.

- CARBALLA, Marta; OMIL, Francisco; LEMA, Juan M. Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment. **Water Research**, [S. l.], 2005. DOI: 10.1016/j.watres.2005.09.018.
- CARNEIRO, R. B. Avaliação do desempenho de biorreatores anaeróbios de leito fixo ordenado e empacotado para remoção dos antibióticos sulfametoxazol e ciprofloxacina. [S. l.], 2019.
- CARNEIRO, Rodrigo B.; GONZALEZ-GIL, Lorena; LONDOÑO, Yudy Andrea; ZAIAT, Marcelo; CARBALLA, Marta; LEMA, Juan M. Acidogenesis is a key step in the anaerobic biotransformation of organic micropollutants. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 389, n. 16, 2020. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.121888.
- CARNEIRO, Rodrigo B.; SABATINI, Carolina A.; SANTOS-NETO, Álvaro J.; ZAIAT, Marcelo. Feasibility of anaerobic packed and structured-bed reactors for sulfamethoxazole and ciprofloxacin removal from domestic sewage. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 678, p. 419–429, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.04.437.
- CASTIGLIONI, Sara; BAGNATI, Renzo; CALAMARI, Davide; FANELLI, Roberto; ZUCCATO, Ettore. A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], 2005. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.07.012.
- CERRETA, Giusy; ROCCAMANTE, Melina A.; PLAZA-BOLAÑOS, Patricia; OLLER, Isabel; AGUERA, Ana; MALATO, Sixto; RIZZO, Luigi. Advanced treatment of urban wastewater by UV-C/free chlorine process: Micro-pollutants removal and effect of UV-C radiation on trihalomethanes formation. **Water Research**, [S. l.], v. 169, 2020. DOI: 10.1016/j.watres.2019.115220.
- CETECIOGLU, Z.; INCE, B.; GROS, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D.; ORHON, D.; INCE, O. Chronic impact of tetracycline on the biodegradation of an organic substrate mixture under anaerobic conditions. **Water Research**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1016/j.watres.2013.02.053.
- CETECIOGLU, Z.; INCE, B.; ORHON, D.; INCE, O. Anaerobic sulfamethoxazole degradation is driven by homoacetogenesis coupled with hydrogenotrophic methanogenesis. **Water Research**, [S. l.], v. 90, p. 79–89, 2016. DOI: 10.1016/j.watres.2015.12.013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.12.013>.
- CETECIOGLU, Z.; ORHON, D. How do sulfamethoxazole and tetracycline affect the utilization of short chain fatty acids under anaerobic conditions? **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1305–1313, 2018. DOI: 10.1016/j.jece.2018.01.056. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.01.056>.
- CETECIOGLU, Zeynep; INCE, Bahar; GROS, Meritxell; RODRIGUEZ-MOZAZ, Sara; BARCELÓ, Damia; INCE, Orhan; ORHON, Derin. Biodegradation and reversible inhibitory impact of sulfamethoxazole on the utilization of volatile fatty acids during anaerobic treatment of pharmaceutical industry wastewater. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 536, p. 667–674, 2015. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.07.139. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.139>.
- CETECIOGLU, Zeynep; ORHON, Derin. Acute and Chronic Effects of Antibiotics on Deterioration of Anaerobic Substrate Utilization. **Current Organic Chemistry**, [S. l.], 2017. DOI: 10.2174/1385272821666170117095645.
- CHATILA, Sami; AMPARO, Maura R.; CARVALHO, Lucas S.; PENTEADO, Eduardo D.; TOMITA, Inês N.; SANTOS-NETO, Álvaro J.; GOMES, Paulo C. F. Lima. Sulfamethoxazole and ciprofloxacin removal using a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor. [S. l.], v. 3330, 2016. DOI: 10.1080/09593330.2015.1088072.
- CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias - Reatores Anaeróbios**. Vol 5 ed. Belo Horizonte: DESA/UFGM, 1997.
- CHERNICHARO, C. A. L.; BORGES, J. M. Metodologia utilizada durante a partida de um reator



- UASB de 477m<sup>3</sup> tratando esgotos tipicamente domésticos. *In: ANAIS DO XXV CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL 1996*, Mexico. **Anais [...]**. Mexico: AIDIS, 1996. p. 655–661.
- CHERNICHARO, C. A. L.; VAN LIER, J. B.; NOYOLA, A.; BRESSANI RIBEIRO, T. **Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges***Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2015. DOI: 10.1007/s11157-015-9377-3.
- CHOI, Keun Joo; KIM, Sang Goo; KIM, Chang won; KIM, Seung Hyun. Determination of antibiotic compounds in water by on-line SPE-LC/MSD. **Chemosphere**, [S. l.], v. 66, n. 6, p. 977–984, 2007. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.07.037.
- CHOUBERT, J. M.; RIBEIRO, L.; EUSE, M.; COQUERY, M.; MIE, C. Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants – Conception of a database and first results. [S. l.], v. 157, p. 1721–1726, 2009. DOI: 10.1016/j.envpol.2008.11.045.
- CHRISTIAN, Thorsten; SCHNEIDER, Rudolf J.; FÄRBER, Harald A.; SKUTLAREK, Dirk; MEYER, Michael T.; GOLDBACH, Heiner E. Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, [S. l.], 2003. DOI: 10.1002/ahch.200390014.
- CIRJA, Magdalena; IVASHECHKIN, Pavel; SCHÄFFER, Andreas; CORVINI, Philippe F. X. **Factors affecting the removal of organic micropollutants from wastewater in conventional treatment plants (CTP) and membrane bioreactors (MBR)***Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2008. DOI: 10.1007/s11157-007-9121-8.
- CLARA, M.; STRENN, B.; AUSSERLEITNER, M.; KREUZINGER, N. Comparison of the behaviour of selected micropollutants in a membrane bioreactor and a conventional wastewater treatment plant. **Water Science and Technology**, [S. l.], 2004. DOI: 10.2166/wst.2004.0305.
- CLARA, M.; STRENN, B.; GANS, O.; MARTINEZ, E.; KREUZINGER, N.; KROISS, H. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. [S. l.], v. 39, p. 4797–4807, 2005. DOI: 10.1016/j.watres.2005.09.015.
- CLEUVERS, Michael. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 59, n. 3, p. 309–315, 2004. DOI: 10.1016/S0147-6513(03)00141-6.
- COLLADO, N.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; GROS, M.; RUBIROLA, A.; BARCELÓ, D.; COMAS, J.; RODRIGUEZ-RODA, I.; BUTTIGLIERI, G. Pharmaceuticals occurrence in a WWTP with significant industrial contribution and its input into the river system. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 185, p. 202–212, 2014. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.10.040. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.040>.
- COSTANZO, Simon D.; MURBY, John; BATES, John. Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment. *In: MARINE POLLUTION BULLETIN 2005*, **Anais [...]**. [s.l.: s.n.] DOI: 10.1016/j.marpolbul.2004.10.038.
- CUEL, Maressa Fabiano; KWONG, Wu Hong; ZAIAT, Marcelo; FORESTI, Eugenio. Solution of a heterogeneous modeling of a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor by the sequencing method. [S. l.], 1997. DOI: 10.1139/L11-014.
- CUEL, Maressa Fabiano; KWONG, Wu Hong; ZAIAT, Marcelo; FORESTI, Eugenio. Solution of a heterogeneous modeling of a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor by the sequencing method. **Canadian Journal of Civil Engineering**, [S. l.], 2011. DOI: 10.1139/111-014.
- DANNER, Marie-Claire; ROBERTSON, Anne; BEHRENDTS, Volker; REISS, Julia. Antibiotic pollution in surface fresh waters: Occurrence and effects. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 664, p. 793–804, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.01.406. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.406>.

- DAUGHTON, Christian G.; TERNES, Thomas A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? **Environmental Health Perspectives**, [S. l.], v. 107, n. SUPPL. 6, p. 907–938, 1999. DOI: 10.1289/ehp.99107s6907.
- DAWAS-MASSALHA, Anwar; GUR-REZNIK, Shirra; LERMAN, Sofia; SABBAH, Isam; DOSORETZ, Carlos G. Co-metabolic oxidation of pharmaceutical compounds by a nitrifying bacterial enrichment. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.06.003.
- DELFORNO, T. P.; JÚNIOR, G. V. L.; NORONHA, M. F.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A.; OLIVEIRA, V. M. Microbial diversity of a full- scale UASB reactor applied to poultry slaughterhouse wastewater treatment: integration of 16S rRNA gene amplicon and shotgun metagenomic sequencing. [S. l.], n. December 2016, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1002/mbo3.443.
- DEMIREL, Burak; SCHERER, Paul. **The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review** **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, 2008. DOI: 10.1007/s11157-008-9131-1.
- DEMIREL, Burak; YENIGUN, Orhan; ONAY, Turgut T. **Anaerobic treatment of dairy wastewaters: A review** **Process Biochemistry**, 2005. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.12.015.
- DENG, Yu; MAO, Yanping; LI, Bing; YANG, Chao; ZHANG, Tong. Aerobic degradation of sulfadiazine by arthrobacter spp.: Kinetics, pathways, and genomic characterization. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1021/acs.est.6b02231.
- DÍAZ, Emiliano E.; STAMS, Alfons J. M.; AMILS, Ricardo; SANZ, José L. Phenotypic properties and microbial diversity of methanogenic granules from a full-scale upflow anaerobic sludge bed reactor treating brewery wastewater. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], 2006. DOI: 10.1128/AEM.02985-05.
- DOMINGUES, Alberto; CAMILOTI, Priscila Rosseto; MOCKAITIS, Gustavo; RISSATO, Helena; DAMIANOVIC, Zamariolli; ZAIAT, Marcelo. Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed ( ABFSB ) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. [S. l.], n. October 2013, p. 1044–1050, 2014. DOI: 10.1002/jctb.4199.
- DRILLIA, P.; DOKIANAKIS, S. N.; FOUNTOULAKIS, M. S.; KORNAOS, M.; STAMATELATOU, K.; LYBERATOS, G. On the occasional biodegradation of pharmaceuticals in the activated sludge process: The example of the antibiotic sulfamethoxazole. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2005. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.03.009.
- DU, Juan; FAN, Yu; QIAN, Xin. Occurrence and behavior of pharmaceuticals in sewage treatment plants in eastern China. **Frontiers of Environmental Science and Engineering**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 725–730, 2015. DOI: 10.1007/s11783-014-0661-1.
- DU, Li; XU, Weihua; LIU, Yunguo; LI, Xin; HUANG, Danlian; WU, Shaohua. Removal of Sulfamethoxazole in Aqueous Solutions by Iron-Based Advanced Oxidation Processes: Performances and Mechanisms. **Water, Air, & Soil Pollution**, [S. l.], v. 231, n. 4, 2020. DOI: 10.1007/s11270-020-04534-w.
- DUTTA, Kasturi; LEE, Ming Yi; LAI, Webber Wei Po; LEE, Chien Hsien; LIN, Angela Yu Chen; LIN, Cheng Fang; LIN, Jih Gaw. Removal of pharmaceuticals and organic matter from municipal wastewater using two-stage anaerobic fluidized membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.03.054.
- ESCUDIE, Renaud; CRESSON, Romain; DELGENÈS, Jean Philippe; BERNET, Nicolas. Control of start-up and operation of anaerobic biofilm reactors: An overview of 15 years of research. **Water Research**, [S. l.], v. 45, n. 1, p. 1–10, 2011. DOI: 10.1016/j.watres.2010.07.081.
- FALÁS, Per; WICK, Arne; CASTRONOVO, Sandro; HABERMACHER, Jonathan; TERNES, Thomas A.; JOSS, Adriano. Tracing the limits of organic micropollutant removal in biological wastewater treatment. **Water Research**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1016/j.watres.2016.03.009.
- FARRÉ, Marinel La; PÉREZ, Sandra; KANTIANI, Lina; BARCELÓ, Damià. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment.



- TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], 2008. DOI: 10.1016/j.trac.2008.09.010.
- FERNANDEZ-FONTAINA, E.; GOMES, I. B.; AGA, D. S.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; CARBALLA, M. Biotransformation of pharmaceuticals under nitrification, nitrataion and heterotrophic conditions. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.10.010.
- FISCHER, Klaus; MAJEWSKY, Marius. **Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms** *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014. DOI: 10.1007/s00253-014-5826-0.
- FOUNTOULAKIS, M.; DRILLIA, P.; STAMATELATOU, K.; LYBERATOS, G. Toxic effect of pharmaceuticals on methanogenesis. **Water Science and Technology**, [S. l.], v. 50, n. 5, p. 335–340, 2004. DOI: 10.2166/wst.2004.0346. Disponível em: <https://iwaponline.com/wst/article/50/5/335/11406/Toxic-effect-of-pharmaceuticals-on-methanogenesis>.
- GAO, Jie; HUANG, Jun; CHEN, Weiwei; WANG, Bin; WANG, Yujue; DENG, Shubo; YU, Gang. Fate and removal of typical pharmaceutical and personal care products in a wastewater treatment plant from Beijing: a mass balance study. **Frontiers of Environmental Science and Engineering**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 491–501, 2016. DOI: 10.1007/s11783-016-0837-y.
- GARRISON, A. W.; POPE, J. D.; ALLEN, F. R. GC/MS analysis of organic compounds in domestic wastewaters. In: **Identification and Analysis of Organic Pollutants in Water**. [s.l.: s.n.].
- GARTISER, Stefan; URICH, Elke; ALEXY, Radka; KÜMMERER, Klaus. Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes. **Chemosphere**, [S. l.], 2007. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.08.040.
- GEBHARDT, Wilhelm; SCHRÖDER, Horst Fr. Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry for the follow-up of the elimination of persistent pharmaceuticals during wastewater treatment applying biological wastewater treatment and advanced oxidation. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], 2007. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.05.075.
- GÖBEL, Anke; MCARDELL, Christa S.; JOSS, Adriano; SIEGRIST, Hansruedi; GIGER, Walter. Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 372, n. 2–3, p. 361–371, 2007. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.07.039.
- GÖBEL, Anke; THOMSEN, Angela; MCARDELL, Christa S.; JOSS, Adriano; GIGER, Walter. Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 39, n. 11, p. 3981–3989, 2005. DOI: 10.1021/es048550a.
- GONZALEZ-GIL, Lorena; CARBALLA, Marta; LEMA, Juan M. Cometabolic Enzymatic Transformation of Organic Micropollutants under Methanogenic Conditions. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2017. a. DOI: 10.1021/acs.est.6b05549.
- GONZALEZ-GIL, Lorena; CARBALLA, Marta; LEMA, Juan M. Cometabolic Enzymatic Transformation of Organic Micropollutants under Methanogenic Conditions. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 51, n. 5, p. 2963–2971, 2017. b. DOI: 10.1021/acs.est.6b05549.
- GONZÁLEZ, Susana; BARCELÓ, Damià; PETROVIC, Mira. Advanced liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) methods applied to wastewater removal and the fate of surfactants in the environment. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], 2007. DOI: 10.1016/j.trac.2006.12.003.
- GROS, Meritxell; PETROVIĆ, Mira; BARCELÓ, Damià. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. **Talanta**, [S. l.], 2006. DOI: 10.1016/j.talanta.2006.05.024.

- GUIMARÃES, Denise Oliveira; DA SILVA MOMESSO, Luciano; PUPO, Mônica Tallarico. **Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes** *Química Nova*, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000300035.
- GULKOWSKA, A. et al. Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China. **Water Research**, [S. l.], 2008. DOI: 10.1016/j.watres.2007.07.031.
- HAANDEL, A. C.VAN; LETTINGA, G. Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate. *In: Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate*. [s.l: s.n.].
- HALLING-SØRENSEN, B.; NORS NIELSEN, S.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; HOLTEN LÜTZHØFT, H. C.; JØRGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. **Chemosphere**, [S. l.], 1998. DOI: 10.1016/S0045-6535(97)00354-8.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. **PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis**, 2001. DOI: palaeo-electronica.org/2001\_1/past/issue1\_01.htm.
- HARITASH, A. K.; KAUSHIK, C. P. **Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review** *Journal of Hazardous Materials*, 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.03.137.
- HARTIG, C.; STORM, T.; JEKEL, M. Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal waste water by liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *In: JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A* 1999, **Anais** [...]. [s.l: s.n.] DOI: 10.1016/S0021-9673(99)00378-7.
- HAYASE, Yoshio; OZAKI, Mamoru; KOBAYASHI, Shinobu; TAKEUCHI, Yasuyoshi. Reductive Cleavage of the Isoxazole Ring under Soil Percolation. **Journal of Pesticide Science**, [S. l.], 1982. DOI: 10.1584/jpestics.7.401.
- HEBERER, Thomas. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data. **Toxicology Letters**, [S. l.], 2002. DOI: 10.1016/S0378-4274(02)00041-3.
- HICKEY, R. F.; WU, W. M.; VEIGA, M. C.; JONES, R. Start-up, operation, monitoring and control of high-rate anaerobic treatment systems. *In: WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY* 1991, **Anais** [...]. [s.l: s.n.] DOI: 10.2166/wst.1991.0226.
- HIRSCH, Roman; TERNES, Thomas; HABERER, Klaus; KRATZ, Karl Ludwig. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 1999. DOI: 10.1016/S0048-9697(98)00337-4.
- HÖRSING, Maritha; LEDIN, Anna; GRABIC, Roman; FICK, Jerker; TYSKLIND, Mats; JANSEN, Jes la Cour; ANDERSEN, Henrik R. Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge. **Water Research**, [S. l.], 2011. DOI: 10.1016/j.watres.2011.05.033.
- HRUSKA, Karel; FRANEK, M. **Sulfonamides in the environment: A review and a case report** *Veterinarni Medicina*, 2012. DOI: 10.17221/4969-VETMED.
- HYLAND, Katherine C.; DICKENSON, Eric R. V.; DREWES, Jörg E.; HIGGINS, Christopher P. Sorption of ionized and neutral emerging trace organic compounds onto activated sludge from different wastewater treatment configurations. **Water Research**, [S. l.], 2012. DOI: 10.1016/j.watres.2012.01.012.
- IKEHATA, Keisuke; JODEIRI NAGHASHKAR, Naeimeh; GAMAL EL-DIN, Mohamed. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. **Ozone: Science and Engineering**, [S. l.], v. 28, n. 6, p. 353–414, 2006. DOI: 10.1080/01919510600985937.
- JAWED, Mohammad; TARE, Vinod. Post-mortem examination and analysis of anaerobic filters.

- Bioresource Technology**, [S. l.], 2000. DOI: 10.1016/S0960-8524(99)00087-5.
- Jl, Jun Yuan; XING, Ya Juan; MA, Zi Tao; CAI, Jing; ZHENG, Ping; LU, Hui Feng. Toxicity assessment of anaerobic digestion intermediates and antibiotics in pharmaceutical wastewater by luminescent bacterium. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.12.025.
- JIA, Yanyan; KHANAL, Samir Kumar; ZHANG, Huiqun; CHEN, Guang Hao; LU, Hui. Sulfamethoxazole degradation in anaerobic sulfate-reducing bacteria sludge system. **Water Research**, [S. l.], 2017. DOI: 10.1016/j.watres.2017.04.040.
- JORGENSEN, S. E.; HALLING-SORENSEN, B. **Drugs in the environment** **Chemosphere**, 2000. DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00438-5.
- JOSS, Adriano; KELLER, Elvira; ALDER, Alfredo C.; GÖBEL, Anke; MCARDELL, Christa S.; TERNES, Thomas; SIEGRIST, Hansruedi. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. **Water Research**, [S. l.], 2005. DOI: 10.1016/j.watres.2005.05.031.
- K., Choi; Y., Kim; J., Park; C.K., Park; M., Kim; H.S., Kim; P., Kim. **Seasonal variations of several pharmaceutical residues in surface water and sewage treatment plants of Han River, Korea** **Science of the Total Environment**, 2008.
- KANG, Abbass Jafari; BROWN, Alistair K.; WONG, Charles S.; YUAN, Qiuyan. Removal of antibiotic sulfamethoxazole by anoxic/anaerobic/oxic granular and suspended activated sludge processes. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.12.021.
- KARTHIKEYAN, K. G.; MEYER, Michael T. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. [S. l.], v. 361, p. 196–207, 2006. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.06.030.
- KASPRZYK-HORDERN, Barbara; DINSDALE, Richard M.; GUWY, Alan J. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. **Water Research**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1016/j.watres.2008.10.047.
- KAWASE, Mitsuo; NOMURA, Tadashi; MAJIMA, Tsuyoshi. AN ANAEROBIC FIXED BED REACTOR WITH A POROUS CERAMIC CARRIER. In: **Water Pollution Research and Control Brighton**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1016/b978-1-4832-8439-2.50012-2.
- KIM, Moonil; SPEECE, R. E. Aerobic waste activated sludge (WAS) for start-up seed of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion. **Water Research**, [S. l.], v. 36, n. 15, p. 3860–3866, 2002. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00080-5.
- KIM, Sang D.; CHO, Jaeweon; KIM, In S.; VANDERFORD, Brett J.; SNYDER, Shane A. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. **Water Research**, [S. l.], 2007. DOI: 10.1016/j.watres.2006.06.034.
- KIM, Sunah; ROSSMASSLER, Karen; BROECKLING, Corey D.; GALLOWAY, Sarah; PRENNI, Jessica; LONG, Susan K. De. Impact of inoculum sources on biotransformation of pharmaceuticals and personal care products. **Water Research**, [S. l.], v. 125, p. 227–236, 2017. DOI: 10.1016/j.watres.2017.08.041. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.041>.
- KLEIN, Eili Y.; VAN BOECKEL, Thomas P.; MARTINEZ, Elena M.; PANT, Suraj; GANDRA, Sumanth; LEVIN, Simon A.; GOOSSENS, Herman; LAXMINARAYAN, Ramanan. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1073/pnas.1717295115.
- KOH, Y. K. K.; CHIU, T. Y.; BOOBIS, A.; CARTMELL, E.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. **Treatment and removal strategies for estrogens from wastewater** **Environmental Technology**, 2008. DOI: 10.1080/09593330802099122.
- KOLPIN, Dana W.; FURLONG, Edward T.; MEYER, Michael T.; THURMAN, E. Michael;

- ZAUGG, Steven D.; BARBER, Larry B.; BUXTON, Herbert T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2002. DOI: 10.1021/es011055j.
- KONIG, H. Microbiology of methanogens. **Bacterial gas. Proc. conference, Milan, 1989**, [S. l.], 1992.
- KOOIJMAN, G.; DE KREUK, M. K.; HOUTMAN, C.; VAN LIER, J. B. Perspectives of coagulation/flocculation for the removal of pharmaceuticals from domestic wastewater: A critical view at experimental procedures. **Journal of Water Process Engineering**, [S. l.], 2020. DOI: 10.1016/j.jwpe.2020.101161.
- KOSMA, Christina I.; LAMBROPOULOU, Dimitra A.; ALBANIS, Triantafyllos A. Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: Occurrence, removal and environmental risk assessment. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.07.044.
- KUDO, Yuko; NAKAJIMA, Taihei; MIYAKI, Taro; OYAIZU, Hiroshi. Methanogen flora of paddy soils in Japan. **FEMS Microbiology Ecology**, [S. l.], 1997. DOI: 10.1016/S0168-6496(96)00073-6.
- KÜMMERER, K. Significance of antibiotics in the environment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S. l.], 2003. DOI: 10.1093/jac/dkg293.
- KÜMMERER, Klaus. Drugs in the environment: Emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - A review. **Chemosphere**, [S. l.], 2001. DOI: 10.1016/S0045-6535(01)00144-8.
- KÜMMERER, Klaus. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II. **Chemosphere**, [S. l.], v. 75, n. 4, p. 435–441, 2009. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.12.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.006>.
- KUS, F.; WIESMANN, U. Degradation kinetics of acetate and propionate by immobilized anaerobic mixed cultures. **Water Research**, [S. l.], 1995. DOI: 10.1016/0043-1354(94)00285-F.
- LARCHER, Simone; YARGEAU, Viviane. Biodegradation of sulfamethoxazole by individual and mixed bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 91, n. 1, p. 211–218, 2011. DOI: 10.1007/s00253-011-3257-8.
- LARCHER, Simone; YARGEAU, Viviane. **Biodegradation of sulfamethoxazole: Current knowledge and perspectives** **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2012. DOI: 10.1007/s00253-012-4326-3.
- LEE, Jean Y. H. et al. Global spread of three multidrug-resistant lineages of *Staphylococcus epidermidis*. **Nature Microbiology**, [S. l.], 2018. DOI: 10.1038/s41564-018-0230-7.
- LETTINGA, G. Sustainable integrated biological wastewater treatment. In: WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY 1996, **Anais [...]**. [s.l.: s.n.] DOI: 10.1016/0273-1223(96)00303-4.
- LI, Bing; ZHANG, Tong. Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2010. DOI: 10.1021/es903490h.
- LI, L.; YANG, X.; LI, X.; ZHENG, M.; CHEN, J.; ZHANG, Z. The influence of inoculum sources on anaerobic biogasification of NaOH-treated corn stover. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 138–144, 2011. DOI: 10.1080/15567030902937192.
- LI, Yeqing; FENG, Lu; ZHANG, Ruihong; HE, Yanfeng; LIU, Xiaoying; XIAO, Xiao; MA, Xinxin; CHEN, Chang; LIU, Guangqing. Influence of inoculum source and pre-incubation on bio-methane potential of chicken manure and corn stover. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S. l.], v. 171, n. 1, p. 117–127, 2013. DOI: 10.1007/s12010-013-0335-7.
- LIANG, Bin et al. Response of chloramphenicol-reducing biocathode resistome to continuous electrical stimulation. **Water Research**, [S. l.], 2019. DOI: 10.1016/j.watres.2018.10.073.

- LIAO, Xiaobin; LI, Bingxin; ZOU, Rusen; XIE, Shuguang; YUAN, Baoling. Antibiotic sulfanilamide biodegradation by acclimated microbial populations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1007/s00253-015-7133-9.
- LIMA, Cláudio Antonio Andrade; RIBEIRO, Rogers; FORESTI, Eugenio; ZAIAT, Marcelo. Morphological study of biomass during the start-up period of a fixed-bed anaerobic reactor treating domestic sewage. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. l.], v. 48, n. 5, p. 841–849, 2005. DOI: 10.1590/S1516-89132005000600020.
- LIMA GOMES, Paulo C. F.; TOMITA, Inês N.; SANTOS-NETO, Álvaro J.; ZAIAT, Marcelo. Rapid determination of 12 antibiotics and caffeine in sewage and bioreactor effluent by online column-switching liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 407, n. 29, p. 8787–8801, 2015. DOI: 10.1007/s00216-015-9038-y.
- LIN, Angela Yu Chen; YU, Tsung Hsien; LATEEF, Shaik Khaja. Removal of pharmaceuticals in secondary wastewater treatment processes in Taiwan. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.01.108.
- LINDSEY, M. E.; MEYER, M.; THURMAN, E. M. Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, [S. l.], 2001. DOI: 10.1021/ac010514w.
- LIU, Lin; LIU, Yu hong; WANG, Zhen; LIU, Chao xiang; HUANG, Xu; ZHU, Ge fu. Behavior of tetracycline and sulfamethazine with corresponding resistance genes from swine wastewater in pilot-scale constructed wetlands. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.015.
- LIU, Shuan; HASSAN, Shabi UI; DING, Haojie; LI, Shiyao; JIN, Fan; MIAO, Zhiquan; WANG, Xuxu; LI, Hong; ZHAO, Chun. Removal of sulfamethoxazole in water by electro-enhanced Co<sup>2+</sup>/peroxydisulfate system with activated carbon fiber-cathode. **Chemosphere**, [S. l.], v. 245, p. 125644, 2020. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125644. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125644>.
- LOCATELLI, Marco Antonio F.; SODRÉ, Fernando F.; JARDIM, Wilson F. Determination of antibiotics in brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, [S. l.], 2011. DOI: 10.1007/s00244-010-9550-1.
- LOOS, Robert et al. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. **Water Research**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1016/j.watres.2013.08.024.
- LOUVET, J. N.; GIAMMARINO, C.; POTIER, O.; PONS, M. N. Adverse effects of erythromycin on the structure and chemistry of activated sludge. **Environmental Pollution**, [S. l.], 2010. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.10.021.
- LUO, Yunlong; GUO, Wenshan; NGO, Huu Hao; NGHIEM, Long Duc; HAI, Faisal Ibney; ZHANG, Jian; LIANG, Shuang; WANG, Xiaochang C. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 473–474, p. 619–641, 2014. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.065. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065>.
- MA, Zhuang; WU, Hanghang; ZHANG, Kangshu; XU, Xingkun; WANG, Cheng; ZHU, Weijing; WU, Weixiang. Long-term low dissolved oxygen accelerates the removal of antibiotics and antibiotic resistance genes in swine wastewater treatment. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 334, n. October 2017, p. 630–637, 2018. DOI: 10.1016/j.cej.2017.10.051. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.051>.
- MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John; PARKER, J. Brock Biology of Micro-Organisms Brock Biology of Microorganisms. **Ugeskrift for Laeger**, [S. l.], 1997.
- MARTÍN, Julia; SANTOS, Juan Luis; APARICIO, Irene; ALONSO, Esteban. Pharmaceutically

- active compounds in sludge stabilization treatments: Anaerobic and aerobic digestion, wastewater stabilization ponds and composting. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2015. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.05.089.
- MASTERS, Philip A.; O'BRYAN, Thomas A.; ZURLO, John; MILLER, Debra Q.; JOSHI, Nirmal. **Trimethoprim-sulfamethoxazole revisited** *Archives of Internal Medicine*, 2003. DOI: 10.1001/archinte.163.4.402.
- MIAO, Xiu Sheng; BISHAY, Farida; CHEN, Mei; METCALFE, Chris D. Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2004. DOI: 10.1021/es030653q.
- MIAO, Xiu Sheng; KOENIG, Brenda G.; METCALFE, Chris D. Analysis of acidic drugs in the effluents of sewage treatment plants using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], 2002. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)00088-2.
- MIÈGE, C.; CHOUBERT, J. M.; RIBEIRO, L.; EUSÈBE, M.; COQUERY, M. Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants - Conception of a database and first results. **Environmental Pollution**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1016/j.envpol.2008.11.045.
- MIGLIORE, Luciana; BRAMBILLA, Gianfranco; COZZOLINO, Salvatore; GAUDIO, Luciano. Effect on plants of sulphadimethoxine used in intensive farming (*Panicum miliaceum*, *Pisum sativum* and *Zea mays*). **Agriculture, Ecosystems and Environment**, [S. l.], 1995. DOI: 10.1016/0167-8809(94)00549-T.
- MOCKAITIS, G.; PANTOJA-FILHO, J. L. R.; RODRIGUES, J. A. D.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Continuous Anaerobic Bioreactor With Fixed-Structured Bed (ABFSB) for wastewater treatment: a developing technology. In: X DAAL - X LATIN AMERICAN WORKSHOP AND SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION 2011, *Anais [...]*. [s.l: s.n.]
- MOCKAITIS, G.; PANTOJA, J. L. R.; RODRIGUES, J. A. D.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Continuous anaerobic bioreactor with a fixed-structure bed (ABFSB) for wastewater treatment with low solids and low applied organic loading content. [S. l.], p. 1361–1368, 2014. DOI: 10.1007/s00449-013-1108-y.
- MOHAJERANI, Masroor; MEHRVAR, Mehrab; EIN-MOZAFFARI, Farhad. Using an external-loop airlift sonophotoreactor to enhance the biodegradability of aqueous sulfadiazine solution. **Separation and Purification Technology**, [S. l.], 2012. DOI: 10.1016/j.seppur.2012.02.025.
- MOHATT, Jessica L.; HU, Lanhua; FINNERAN, Kevin T.; STRATHMANN, Timothy J. Microbially mediated abiotic transformation of the antimicrobial agent sulfamethoxazole under iron-reducing soil conditions. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2011. DOI: 10.1021/es200413g.
- MOHRING, S. A. I.; STRZYSCH, Ina; FERNANDES, Marcos Reis; KIFFMEYER, Thekla K.; TUERK, Jochen; HAMSCHE, Gerd. Degradation and elimination of various sulfonamides during anaerobic fermentation: A promising step on the way to sustainable pharmacy? **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1021/es802042d.
- MONSALVO, Victor M.; MCDONALD, James A.; KHAN, Stuart J.; LE-CLECH, Pierre. Removal of trace organics by anaerobic membrane bioreactors. **Water Research**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.watres.2013.11.026.
- MORENO-ANDRADE, I.; BUITRÓN, G. Influence of the origin of the inoculum on the anaerobic biodegradability test. **Water Science and Technology**, [S. l.], v. 49, n. 1, p. 53–59, 2004. DOI: 10.2166/wst.2004.0017.
- MORENO-GONZÁLEZ, R.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; GROS, M.; PÉREZ-CÁNOVAS, E.; BARCELÓ, D.; LEÓN, V. M. Input of pharmaceuticals through coastal surface watercourses into a Mediterranean lagoon (Mar Menor, SE Spain): Sources and seasonal variations. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.04.097.

- MOURA, Rafael Brito De. Desempenho de um reator vertical de fluxo contínuo e leito estruturado com recirculação do efluente, submetido à aeração intermitente, na remoção de carbono e nitrogênio de um efluente sintético. *[S. l.]*, p. 112, 2011.
- MÜLLER, Elisabeth; SCHÜSSLER, Walter; HORN, Harald; LEMMER, Hilde. Aerobic biodegradation of the sulfonamide antibiotic sulfamethoxazole by activated sludge applied as co-substrate and sole carbon and nitrogen source. **Chemosphere**, *[S. l.]*, 2013. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.070.
- MURATA, Ayako; TAKADA, Hideshige; MUTOH, Kunihiro; HOSODA, Hiroshi; HARADA, Arata; NAKADA, Norihide. Nationwide monitoring of selected antibiotics: Distribution and sources of sulfonamides, trimethoprim, and macrolides in Japanese rivers. **Science of the Total Environment**, *[S. l.]*, 2011. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2011.09.014.
- MUYZER, G.; DE WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, *[S. l.]*, 1993. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/59/3/695.short>.
- NEVES, L.; OLIVEIRA, R.; ALVES, M. M. Influence of inoculum activity on the bio-methanization of a kitchen waste under different waste/inoculum ratios. **Process Biochemistry**, *[S. l.]*, v. 39, n. 12, p. 2019–2024, 2004. DOI: 10.1016/j.procbio.2003.10.002.
- NÖDLER, Karsten; LICHA, Tobias; BESTER, Kai; SAUTER, Martin. Development of a multi-residue analytical method, based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry, for the simultaneous determination of 46 micro-contaminants in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, *[S. l.]*, 2010. DOI: 10.1016/j.chroma.2010.08.048.
- NÜBEL, Ulrich; ENGELN, Bert; FELSRE, Andreas; SNAIDR, Jiri; WIESHUBER, Alois; AMANN, Rudolf I.; LUDWIG, Wolfgang; BACKHAUS, Horst. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. **Journal of Bacteriology**, *[S. l.]*, 1996. DOI: 10.1128/jb.178.19.5636-5643.1996.
- O'NEILL, J. **Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations** Review on Antimicrobial Resistance, 2016.
- O'NEILL, Jim. **Antimicrobial Resistance : Tackling a crisis for the health and wealth of nations**. 2014.
- OLIVA, L. C. H. V. **Tratamento de esgotos sanitários com reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) protótipo: desempenho e respostas às sobrecargas hidráulicas**. 1997. Universidade de São Paulo, *[S. l.]*, 1997.
- OLIVEIRA, G. H. D.; SANTOS-NETO, A. J.; ZAIAT, M. Removal of the veterinary antimicrobial sulfamethazine in a horizontal- flow subjectanaerobic immobilized biomass ( HAIB ) reactor ed to step changes in the applied organic loading rate. **Journal of Environmental Management**, *[S. l.]*, v. 204, p. 674–683, 2017. DOI: 10.1016/j.jenvman.2017.09.048. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.09.048>.
- ORTEGA, F. S.; ROCHA, K. M.; ZAIAT, M.; PANDOLFELLI, V. C. Aplicação de espumas cerâmicas produzidas via “gelcasting” em biorreator para tratamento anaeróbio de águas residuárias. **Cerâmica**, *[S. l.]*, 2001. DOI: 10.1590/s0366-69132001000400006.
- PENG, Jingjing; WANG, Xingzu; YIN, Fengjun; XU, Guihua. Characterizing the removal routes of seven pharmaceuticals in the activated sludge process. **Science of the Total Environment**, *[S. l.]*, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.004.
- PENG, Xianzhi; WANG, Zhendi; KUANG, Wenxing; TAN, Jianhua; LI, Ken. A preliminary study on the occurrence and behavior of sulfonamides, ofloxacin and chloramphenicol antimicrobials in wastewaters of two sewage treatment plants in Guangzhou, China. **Science of the Total Environment**, *[S. l.]*, 2006. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.07.001.
- PENG, Xianzhi; ZHANG, Kun; TANG, Caiming; HUANG, Qiuxin; YU, Yiyi; CUI, Jianlan.

- Distribution pattern, behavior, and fate of antibacterials in urban aquatic environments in South China. **Journal of Environmental Monitoring**, [S. l.], 2011. DOI: 10.1039/c0em00394h.
- PRIYA, M.; MEENAMBAL, T.; BALASUBRAMANIAN, N.; PERUMAL, B. Comparative Study of Treatment of Sago Wastewater using HUASB Reactor in the Presence and Absence of Effective Microorganisms. **Procedia Earth and Planetary Science**, [S. l.], 2015. DOI: 10.1016/j.proeps.2015.06.048.
- QIANG, Zhimin; ADAMS, Craig. Potentiometric determination of acid dissociation constants (pK<sub>a</sub>) for human and veterinary antibiotics. **Water Research**, [S. l.], 2004. DOI: 10.1016/j.watres.2004.03.017.
- QUEIROZ, F. B.; BRANDT, E. M. F.; AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; AFONSO, R. J. C. F. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw sewage and their behavior in UASB reactors operated at different hydraulic retention times. **Water Science and Technology**, [S. l.], 2012. DOI: 10.2166/wst.2012.482.
- RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M. Operating feasibility of anaerobic whey treatment in a stirred sequencing batch reactor containing immobilized biomass. *In: WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY 2003, Anais [...]*. [s.l.: s.n.] DOI: 10.2166/wst.2003.0391.
- RICHARDSON, Mervyn L.; BOWRON, Judith M. **The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1985. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1985.tb04922.x.
- RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved Alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-Strenght wastes. **Water Pollut. Control Fed.**, [S. l.], 1986. DOI: 10.1109/APMC.2005.1606770.
- RODRIGUEZ-MOZAZ, Sara; CHAMORRO, Sara; MARTI, Elisabet; HUERTA, Belinda; GROS, Meritxell; SÀNCHEZ-MELSIÓ, Alexandre; BORREGO, Carles M.; BARCELÓ, Damià; BALCÁZAR, Jose Luis. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. **Water Research**, [S. l.], 2015. DOI: 10.1016/j.watres.2014.11.021.
- RODRÍGUEZ, I.; QUINTANA, J. B.; CARPINTEIRO, J.; CARRO, A. M.; LORENZO, R. A.; CELA, R. Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as tert.-butyldimethylsilyl derivatives. *In: JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A 2003, Anais [...]*. [s.l.: s.n.] DOI: 10.1016/S0021-9673(02)01528-5.
- RODRIGUEZ, Renata P.; ZAIAT, Marcelo. Influence of carbon source and inoculum type on anaerobic biomass adhesion on polyurethane foam in reactors fed with acid mine drainage. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 102, n. 8, p. 5060–5065, 2011. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.01.084. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.084>.
- ROGERS, Ian H.; BIRTWELL, Ian K.; KRUYNSKI, George M. ORGANIC EXTRACTABLES IN MUNICIPAL WASTEWATER VANCOUVER, BRITISH COLUMBIA. **Water pollution research journal of Canada**, [S. l.], 1986. DOI: 10.2166/wqrj.1986.014.
- SACHER, Frank; LANGE, Frank Thomas; BRAUCH, Heinz Jürgen; BLANKENHORN, Iris. Pharmaceuticals in groundwaters: Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *In: JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A 2001, Anais [...]*. [s.l.: s.n.] DOI: 10.1016/S0021-9673(01)01266-3.
- SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain). **Environment International**, [S. l.], 2007. DOI: 10.1016/j.envint.2006.09.014.
- SANTOS, Lúcia H. M. L. M.; ARAÚJO, A. N.; FACHINI, Adriano; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. **Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment** *Journal of Hazardous Materials*, 2010. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.10.100.



- SARMAH, Ajit K.; MEYER, Michael T.; BOXALL, Alistair B. A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, [S. l.], v. 65, n. 5, p. 725–759, 2006. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.026. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653506003213>.
- SARTI, Arnaldo; TAVARES VIEIRA, Lorena Grein; FORESTI, Eugenio; ZAIAT, Marcelo. Influence of the liquid-phase mass transfer on the performance of a packed-bed bioreactor for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 78, n. 3, p. 231–238, 2001. DOI: 10.1016/S0960-8524(01)00025-6.
- SCHWAIGER, J.; FERLING, H.; MALLOW, U.; WINTERMAYR, H.; NEGELE, R. D. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, [S. l.], 2004. DOI: 10.1016/j.aquatox.2004.03.014.
- SECRETARY-GENERAL, Independent Group of Scientists appointed by the. **Global Sustainable Development, Development Report 2019: The Future is Now – Science for Achieving Sustainable**. United Nations, New York. Disponível em: [https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/24797GSDR\\_report\\_2019.pdf](https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/24797GSDR_report_2019.pdf).
- SEKIGUCHI, Yuji; KAMAGATA, Yoichi; SYUTSUBO, Kazuaki; OHASHI, Akiyoshi; HARADA, Hideki; NAKAMURA, Kazunori. Phylogenetic diversity of mesophilic and thermophilic granular sludges determined by 16S rRNA gene analysis. **Microbiology**, [S. l.], 1998. DOI: 10.1099/00221287-144-9-2655.
- SEMBLANTE, Galilee U.; HAI, Faisal I.; HUANG, Xia; BALL, Andrew S.; PRICE, William E.; NGHIEM, Long D. **Trace organic contaminants in biosolids: Impact of conventional wastewater and sludge processing technologies and emerging alternatives** *Journal of Hazardous Materials*, 2015. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.06.037.
- SHAHMAHDI, Najmeh; DEHGHANZADEH, Reza; ASLANI, Hassan; BAKHT SHOKOUHI, Sepideh. Performance evaluation of waste iron shavings (Fe<sub>0</sub>) for catalytic ozonation in removal of sulfamethoxazole from municipal wastewater treatment plant effluent in a batch mode pilot plant. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 383, n. October 2019, p. 123093, 2020. DOI: 10.1016/j.cej.2019.123093. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123093>.
- SHEMER, Hilla; KUNUKCU, Yasemin Kaçar; LINDEN, Karl G. Degradation of the pharmaceutical Metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. **Chemosphere**, [S. l.], v. 63, n. 2, p. 269–276, 2006. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.07.029.
- SHI, Xueqing; LEONG, Kwok Yui; NG, How Yong. Anaerobic treatment of pharmaceutical wastewater: A critical review. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 245, n. July, p. 1238–1244, 2017. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.08.150. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.150>.
- SHI, Xueqing; NG, Kok Kwang; LI, Xiao Ran; NG, How Yong. Investigation of intertidal wetland sediment as a novel inoculation source for anaerobic saline wastewater treatment. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 2015. DOI: 10.1021/acs.est.5b00546.
- SHIMIZU, Akiko et al. Ubiquitous occurrence of sulfonamides in tropical Asian waters. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.02.027.
- SHIN, Seung Gu; LEE, Seungyong; LEE, Changsoo; HWANG, Kwanghyun; HWANG, Seokhwan. Qualitative and quantitative assessment of microbial community in batch anaerobic digestion of secondary sludge. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2010. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.07.081.
- SILVA, Gustavo H. R. Da; NOUR, Edson A. A. Reator compartimentado anaeróbio/aeróbio: sistema de baixo custo para tratamento de esgotos de pequenas comunidades. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 268–275, 2005. DOI: 10.1590/s1415-43662005000200019.
- SINGH, Rachna; SINGH, Akhand Pratap; KUMAR, Sunil; GIRI, Balendu Shekher; KIM, Ki Hyun.

- Antibiotic resistance in major rivers in the world: A systematic review on occurrence, emergence, and management strategies. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 234, p. 1484–1505, 2019. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.06.243. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.243>.
- SPEECE, Richard E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], 1983. DOI: 10.1021/es00115a001.
- SPONZA, Delia Teresa; DEMIRDEN, Pinar. Treatability of sulfamerazine in sequential upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB)/completely stirred tank reactor (CSTR) processes. **Separation and Purification Technology**, [S. l.], 2007. DOI: 10.1016/j.seppur.2006.07.013.
- STASINAKIS, A. S.; GATIDOU, G. **Micropollutants and aquatic environment**. [s.l.: s.n.], v. 9 DOI: 10.2166/9781780401447.
- STASINAKIS, Athanasios S. **Review on the fate of emerging contaminants during sludge anaerobic digestion** **Bioresource Technology**, 2012. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.06.074.
- STUMPF, Marcus; TERNES, Thomas A.; WILKEN, Rolf Dieter; SILVANA VIANNA RODRIGUES; BAUMANN, Wolfram. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 1999. DOI: 10.1016/S0048-9697(98)00339-8.
- SUÁREZ, Sonia; CARBALLA, Marta; OMIL, Francisco; LEMA, Juan M. **How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters?** **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, 2008. DOI: 10.1007/s11157-008-9130-2.
- SUAREZ, Sonia; LEMA, Juan M.; OMIL, Francisco. Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. **Water Research**, [S. l.], 2010. DOI: 10.1016/j.watres.2010.02.040.
- SUN, Shaobin; YAO, Hong; LI, Xinyang; DENG, Shihai; ZHAO, Shenlong; ZHANG, Wen. Enhanced degradation of sulfamethoxazole (SMX) in toilet wastewater by photo-fenton reactive membrane filtration. **Nanomaterials**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020. DOI: 10.3390/nano10010180.
- SWEETMAN, Sean C. Martindale 36th edition: The Complete Drug Reference. **Pharmaceutical Press**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1227/00006123-197811000-00012.
- TAMBOSI, José Luiz; YAMANAKA, Leonardo Yassuhiro; JOSÉ, Humberto Jorge; DE FÁTIMA PERALTA MUNIZ MOREIRA, Regina; SCHRÖDER, Horst Friedrich. Recent research data on the removal of pharmaceuticals from sewage treatment plants (STP). **Química Nova**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 411–420, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000200032.
- TAPPE, Wolfgang; HERBST, Michael; HOFMANN, Diana; KOEPPCHEN, Stephan; KUMMER, Sirgit; THIELE, Björn; GROENEWEG, Joost. Degradation of sulfadiazine by *Microbacterium lacus* strain SDZm4, isolated from lysimeters previously manured with slurry from sulfadiazine-medicated pigs. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], 2013. DOI: 10.1128/AEM.03636-12.
- TERNES, Thomas A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Research**, [S. l.], 1998. DOI: 10.1016/S0043-1354(98)00099-2.
- TERNES, Thomas A. Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], 2001. DOI: 10.1016/S0165-9936(01)00078-4.
- TERNES, Thomas A.; HERRMANN, Nadine; BONERZ, Matthias; KNACKER, Thomas; SIEGRIST, Hansruedi; JOSS, Adriano. A rapid method to measure the solid-water distribution coefficient ( $K_d$ ) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge. **Water Research**, [S. l.], 2004. DOI: 10.1016/j.watres.2004.07.015.
- TERNES, Thomas A.; HIRSCH, Roman; MUELLER, Jutta; HABERER, Klaus. Methods for the determination of neutral drugs as well as betablockers and  $\beta_2$ -sympathomimetics in aqueous matrices using GC/MS and LC/MS/MS. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, [S. l.],

1998. DOI: 10.1007/s002160051083.
- TONG, Lei; HUANG, Shuangbing; WANG, Yanxin; LIU, Hui; LI, Minjing. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment of Jiangnan Plain, central China. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 497–498, p. 180–187, 2014. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.07.068. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.068>.
- TRIEBSKORN, R.; CASPER, H.; HEYD, A.; EIKEMPER, R.; KÖHLER, H. R.; SCHWAIGER, J. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part II. Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology**, [S. l.], 2004. DOI: 10.1016/j.aquatox.2004.03.015.
- VAN BOECKEL, Thomas P.; GANDRA, Sumanth; ASHOK, Ashvin; CAUDRON, Quentin; GRENFELL, Bryan T.; LEVIN, Simon A.; LAXMINARAYAN, Ramanan. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: An analysis of national pharmaceutical sales data. **The Lancet Infectious Diseases**, [S. l.], v. 14, n. 8, p. 742–750, 2014. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70780-7. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70780-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70780-7).
- VARESCHE, M. B.; ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; VAZOLLER, R. F.; FORESTI, E. Microbial colonization of polyurethane foam matrices in horizontal-flow anaerobic immobilized-sludge reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], 1997. DOI: 10.1007/s002530051092.
- VEIGA, M. C.; MENDEZ, R.; LEMA, J. M. Anaerobic filter and DSFF reactors in anaerobic treatment of tuna processing wastewater. In: WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY 1994, **Anais [...]**. [s.l.: s.n.] DOI: 10.2166/wst.1994.0642.
- VON SPERLING, Marcos. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. [s.l.: s.n.].
- WANG, Longfei; LI, Yi; WANG, Li; ZHU, Mengjie; ZHU, Xiaoxiao; QIAN, Chen; LI, Wenwei. Responses of biofilm microorganisms from moving bed biofilm reactor to antibiotics exposure: Protective role of extracellular polymeric substances. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2018. a. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.01.063.
- WANG, Lu et al. Biodegradation of sulfadiazine in microbial fuel cells: Reaction mechanism, biotoxicity removal and the correlation with reactor microbes. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2018. b. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.08.021.
- WARD, Alastair J.; HOBBS, Phil J.; HOLLIMAN, Peter J.; JONES, David L. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**, 2008. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.02.044.
- WATKINSON, A. J.; MURBY, E. J.; KOLPIN, D. W.; COSTANZO, S. D. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. **Science of the Total Environment**, [S. l.], 2009. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.11.059.
- WEI, Chun Hai; HARB, Moustapha; AMY, Gary; HONG, Pei Ying; LEIKNES, Tor Ove. Sustainable organic loading rate and energy recovery potential of mesophilic anaerobic membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2014. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.05.053.
- WEI, Chun Hai; HOPPE-JONES, Christiane; AMY, Gary; LEIKNES, Tor Ove. Organic micropollutants' removal via anaerobic membrane bioreactor with ultrafiltration and nanofiltration. **Journal of Water Reuse and Desalination**, [S. l.], 2016. DOI: 10.2166/wrd.2015.138.
- WEI, Chun Hai; SANCHEZ-HUERTA, Claudia; LEIKNES, Tor Ove; AMY, Gary; ZHOU, Hong; HU, Xiaodong; FANG, Qian; RONG, Hongwei. Removal and biotransformation pathway of antibiotic sulfamethoxazole from municipal wastewater treatment by anaerobic membrane bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2019. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120894.
- WEI, Chun Hai; WANG, Nan; HOPPEJONES, Christiane; LEIKNES, Tor Ove; AMY, Gary; FANG, Qian; HU, Xiaodong; RONG, Hongwei. Organic micropollutants removal in sequential batch reactor followed by nanofiltration from municipal wastewater treatment. **Bioresource Technology**,

- [S. l.], 2018. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.08.073.
- WIEGEL, S. et al. Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. **Chemosphere**, [S. l.], 2004. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.05.017.
- WIJEKON, Kaushalya C.; MCDONALD, James A.; KHAN, Stuart J.; HAI, Faisal I.; PRICE, William E.; NGHIEM, Long D. Development of a predictive framework to assess the removal of trace organic chemicals by anaerobic membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2015. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.04.034.
- WINTERSDORFF, Christian J. H. Von; PENDERS, John; NIEKERK, Julius M. Van. Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. [S. l.], v. 7, n. February, p. 1–10, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00173.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. Geneva, Switzerland. v. Accessed 3
- XU, Weihai; ZHANG, Gan; LI, Xiangdong; ZOU, Shichun; LI, Ping; HU, Zhaohui; LI, Jun. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. **Water Research**, [S. l.], 2007. DOI: 10.1016/j.watres.2007.06.023.
- YANG, Sheng Fu; LIN, Cheng Fang; YU-CHEN LIN, Angela; ANDY HONG, Pui Kwan. Sorption and biodegradation of sulfonamide antibiotics by activated sludge: Experimental assessment using batch data obtained under aerobic conditions. **Water Research**, [S. l.], 2011. DOI: 10.1016/j.watres.2011.03.052.
- YANG, Shidong; CHE, Di. Degradation of aquatic sulfadiazine by Fe0/persulfate: Kinetics, mechanisms, and degradation pathway. **RSC Advances**, [S. l.], 2017. DOI: 10.1039/c7ra07920f.
- YANG, Shinwoo; CHA, Jongmun; CARLSON, Kenneth. Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], 2005. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.08.027.
- YANG, Shufan; HAI, Faisal I.; PRICE, William E.; MCDONALD, James; KHAN, Stuart J.; NGHIEM, Long D. Occurrence of trace organic contaminants in wastewater sludge and their removals by anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, [S. l.], 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.12.080.
- YOUNG, J. C. Factors affecting the design and performance of upflow anaerobic filters. In: SEMINÁRIOS INTERNACIONAL SOBRE DESENVOLVIMENTO DE REATORES ANAERÓBIOS 1990, São Carlos. Brasil. **Anais [...]**. São Carlos. Brasil: Fayetteville University of Arkansas, 1990. p. 33.
- YUN, Mi Kyung; WU, Yinan; LI, Zhenmei; ZHAO, Ying; WADDELL, M. Brett; FERREIRA, Antonio M.; LEE, Richard E.; BASHFORD, Donald; WHITE, Stephen W. Catalysis and sulfa drug resistance in dihydropteroate synthase. **Science**, [S. l.], 2012. DOI: 10.7551/mitpress/8876.003.0036.
- ZAIAT, M. **Desenvolvimento de Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) para tratamento de águas residuárias**. 1996. Universidade de São Paulo. São Carlos, SP, [S. l.], 1996.
- ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A. .; FORESTI, E. Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo Para Tratamento de Águas Residuárias: Conceção e Avaliação Preliminar de Desempenho. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 33–42, 1994.
- ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; CABRAL, A. K. A.; DE NARDI, I. R.; VELA, F. J.; FORESTI, E. Rational basis for designing horizontal-flow anaerobic immobilized sludge (HAIS) reactor for wastewater treatment. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [S. l.], 1997. DOI: 10.1590/S0104-66321997000100001.
- ZANELLA, L. **Partida de um reator compartimentado híbrido anaeróbio/aeróbio tratando esgoto sanitário**. 1999. Universidade Estadual de Campinas, [S. l.], 1999. Disponível em: <http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/258318>.

- ZELLNER, G.; VOGEL, P.; KNEIFEL, H.; WINTER, J. Anaerobic digestion of whey and whey permeate with suspended and immobilized complex and defined consortia. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], 1987. DOI: 10.1007/BF00252935.
- ZHANG, Donglu et al. Reductive isoxazole ring opening of the anticoagulant razaxaban is the major metabolic clearance pathway in rats and dogs. **Drug Metabolism and Disposition**, [S. l.], 2008. a. DOI: 10.1124/dmd.107.018416.
- ZHANG, Xu; WU, Feng; WU, Xu Wei; CHEN, Pengyu; DENG, Nansheng. Photodegradation of acetaminophen in TiO<sub>2</sub> suspended solution. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 157, n. 2–3, p. 300–307, 2008. b. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.12.098.
- ZHANG, Yongjun; GEISSEN, Sven Uwe; GAL, Carmen. **Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies** *Chemosphere*, 2008. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.07.086.
- ZHAO, Wentao; GUO, Ying; LU, Shuguang; YAN, Pingping; SUI, Qian. Recent advances in pharmaceuticals and personal care products in the surface water and sediments in China. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 2, 2016. DOI: 10.1007/s11783-016-0868-4. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11783-016-0868-4>.
- ZHENG, Jierong; WANG, Sufang; ZHOU, Aijuan; ZHAO, Bowei; DONG, Jing; ZHAO, Xiaochan; LI, Peirui; YUE, Xiuping. Efficient elimination of sulfadiazine in an anaerobic denitrifying circumstance: Biodegradation characteristics, biotoxicity removal and microbial community analysis. **Chemosphere**, [S. l.], 2020. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.126472.
- ZHOU, Haidong; ZHANG, Zhe; WANG, Meng; HU, Tao; WANG, Ziqi. Enhancement with physicochemical and biological treatments in the removal of pharmaceutically active compounds during sewage sludge anaerobic digestion processes. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], 2017. DOI: 10.1016/j.cej.2017.01.104.
- ZIEMIŃSKA, Justyna; ADAMEK, Ewa; SOBCZAK, Andrzej; LIPSKA, Ilona; MAKOWSKI, Andrzej; BARAN, Wojciech. The study of photocatalytic degradation of sulfonamides applied to municipal wastewater. **Physicochemical Problems of Mineral Processing**, [S. l.], 2010.
- ZINATIZADEH, A. A.; MOHAMMADI, P.; MIRGHORAYSHI, M.; IBRAHIM, S.; YOUNESI, H.; MOHAMED, A. R. An anaerobic hybrid bioreactor of granular and immobilized biomass for anaerobic digestion (AD) and dark fermentation (DF) of palm oil mill effluent: Mass transfer evaluation in granular sludge and role of internal packing. **Biomass and Bioenergy**, [S. l.], 2017. DOI: 10.1016/j.biombioe.2017.05.006.
- ZINDER, Stephen H. Physiological Ecology of Methanogens. In: **Methanogenesis**. [s.l.: s.n.]. DOI: 10.1007/978-1-4615-2391-8\_4.
- ZUCCATO, Ettore; CASTIGLIONI, Sara; BAGNATI, Renzo; MELIS, Manuela; FANELLI, Roberto. Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], 2010. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.03.110.