

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS**  
**DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

CRISTIANE ARRUDA DE OLIVEIRA

**ESTUDO E AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DO ANTIBIÓTICO**  
**SULFAMETAZINA EM REATOR ANAERÓBIO**  
**HORIZONTAL DE LEITO FIXO (RAHLF)**

SÃO CARLOS

2015

CRISTIANE ARRUDA DE OLIVEIRA

ESTUDO E AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DO ANTIBIÓTICO  
SULFAMETAZINA EM REATOR ANAERÓBIO HORIZONTAL  
DE LEITO FIXO (RAHLF)

Trabalho de Graduação apresentado à  
Escola de Engenharia de São Carlos da  
Universidade de São Paulo, para  
obtenção do título de Graduado em  
Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes

SÃO CARLOS

2015

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.

O48e Oliveira, Cristiane Arruda de  
Estudo e avaliação da remoção do antibiótico  
sulfametazina em reator anaeróbio horizontal de leito  
fixo (RAHLF) / Cristiane Arruda de Oliveira; orientador  
Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes. São Carlos,  
2015.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --  
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de  
São Paulo, 2015.

1. RAHLF. 2. Remoção. 3. Sulfametazina. I. Título.

# FOLHA DE JULGAMENTO

---

Candidato(a): **Cristiane Arruda de Oliveira**

Data da Defesa: 23/10/2015

Comissão Julgadora:

Resultado:

**Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes (Orientador(a))**

Aprovada

**Dra. Inês Noriko Tomita**

Aprovada

**Prof. Dr. Álvaro José dos Santos Neto**

APROVADA



**Prof. Dr. Marcelo Zaiat**

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

## DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho aos meus pais, Miguel e Célia por todo amor, carinho, dedicação e paciência e aos meus irmãos, Gustavo e Thais por todo apoio e companheirismo.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes por toda dedicação, paciência, ensinamentos ao longo desses dois anos de trabalho, e principalmente por ter acreditado em mim e me mostrado que sou capaz, e posso melhorar a cada dia.

Ao Prof. Dr. Marcelo Zaiat pela oportunidade, atenção e ensinamentos.

Ao Guilherme Henrique Duarte de Oliveira pelo maravilhoso profissional, e sempre estar disposto à dividir sua experiência, reflexões e sugestões, que com certeza contribuíram para a realização desse trabalho.

Ao Msc. Eduardo Penteado pela constante disposição em ajudar.

Ao Msc. Lucas Tadeu Fuess por todo auxílio e ter tornado os momentos em laboratório mais agradáveis.

Ao Msc. Rodrigo Carneiro pelos conselhos e colaboração.

À Dra. Inês, por estar disponível nos momentos mais difíceis.

Ao Rafael, por todo companheirismo, carinho, compreensão e apoio incondicional.

Ao amigo e companheiro de trabalho Guilherme Flandoli Romeiro pelo suporte, ajuda e companheirismo.

Às minhas amigas e confidentes, Luma e Marina, que estiveram presentes em todos os momentos.

À todos os profissionais e colegas do Laboratório de Processos Biológicos por terem participado do meu crescimento profissional e pessoal ao longo desses dois anos.

## RESUMO

Oliveira, Cristiane A. (2015). **Estudo e avaliação da remoção do antibiótico sulfametazina em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF)**. 55 p. Trabalho de Graduação – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

Os poluentes emergentes constituem uma grande classe de fármacos que causam impacto ao meio ambiente, podendo ser encontrados em concentrações que variam de microgramas ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) até nanogramas por litro ( $\text{ng L}^{-1}$ ). Dentro desse grupo há os antibióticos, que são persistentes no meio ambiente e interferem na seleção de microrganismos cada vez mais resistentes, o que acarreta em um grave problema de saúde pública. Entre os antibióticos, as sulfonamidas são largamente utilizadas na medicina veterinária, principalmente em suinocultura. Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência do reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) na remoção do antibiótico sulfametazina. No RAHLF foram utilizadas espumas de poliuretano em forma de cubos com arestas entre 0,3 e 0,5 cm, como suporte para a biomassa. Essa configuração de reator tem sido usada com sucesso no tratamento de águas residuárias, principalmente, contendo compostos recalcitrantes, como pentaclorofenol (PCP). O reator foi operado em câmara com controle de temperatura a  $30^\circ\text{C}$ , com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 horas a fim de avaliar a remoção da sulfametazina em diferentes concentrações:  $200 \text{ ng L}^{-1}$ ,  $400 \text{ ng L}^{-1}$  e  $600 \text{ ng L}^{-1}$ . A cinética de remoção é de primeira ordem com residual, e com constante cinética aparente ( $k$ ) de  $0,885 \text{ h}^{-1}$  para remoção da matéria orgânica. Para o antibiótico sulfametazina o valor da constante cinética aparente apresentou média de  $k_{\text{sul}} = 0,356 \text{ h}^{-1}$ , apresentando considerável eficiência de remoção desse micropolvente, em média de 60%. Em relação à matéria orgânica presente no esgoto *lab-made* removeu aproximadamente 91%. Sendo assim, o reator usado, bem como suas condições de operação foram eficientes na remoção de baixas concentrações do antibiótico sulfametazina.

**Palavras chaves:** RAHLF. Remoção. Sulfametazina.

## ABSTRACT

Oliveira, Cristiane A. (2015). **Study and evaluation of removal of the antibiotic sulfamethazine horizontal flow anaerobic immobilized biomass (HAIB)**. 55 p. Trabalho de Graduação - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

Emerging pollutants constitute a large class of drugs that impact the environment and can be found at concentrations ranging from micrograms ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) to nanograms per liter ( $\text{ng L}^{-1}$ ). Inside this group there are antibiotics, which are persistent in the environment and affect the selection of increasingly resistant microorganisms, resulting in a serious public health problem. Among these antibiotics, sulfonamides are widely used in veterinary medicine, particularly in pig farming. Thus, this study aims to evaluate the efficiency of horizontal flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) in removing the antibiotic sulfamethazine. In HAIB polyurethane matrices were used in the form of cubes with edges between 0,3 and 0,5 cm, as biomass support. This reactor configuration has been used successfully in the treatment of wastewater, containing mainly recalcitrant compounds such as pentachlorophenol (PCP). This reactor was operated in a chamber with a temperature control at  $30^{\circ}\text{C}$ , with hydraulic retention time (HRT) of 12 hours in order to evaluate the removal of sulfamethazine at different concentrations:  $200 \text{ ng L}^{-1}$ ,  $400 \text{ ng L}^{-1}$  e  $600 \text{ ng L}^{-1}$ . The removal kinetics is the first order residual, with kinetic constant (k) of  $0,885 \text{ h}^{-1}$  for organic matter removal. For the antibiotic sulfamethazine the value of the apparent rate constant averaged  $k_{\text{sul}} = 0,356 \text{ h}^{-1}$ , having a considerable removal efficiency for this antibiotic, with an average of 60%. In relation to organic matter present in the synthetic wastewater approximately 91% was removed. Therefore, the reactor used and its operating conditions were effective in removing low concentration of the antibiotic sulfamethazine.

**Key words:** HAIB. Removal. Sulfamethazine.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vias de contaminação dos corpos d'água. Fonte: Aquino et al.(2013) (12).....	18
Figura 2 - Estrutura química das sulfonamidas .....	19
Figura 3 - Estrutura química da sulfametazina.....	20
Figura 4 - Etapas experimentais .....	25
Figura 5 - Configuração reator RAHLF .....	26
Figura 6 - Reator RAHLF em bancada antes a inoculação .....	27
Figura 7 - Reator RAHLF após a inoculação .....	28
Figura 8 - Pontos intermediários de coleta .....	30
Figura 9 - Equipamento utilizado para digestão da DQO .....	31
Figura 10 -Espectrofotômetro usado para a análise da DQO .....	31
Figura 11 -Equipamento LC-MS/MS .....	32
Figura 12 - Potenciômetro usado na medida de pH .....	33
Figura 13 - Equipamento usado para análise de ácidos voláteis .....	34
Figura 14 – Variação da vazão ao longo da operação.....	38
Figura 15 -Variação do pH do afluente e efluente.....	39
Figura 16 - Relação alcalinidade intermediaria e parcial do efluente .....	40
Figura 17 - DQO afluente, efluente e eficiência do reator RAHLF .....	42
Figura 18 - Perfil cinético de remoção de matéria orgânica com pontos amostrais e perfil ajustado ( $R^2 = 0,990$ ) .....	43
Figura 19 - Variação da concentração de antibiótico no efluente ao longo das primeiras 24 horas .....	45
Figura 20 - Concentração do antibiótico afluente, efluente e eficiência do reator RAHLF.....	46
Figura 21 - Perfil cinético de remoção do antibiótico sulfametazina ( $200 \text{ ng L}^{-1}$ ) com pontos amostrais e perfil ajustado ( $R^2 = 0,980$ ) .....	48
Figura 22 - Perfil cinético de remoção do antibiótico sulfametazina ( $400 \text{ ng L}^{-1}$ ) com pontos amostrais e perfil ajustado ( $R^2 = 0,989$ ) .....	49
Figura 23 - Perfil cinético de remoção do antibiótico sulfametazina ( $600 \text{ ng L}^{-1}$ ) com pontos amostrais e perfil ajustado ( $R^2 = 0,920$ ) .....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens do tratamento anaeróbio .....	22
Tabela 2 – Concentração limite de sulfametazina em carnes, leite e pescado. ....	24
Tabela 3 – Reagentes e concentrações utilizados para o esgoto lab-made. ....	28
Tabela 4 – Volume da solução de sulfametazina para diferentes concentrações.....	29
Tabela 5 – Equações e constantes cinéticas para os diversos perfis realizados em relação à degradação da matéria orgânica. ....	43
Tabela 6 – Valores de concentração de antibiótico sulfametazina e eficiência do reator .....	46
Tabela 7 – Constantes cinéticas para degradação em diferentes concentrações de sulfametazina .....	50
Tabela 8 – Valor - p obtido na comparação das eficiências das diferentes concentrações .....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Af.:	Afluente
Al:	Alcalinidade intermediária
Ap:	Alcalinidade parcial
Cao:	Concentração Inicial de sulfametazina
Cres:	Concentração residual de sulfametazina
DQO:	Demanda Química de Oxigênio
E:	Eficiência
Ef.:	Efluente
k:	Constante cinética de degradação
RAHLF:	Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo
Sulf. Af.:	Concentração do antibiótico sulfametazina no afluente
Sulf. Ef.:	Concentração do antibiótico sulfametazina no efluente
TDH:	Tempo de detenção hidráulica
LC – MS/MS:	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial
SPE online:	Extração em fase sólida em modo online

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Breve histórico dos micropoluentes no meio ambiente</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2</b>	<b>Fármacos e sua via de exposição para o meio ambiente</b> .....	<b>18</b>
<b>3.3</b>	<b>Antibióticos</b> .....	<b>19</b>
<b>3.4</b>	<b>Sulfametazina</b> .....	<b>19</b>
<b>3.5</b>	<b>Sulfonamidas no meio ambiente</b> .....	<b>20</b>
<b>3.6</b>	<b>Eficiência de remoção de fármacos em tratamento de efluentes</b> .....	<b>21</b>
<b>3.7</b>	<b>Mecanismo de digestão anaeróbia</b> .....	<b>21</b>
<b>3.8</b>	<b>Utilização do tratamento anaeróbio para a remoção de antibióticos</b> .....	<b>23</b>
<b>3.9</b>	<b>Legislação Brasileira</b> .....	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1</b>	<b>Instalações experimentais</b> .....	<b>25</b>
<b>4.2</b>	<b>Descrição do reator</b> .....	<b>26</b>
<b>4.3</b>	<b>Inóculo</b> .....	<b>27</b>
<b>4.4</b>	<b>Substrato</b> .....	<b>28</b>
<b>4.5</b>	<b>Antibiótico sulfametazina</b> .....	<b>29</b>
<b>4.6</b>	<b>Métodos analíticos</b> .....	<b>29</b>
<b>4.6.1</b>	<i>Análises físico-químicas para monitoramento</i> .....	<b>29</b>
<b>4.6.2</b>	<i>Análise de demanda química de oxigênio (DQO)</i> .....	<b>30</b>
<b>4.6.3</b>	<i>Análises para detecção da sulfametazina</i> .....	<b>31</b>
<b>4.6.4</b>	<i>Alcalinidade</i> .....	<b>32</b>
<b>4.6.5</b>	<i>Ácidos orgânicos</i> .....	<b>33</b>
<b>4.6.6</b>	<i>Teste estatístico de hipótese t de Student</i> .....	<b>34</b>
<b>4.7</b>	<b>Equações</b> .....	<b>35</b>
<b>4.7.1</b>	<i>Cálculo da eficiência de remoção da matéria orgânica e do antibiótico sulfametazina</i> .....	<b>35</b>
<b>4.7.2</b>	<i>Balanço de massa para reator tubular ideal (plug-flow)</i> .....	<b>35</b>
<b>4.7.3</b>	<i>Fórmula do decaimento cinético</i> .....	<b>36</b>
<b>4.7.4</b>	<i>Cálculo da alcalinidade</i> .....	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>

<b>5.1</b>	<b>Medição de vazão .....</b>	<b>38</b>
<b>5.2</b>	<b>Alcalinidade, pH e Ácidos orgânicos.....</b>	<b>39</b>
<b>5.3</b>	<b>Remoção da matéria orgânica .....</b>	<b>41</b>
<b>5.4</b>	<b>Cinética do processo bioquímico no reator RAHLF .....</b>	<b>42</b>
<b>5.5</b>	<b>Adsorção da antibiótico sulfametazina .....</b>	<b>44</b>
<b>5.6</b>	<b>Remoção do antibiótico sulfametazina .....</b>	<b>45</b>
<b>5.7</b>	<b>Cinética de degradação do antibiótico sulfametazina .....</b>	<b>47</b>
<b>5.8</b>	<b>Comparação estatística entre valores cinéticos de degradação da sulfametazina</b>	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>52</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O avanço da tecnologia e a busca por melhores condições de vida têm levado a indústria farmacêutica a desenvolver produtos que ajudem a prolongar e melhorar a qualidade de vida das pessoas e animais.

Os produtos de uso pessoal, analgésicos, anti-inflamatórios e os antibióticos formam um grupo de poluentes emergentes, os quais têm seu uso acelerado pelos benefícios gerados. E ao contrário dessa tendência, os praguicidas e os fungicidas tem apresentado diminuição do seu uso pela legislação que está restritiva quanto a sua utilização e conscientização da população dos malefícios que causam à saúde, enquanto a utilização de fármacos não apresentam essa tendência, e sim um crescimento devido à busca pelo aumento do bem estar e da perspectiva de vida.

Esses poluentes ao serem ingeridos são excretados (urina e fezes) na sua forma não-biotransformada, bem como biotransformada. (1)

Nesse contexto, os tratamentos convencionais utilizados para águas residuárias não apresentam grande eficiência de remoção desses micropoluentes, principalmente dos antibióticos, podendo gerar grandes problemas, como a possível seleção de bactérias resistentes. Schmidt e Cardoso (2003) encontraram bactérias *Salmonella sp.* resistentes à antimicrobianos em um sistema de tratamento de dejetos suínos que apresentaram elevada resistência aos antibióticos da classe sulfonamida. (2)

Além do mais ainda não se conhece todos os efeitos dos fármacos e de seus metabólitos, bem como o efeito causado pela presença de múltiplos micropoluentes no ambiente. Portanto, busca-se novas alternativas para o tratamento desses fármacos, principalmente dos antibióticos da classe das sulfonamidas, que são amplamente utilizados na suinocultura e avicultura.

Nesse contexto, estudou-se a remoção de antibiótico sulfametazina em um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF), o qual apresenta fluxo contínuo com líquido escoando no sentido axial. Essa configuração se aproxima de um reator tubular ideal, tendo melhor desempenho se comparado a um reator de mistura perfeita, com o mesmo tempo de detenção hidráulica (3), levando em consideração a não ocorrência de inibições de qualquer natureza, tendo esse desempenho em condições de idealidade. Esse é comprovadamente um

reator eficiente na remoção de compostos recalcitrantes, como etanol e benzeno (4) e aparece como potencial ferramenta para a remoção de antibióticos presentes em águas residuárias.

O reator RAHLF encontra-se a uma temperatura de 30,0°C e foi utilizado para o estudo da remoção da sulfametazina com diferentes concentrações (200, 400 e 600 ng L<sup>-1</sup>). Possui volume total de 2,50 L, volume útil de 1 L, comprimento de 100 cm e diâmetro interno de 5,00 cm.

## 2 OBJETIVOS

O objetivo geral desse projeto foi avaliar a remoção do antibiótico sulfametazina usando um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF).

### 2.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos considerados foram:

- I. Determinar a eficiência de remoção do antibiótico sulfametazina em diferentes concentrações no tempo de detenção hidráulico (TDH) de 12 horas;
- II. Avaliar a eficiência da remoção da matéria orgânica;
- III. Estimar parâmetros cinéticos de remoção da matéria orgânica no reator RAHLF;
- IV. Estimar parâmetros cinéticos de remoção do antibiótico sulfametazina em três diferentes níveis de concentrações (200, 400 e 600 ng L<sup>-1</sup>) no reator RAHLF.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Breve histórico dos micropoluentes no meio ambiente

Os fármacos podem ser divididos em diversas classes de medicamentos como os analgésicos, antibióticos, reguladores endócrinos, anti-inflamatórios, produtos de higiene pessoal. Assim, o termo micropoluentes também se aplica a esses contaminantes emergentes e deriva da ocorrência deles no meio ambiente, em concentrações que variam de microgramas por litro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) até a nanogramas por litro ( $\text{ng L}^{-1}$ ). (5)

Nesse contexto de contaminação do meio ambiente, iniciou-se os estudos principalmente devido à ocorrência de câncer no sistema reprodutivo de filhas das mulheres que entre os anos de 1940 e 1970 utilizaram dietilestilbestrol, um medicamento utilizado para evitar aborto. (6) E entre 1938 e 1990, Carlsen *et al.* (1992) observaram o declínio da qualidade do sêmen dos homens. (7)

Em relação à exposição dos animais, em 1995 anomalias no sistema reprodutivo de jacarés foram correlacionadas devido à contaminação com pesticidas (7), e feminilização de peixes no Reino Unido causada por compostos estrogênicos. (8)

Assim sucessivas mudanças, principalmente em animais foram identificadas como a diminuição da eclosão de ovos de pássaros e peixes, problemas nos sistemas reprodutivos de pássaros e mamíferos, bem como alterações no sistema imunológico de mamíferos, principalmente em ecossistemas aquáticos (6), pois é o principal corpo receptor de efluentes brutos.

Entre todas essas modificações, uma de grande interesse para o presente estudo foi a identificação de bactérias resistentes às sulfonamidas em rios dos Estados Unidos. (9)

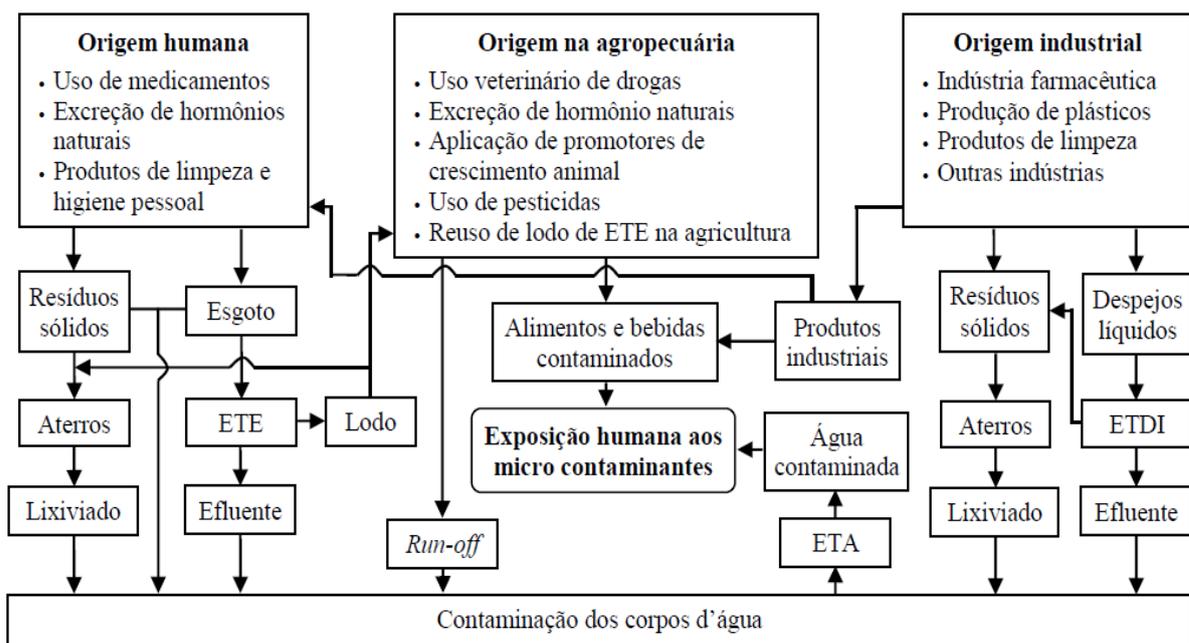
Dentro do grande grupo de micropoluentes, o estudo da ocorrência dos antibióticos no meio ambiente ganhou evidência em virtude da seleção de bactérias resistentes, o que pode gerar grandes problemas de saúde pública, e a resistência e toxicidade que seus metabólitos apresentam no ambiente.

### 3.2 Fármacos e sua via de exposição para o meio ambiente

Os fármacos são compostos ativos com peso molecular entre 200 e 1000 Da, que tem o objetivo de promover efeitos biológicos específicos nos organismos (10), podendo apresentar características polares ou não-polares, e aplicadas para diversos fins, sendo que sua eliminação ocorre na forma de metabólito ou não-metabolizada.

O metabolismo de um fármaco começa com várias reações bioquímicas incluindo hidrólise, hidroxilação, redução e epoxidação, reações onde os grupos funcionais (-OH, -SH, -NH<sub>2</sub> e -COOH) são introduzidos no composto original (fase I). Em seguida moléculas endógenas, polares, como sulfato e aminoácidos se unem aos fármacos ou metabólitos da transformação da fase I, para gerar novos conjugados (fase II), que são solúveis em água e então podem ser excretados pela urina. (11)

Após serem excretados, esses medicamentos atingem as redes de coleta de esgoto por meio de lançamentos das águas cinza, que são provenientes de lavatórios, chuveiros ou águas negras, que possuem rejeitos fecais e urina. Outra rota comum é o descarte em instalações sanitárias de medicamentos não usados ou com prazo de validade expirado. Ainda existem outros inúmeros mecanismos de entrada de fármacos no ambiente, conforme foi destacado na Figura 1.



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

Figura 1 - Vias de contaminação dos corpos d'água. Fonte: Aquino *et al.*(2013) (12)

### 3.3 Antibióticos

Entre os fármacos, os antibióticos são utilizados em animais e humanos em tratamentos profiláticos, até mesmo terapêuticos. E muitos desses antibióticos são obtidos por meio de certos micro-organismos, mas também podem ser sintéticos. (13)

Antibióticos da classe sulfonamida são largamente usados e, conseqüentemente, encontrados no ambiente. Tais compostos são anfóteros e de característica polar, o que auxilia a sua solubilidade em água. Esses antibióticos são usados, principalmente na avicultura, e na suinocultura e, de acordo com García-Galán *et al.* (2008) (14), cerca de 2,3% do total de antibióticos usados nos Estados Unidos são dessa classe.

### 3.4 Sulfametazina

As sulfonamidas (Figura 2) eram utilizadas para o tratamento de infecções bacterianas em humanos, porém atualmente apresentam seu uso limitado em virtude da ocorrência de processos alérgicos em alguns pacientes. (15) Já para aplicações veterinárias ainda são muito utilizados na aquicultura, e principalmente na suinocultura e avicultura como promotores de crescimento. Esses compostos são anfóteros e de característica polar, com alta solubilidade em água, o que confere mobilidade no meio ambiente. (16)

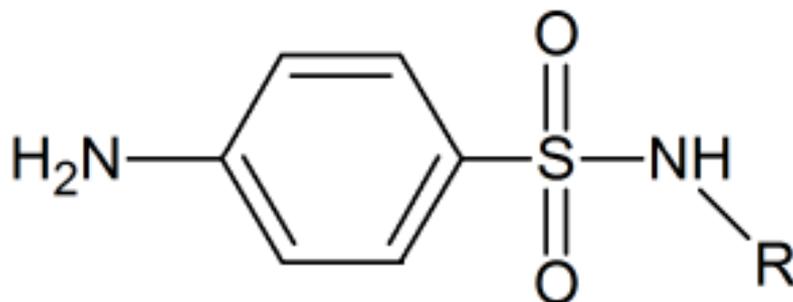


Figura 2 - Estrutura química das sulfonamidas

A sulfametazina é um composto pertencente à classe das sulfonamidas, e possui estrutura química apresentada na Figura 3, podendo notar a presença da ligação que dá nome ao grupo, grupo sulfonamida (-SO<sub>2</sub>NH), a qual é muito estável, dificultando sua biodegradação no ambiente. (17)

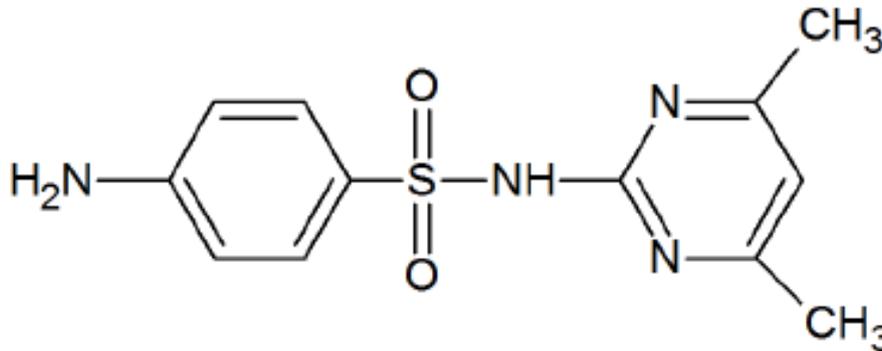


Figura 3 - Estrutura química da sulfametazina

A sulfametazina possui estrutura básica das sulfonamidas acrescida de um anel de pirimidina e dois grupos metilas. É encontrada na forma de composto branco, com massa molar de 278,33 g mol<sup>-1</sup> e não apresentam atividade óptica, uma vez que não possuem centro de assimetria.

### 3.5 Sulfonamidas no meio ambiente

Os antibióticos são divididos de acordo com a sua estrutura química, ou com o mecanismo de ação que têm sobre os organismos, sendo que a maioria atua inibindo a síntese de compostos celulares básicos, como ácidos nucleicos e proteínas. Assim, as sulfonamidas atuam tanto em micro-organismos gram-positivos como em gram-negativos. (18)

O problema dos antibióticos, mais especificamente das sulfonamidas, no meio ambiente não é apenas a seleção de organismos resistentes a esses compostos, mas também a elevada resistência à biodegradação, fazendo com que se acumulem no ambiente.

A sulfametazina é excretada em até 65%, 24 horas após a sua ingestão (18), e grande parte dessas excretas são metabólitos, que podem ser menos ativos e menos tóxicos, porém alguns continuam biologicamente ativos, apresentando grande risco ao meio ambiente. (19)

### **3.6 Eficiência de remoção de fármacos em tratamento de efluentes**

Os fármacos, incluindo os antibióticos, apresentam reações adversas no meio ambiente como toxicidade aquática, desregulação endócrina, e infelizmente, o seu comportamento no ambiente ainda não é muito conhecido, porém sabe-se que quando presentes no esgoto a eliminação pode ocorrer por adsorção em sólidos suspensos e biodegradação.

A adsorção depende das características como hidrofobicidade e interações eletrostáticas, o que determinará se o fármaco irá interagir com as partículas ou com os micro-organismos. Já a biodegradação ocorrerá se o composto químico estiver presente na fase dissolvida e sua eliminação poderá ocorrer principalmente durante as etapas do tratamento de esgoto, de modo aeróbio ou anaeróbio. (11)

Medidas de diferença de concentração entre afluente e efluente em sistemas de tratamento convencionais de água e esgoto mostram que esses compostos não são degradados, fazendo-se necessárias a busca por novas tecnologias de tratamento para uma melhor remoção.

### **3.7 Mecanismo de digestão anaeróbia**

Até aproximadamente 1960, o processo aeróbio era utilizado para tratamento de águas residuárias, porém, com a situação energética de 1970, o panorama alterou-se e a digestão anaeróbia passou a ser utilizada, pois apresenta como vantagem em relação à primeira a possibilidade de utilização do metano produzido durante esse metabolismo como fonte de energia. (20)

A diferença entre a digestão aeróbia e a anaeróbia é que na segunda ocorre sem a presença de oxigênio, que atua como um oxidante para a matéria orgânica, a produção de lodo é menor que na primeira, e há produção de biogás, como metano e dióxido de carbono. (21)

A Tabela 1 apresenta algumas vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios.

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens do tratamento anaeróbio

<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Baixo consumo de energia	As bactérias anaeróbias podem sofrer inibição por diversos compostos
Baixa demanda de área	Necessidade de pós-tratamento
Tolerância a elevadas cargas orgânicas	Bioquímica e processo de digestão complexas
Produção de metano	Geração de mau odores
Baixa produção de sólidos	Baixa remoção de nitrogênio, fósforo e patógenos
Baixo consumo de nutrientes	

Fonte: Adaptado de Chenicharo (1997) (22)

A digestão anaeróbica converte compostos orgânicos formados por grandes moléculas como proteínas, lipídios e carboidratos, em moléculas menores que originarão o biogás e o lodo, para isso passam por quatro etapas básicas (23), sendo elas:

- Hidrólise: Consiste na quebra de moléculas com elevado peso molecular, como lipídios, proteínas e carboidratos em moléculas menores, como ácido graxos, aminoácidos, mono e dissacarídeos que podem atravessar a parede de microrganismos fermentativos.
- Acidogênese: As bactérias fermentativas irão metabolizar os produtos convertendo-os em produtos ainda mais simples, como ácidos graxos voláteis, álcoois, ácido lático, gás carbônico, amônia, entre outros.
- Acetogênese: As arqueas acetogênicas transformam os produtos gerados na acidogênese em hidrogênio, dióxido de carbono e acetato.
- Metanogênese: É a etapa final da digestão anaeróbia, onde os produtos da acetogênese são convertidos em metano e dióxido de carbono por meio das arqueas metanogênicas. Nessa etapa é determinada a velocidade do processo de digestão.

### 3.8 Utilização do tratamento anaeróbio para a remoção de antibióticos

As águas residuárias quando tratadas podem passar por três principais tratamentos, sendo eles: primário, secundário e terciário, sendo o último não necessário em todas as estações de tratamento.

O tratamento primário envolve a remoção dos sólidos mais grosseiros, de areia e gordura evitando que ocorram danificações de equipamentos. Em seguida passa pelo tratamento secundário, que geralmente é biológico e há a remoção de matéria orgânica e outros nutrientes como fósforo, nitrogênio, e é nessa etapa que também entra a remoção de fármacos como os antibióticos. E por último, o tratamento terciário, que envolve a cloração ou radiação ultravioleta. (24)

Em todos os processos de tratamento, principalmente quando há tratamento biológico é de extrema importância controlar o tempo de detenção hidráulica (TDH), ou seja o tempo que cada partícula permanecerá em contato com os micro-organismos, o que auxiliará uma maior ou menor degradação da matéria orgânica presente no efluente, implicando na eficiência do tratamento.

### 3.9 Legislação Brasileira

Na Legislação Brasileira há duas principais referências em relação ao uso, restrição e quantidades de ingestão diária admissível de diversos fármacos, entre eles o antibiótico sulfametazina.

A Resolução RDC n°53, de 2 de Outubro de 2012 do Ministério da Saúde/ANVISA (25) dispõe sobre o Regulamento Técnico Mercosul – metodologias analíticas, ingestão diária admissível e limites máximos de resíduos para Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal.

De acordo com a RDC n 53/2012, o limite máximo de resíduos de sulfametazina em bovinos, ovinos, aves, equinos e suínos é de 100 ug kg<sup>-1</sup> para rim, fígado, músculo e leite. Já para a ingestão diária admissível é de no máximo 50 ug kg<sup>-1</sup>.

A Instrução Normativa nº 11, de 05 de maio de 2014, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (26) dispõe sobre o controle nacional de resíduos em produtos de origem animal, e para selecionar medicamentos que devem ser monitoradas, considerando a necessidade de monitorar os fármacos que possam estar presentes nesses produtos e gerar a toxicidade para a saúde do consumidor, potencial de exposição crônica da população, sendo que a presença desses compostos é uma barreira para a exportação de produtos de origem animal.

Nesse contexto, a sulfametazina é controlada nos resíduos de carne, leite e pescado, cujos programas e respectivas concentrações limites desses compostos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Concentração limite de sulfametazina em carnes, leite e pescado.

	<b>Concentração limite de sulfametazina (ug kg<sup>-1</sup>)</b>
Programa de Controle de Resíduo em Carne – PCRC/2000	20
Programa de Controle de Resíduos em Leite – PCRL/2000	10
Programa de Controle de Resíduo em Pescado –PCRP/2000	50

Em relação ao Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), não há legislação específica sobre quantidades limites de produtos antimicrobianos no ambiente (solo, esterco animal, água superficial, água potável e sedimentos), apenas a Resolução nº 358, de 29 de Abril de 2005 (27), que dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos de saúde, classificando produtos hormonais e antimicrobianos no Grupo B, o qual caracteriza-se por conter substâncias químicas que apresentam riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Porém, essa Resolução não lista quais compostos apresentam periculosidade, e quais formas de tratamento. Sendo assim, o desenvolvimento de novas tecnologias para tratamento de águas residuárias que contenham medicamentos, como os antibióticos, são de grande importância para o avanço e adequação da legislação brasileira.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Instalações experimentais

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 (ESSC).

O tempo de operação total foi de 252 dias, e análises de rotinas como ácidos voláteis, demanda química de oxigênio (DQO), controle da alcalinidade e de pH foram realizadas duas vezes por semana para verificação da estabilidade e eficiência de remoção do reator em questão. A Figura 4 exemplifica as etapas experimentais realizadas.

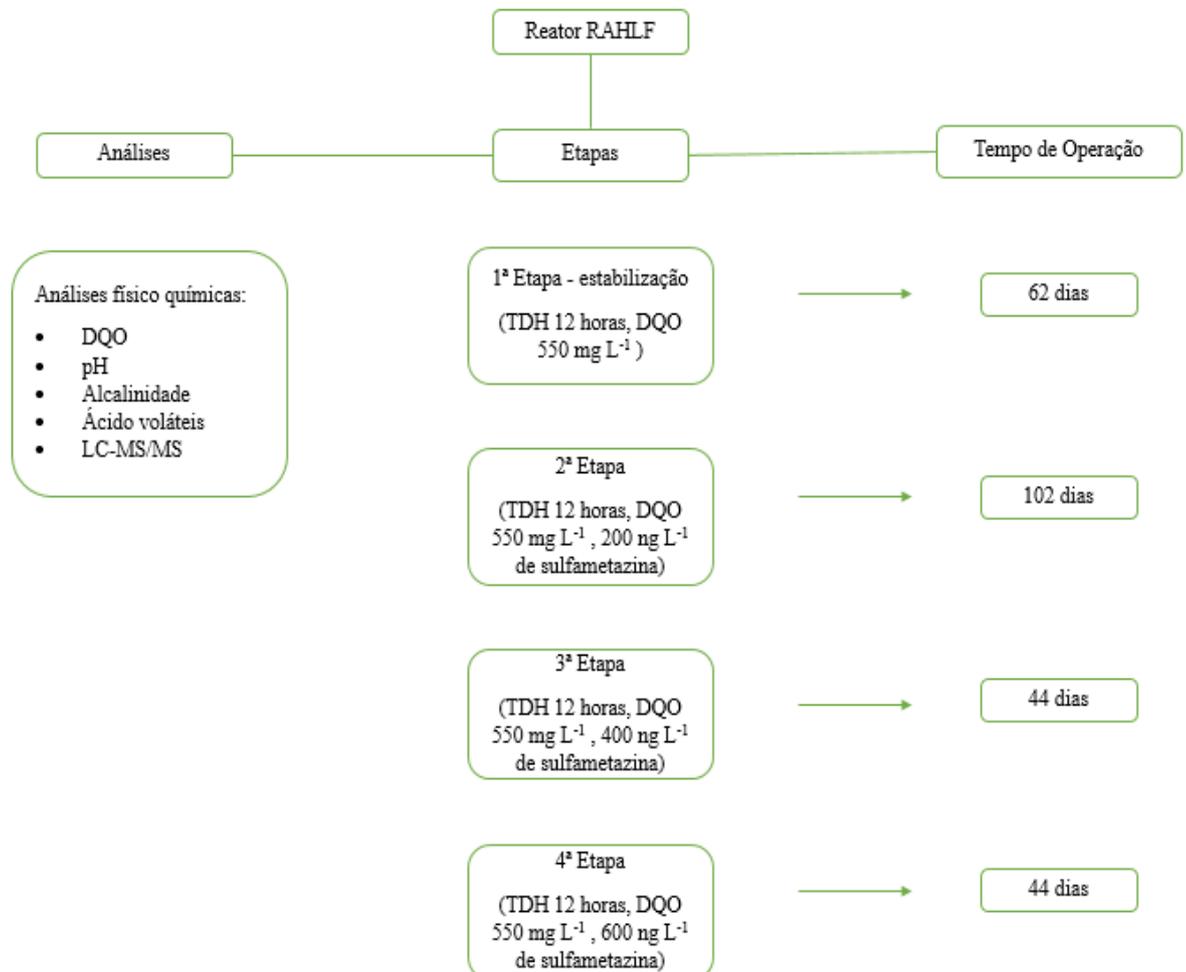


Figura 4 - Etapas experimentais

A primeira etapa foi de estabilização do reator, ou seja, esperou-se o mesmo entrar em regime permanente. Essa etapa durou 62 dias com DQO de  $550 \text{ mg L}^{-1}$  e TDH de 12 horas. Essas condições foram mantidas para as demais etapas, sendo alterada apenas a concentração de antibiótico sulfametazina.

A segunda etapa teve duração de 102 dias, com adição de uma concentração de  $200 \text{ ng L}^{-1}$  de antibiótico. Pela Figura 4 nota-se que essa etapa foi a mais extensa, pois ocorreram problemas experimentais, como a contaminação da solução de antibiótico que fornecia a concentração de  $200 \text{ ng L}^{-1}$ , ou degradação da mesma no próprio frasco, após encontrado o problema, nova solução foi feita.

Nas etapas 3 e 4, foram utilizadas concentrações de  $400$  e  $600 \text{ ng L}^{-1}$ , respectivamente, e apresentaram igual tempo de avaliação - 44 dias.

## 4.2 Descrição do reator

O reator encontra-se em câmara climatizada, em condições mesofílicas -  $30^\circ \text{ C}$ , com tempo de detenção de 12 horas.

A Figura 5 representa um reator RAHLF similar ao reator utilizado no desenvolvimento dessa pesquisa, com 5 saídas intermediárias para coleta do efluente com relação comprimento/diâmetro (L/D) representados na figura, e 4 saídas intermediárias para coleta dos gases gerados.

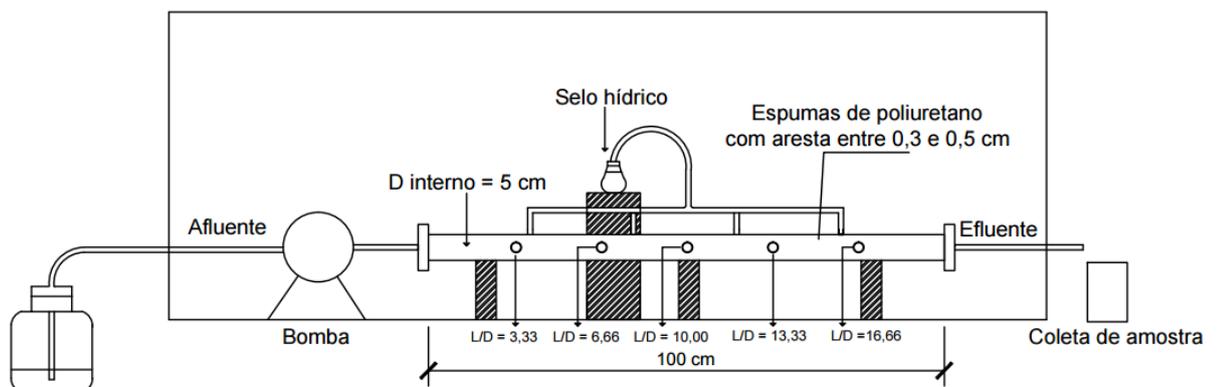


Figura 5 - Configuração reator RAHLF

O volume total do reator utilizado foi de 2,5 L, com comprimento de 100 cm e diâmetro interno de 5 cm. Devido à utilização das espumas de poliuretano o volume útil é de 1,1 L, porém há ainda um *headspace*, diminuindo o volume do reator para 1 L.

### 4.3 Inóculo

A inoculação foi realizada usando biomassa proveniente de lodo de abatedouro de aves (Avícola Dakar S/A, Tietê/SP). Para tal foram utilizadas partículas de espuma de poliuretano cortadas em cubos de 0,3 a 0,5 cm de aresta, com densidade aparente de aproximadamente 20 kg m<sup>-3</sup>, de acordo com Zaiat, M. (2003). (3)

O procedimento de inoculação do reator consistiu na maceração dos grânulos do lodo e deixado-o em contato com as espumas por 12 horas antes de serem colocadas no reator. Foram utilizadas aproximadamente 60 gramas de espumas de poliuretano e 1 litro de lodo. Esse procedimento foi de extrema importância a fim de que os micro-organismos aderissem à espuma, formando o biofilme.

As Figuras 6 e 7 mostram o reator antes da inoculação, apenas com as espumas de poliuretano e logo após ser inoculado.



Figura 6 -Reator RAHLF em bancada antes a inoculação



Figura 7 - Reator RAHLF após a inoculação

#### 4.4 Substrato

O substrato foi uma água residuária *lab-made*, que mimetiza a composição do esgoto sanitário, contendo macro e micronutrientes necessários para os micro-organismos presente no lodo, segundo trabalho de Torres (1992) (28), com algumas alterações para adaptação do pH e DQO do afluente.

Na Tabela 3 encontram-se as concentrações e os reagentes utilizados para alimentação com DQO de  $552,75 \pm 54 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ .

Tabela 3 – Reagentes e concentrações utilizados para o esgoto *lab-made*.

Reagentes	Concentração
Celulose	47,2 mg L <sup>-1</sup>
Sacarose	47,8 mg L <sup>-1</sup>
Amido	148 mg L <sup>-1</sup>
Bicarbonato	330 mg L <sup>-1</sup>
Extrato de carne	285 mg L <sup>-1</sup>
Solução de sais	1 mL L <sup>-1</sup>
Detergente	1 mL L <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 mL L <sup>-1</sup>
Óleo	39,4 µL L <sup>-1</sup>

#### 4.5 Antibiótico sulfametazina

Para o preparo da solução de sulfametazina, a mesma encontrava-se na forma de pó branco e foi dissolvida em uma solução de metanol, obtendo uma solução de 1017,72 mg L<sup>-1</sup> de sulfametazina. A partir dessa solução preparou-se uma solução menos concentrada para ser usada diretamente no esgoto *lab-made*, de 95 mg L<sup>-1</sup>, que foi armazenada em um refrigerador.

Para cada etapa de operação, ou seja, para cada concentração de antibiótico analisada usava-se um volume distinto – Tabela 4.

Tabela 4 – Volume da solução de sulfametazina para diferentes concentrações

Concentração de sulfametazina (ng L <sup>-1</sup> )	Volume (μL L <sup>-1</sup> )
200	2,10
400	4,20
600	6,30

#### 4.6 Métodos analíticos

##### 4.6.1 Análises físico-químicas para monitoramento

O monitoramento do reator foi realizado por meio de amostras do afluente e efluente coletados duas vezes na semana, sendo que após a estabilização do reator, uma vez por mês foi realizado o perfil amostral de todo reator, por meio de coleta do efluente nos cinco pontos intermediários do reator – Figura 8.

Os pontos intermediários do reator variam com TDH de 2 horas, completando o total de 12 horas.

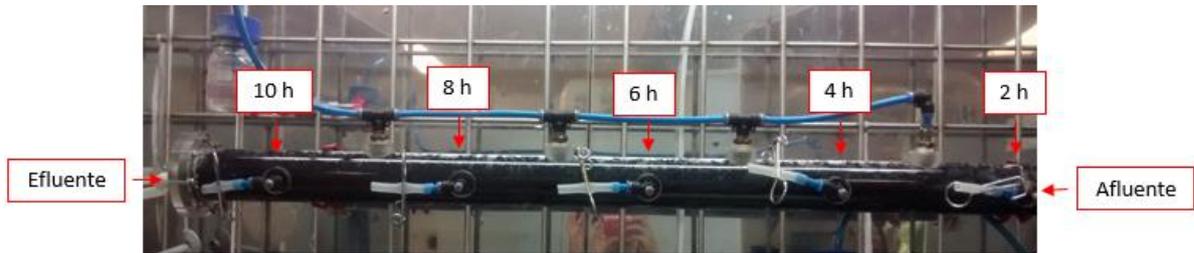


Figura 8 - Pontos intermediários de coleta

#### 4.6.2 Análise de demanda química de oxigênio (DQO)

Essa análise é um método indireto para determinação da matéria orgânica do meio em  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ .

Para a realização da análise pipetava-se 2,50 mL de amostra, com auxílio de uma pipeta com volume entre 0,500 e 5,00 mL, em um tubo HACH. Em seguida, foram adicionados 1,50 mL de solução de dicromato de potássio e 3,50 mL de solução de ácido sulfúrico, agitava-se, e então deixava as amostras digerindo por 120 minutos (Figura 9), em uma temperatura de  $150^\circ\text{C}$ . Após atingir o tempo necessário, esperava-se esfriar e então realizava-se a leitura da absorbância da amostra (Figura 10), a qual é convertida em  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ .

Para a leitura, também é necessário realizar um branco, o qual ao invés de ser colocado à amostra desejada, pipetava-se água destilada, dicromato de potássio e ácido sulfúrico, nas mesmas proporções descritas acima.

Esse procedimento foi realizado duas vezes na semana tanto para os afluentes quanto para os efluentes, ambos em triplicata. Vale ressaltar que inicialmente realizava-se a determinação da DQO total e coloidal, por meio das amostras brutas e filtradas em membrana  $1,20 \mu\text{m}$ , com auxílio de um filtro a vácuo, porém com a estabilização do reator ambas análises apresentavam resultado abaixo do limite de quantificação da absorbância do aparelho, que é de  $50,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , assim passou-se a determinar apenas a DQO na fração total.



Figura 9 - Equipamento utilizado para digestão da DQO



Figura 10 -Espectrofotômetro usado para a análise da DQO

#### 4.6.3 Análises para detecção da sulfametazina

A avaliação da remoção da sulfametazina foi realizada por análises cromatográficas usando cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) – Figura 11. Esse equipamento foi recentemente adquirido pelo Laboratório de Processos Biológicos (LPB), sendo um equipamento multiusuário, da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-3 USP, AP.EMU3 2009/54040-8). Essas análises foram realizadas pelo técnico contratado para operar esse equipamento, com método desenvolvido e validado para tal finalidade.

O método utiliza a configuração de SPE *online*, ou seja, após a extração da fase sólida, e adequada eluição dos analitos, o eluato é analisado sem que necessite ser transferido manualmente (29). Esse método é vantajoso, pois inibe a contaminação do operador e das amostras, além de utilizar pequenos volumes das mesmas, gerando resultados com maior precisão, menor tempo de análise e consumo de solventes.

Para isso, a amostra foi acidificada com ácido fórmico 98% até um pH entre 3,00 a 3,30, em seguida filtrada em membranas com 0,70  $\mu\text{m}$  seguida de 0,22  $\mu\text{m}$ , com o objetivo de reter o analito de interesse presente na amostra. As amostras foram armazenadas em tubos *falcon* de 15,0 mL e em local refrigerado.



Figura 11 -Equipamento LC-MS/MS

#### 4.6.4 Alcalinidade

A alcalinidade é originada de ácidos fracos e suas bases conjugadas, além do metabolismo microbiano, o qual gera gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ), e também altera a alcalinidade do meio. Logo, essa análise auxilia na identificação da capacidade de tamponante do meio, ou seja, mede a capacidade do efluente em resistir a pequenas variações do pH da solução devido à produção de ácidos orgânicos.

Para realização dessa análise utilizou-se a metodologia de Dillalo e Albertson (1961) modificada por Ripley (1986) (30), onde 50,0 mL de amostras foram filtradas em membranas 1,20  $\mu\text{m}$ , e em seguida, realizou-se a titulação com ácido sulfúrico. Com o auxílio de um

pHmêtro (Figura 12), verificava-se o pH enquanto titulava-se, para identificar o volume necessário para baixar o pH primeiramente até 5,75, e em seguida até 4,30. O primeiro pH representa a alcalinidade parcial, que aproxima-se da alcalinidade proveniente do monohidrogeno carbonato (bicarbonato) adicionado no afluente, e a segunda alcalinidade intermediária, representando os ácido voláteis.

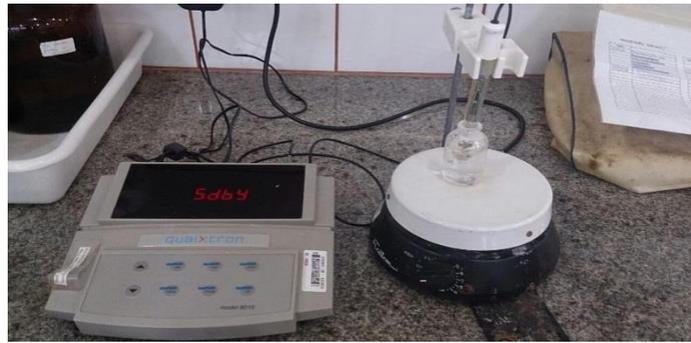


Figura 12 - Potenciômetro usado na medida de pH

#### 4.6.5 Ácidos orgânicos

Para determinação dos ácidos voláteis utilizou-se a técnica de cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) com método implementado e validado no próprio LPB-EESC (Figura 13), seguindo método descrito por Adorno e colaboradores (2014). (31).

Para isso as amostras foram congeladas ao longo da operação, e então foram realizadas as análises duas vezes durante o período de operação, preparando a amostra adequadamente usando 1,00 g de cloreto de sódio previamente dessecado, 2,00 mL de amostra acidificada com ácido sulfúrico ( $2 \text{ mol L}^{-1}$ ), sendo acrescentadas soluções de padrão interno: 2 mL de isobutanol e 100 uL ácido crotônico.

Essa análise é de grande importância pois separa e quantifica os ácidos produzidos durante o processo de digestão anaeróbia, auxiliando na identificação da rota metabólica que ocorreu no reator, sendo a rota desejada a metanogênese.



Figura 13 - Equipamento usado para análise de ácidos voláteis

#### 4.6.6 Teste estatístico de hipótese *t* de Student

A comparação entre os valores de constantes cinéticas para a remoção do antibiótico sulfametazina, foi realizada por meio do teste estatístico de hipótese *t* de Student, que tem como objetivo avaliar a diferença estatística entre média de dois grupos.

Para realização do teste utilizou-se os valores de eficiência de remoção do antibiótico de sulfametazina para as concentrações de 200 ng L<sup>-1</sup>, 400 ng L<sup>-1</sup> e 600 ng L<sup>-1</sup>. As comparações foram realizadas a fim de que as três concentrações testadas fossem comparadas entre si.

- 1ª Comparação: Concentrações de 200 ng L<sup>-1</sup> e 400 ng L<sup>-1</sup>;
- 2ª Comparação: Concentrações de 200 ng L<sup>-1</sup> e 600 ng L<sup>-1</sup>;
- 3ª Comparação: Concentrações de 400 ng L<sup>-1</sup> e 600 ng L<sup>-1</sup>.

O teste foi realizado com auxílio do programa computacional, e o nível de significância admitido foi de 5%.

As hipóteses consideradas foram:

- Hipótese nula (H<sub>0</sub>): Os valores de eficiência de remoção entre as concentrações estudadas são iguais;
- Hipótese alternativa (H<sub>1</sub>): o valores de eficiência de remoção entre as concentrações estudadas são diferentes.

Assim, foi obtido o valor- *p* e comparou-se com o nível de significância admitido. Caso o valor – *p* seja menor que 5%, rejeita-se a hipótese nula, ou se o valor – *p* for maior que 5%, não rejeita- se a hipótese nula.

## 4.7 Equações

### 4.7.1 Cálculo da eficiência de remoção da matéria orgânica e do antibiótico sulfametazina

A remoção da matéria orgânica foi estimada por um método indireto, o qual calcula a demanda química de oxigênio - DQO em  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ . Essa análise é essencial para avaliar o comportamento do reator, bem como quando o mesmo encontrava-se estabilizado, e conseqüentemente, pronto para receber o antibiótico.

A remoção da matéria orgânica foi analisada em espectrofotômetro, e obtida em  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , sendo que a eficiência de remoção é dada pela Equação I.

$$E (\%) = \frac{\text{DQO af} - \text{DQO ef}}{\text{DQO af}} \cdot 100 \quad \text{Equação I}$$

Onde: DQO af e DQO ef são as leituras feitas no espectrofotômetro do afluente e respectivo efluente após o TDH de 12 horas.

Já a eficiência de remoção do antibiótico foi realizada por análises cromatográficas usando cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas (LC-MS/MS).

A equação para o cálculo da eficiência da remoção de sulfametazina utiliza uma equação semelhante à da remoção da matéria orgânica, como mostra a Equação II.

$$E (\%) = \frac{\text{sulf.af} - \text{sulf.ef}}{\text{sulf.af}} \cdot 100 \quad \text{Equação II}$$

Onde: sulf. af e sulf. ef são as leituras feitas por LC-MS/MS da concentração de antibiótico sulfametazina do afluente, e respectivo efluente após o TDH de 12 horas.

### 4.7.2 Balanço de massa para reator tubular ideal (*plug-flow*)

Para determinação do reator estudado como escoamento tubular não foi realizado ensaio hidrodinâmico, porém de acordo com pesquisas anteriores utilizando diversos traçadores como: azul de bromofenol, eosina Y, mordante violeta, rodamina WT, verde de bromocresol e

principalmente a dextrana azul, o RAHLF comporta-se como reator de escoamento predominantemente tubular. (32)

Assim, o balanço de massa descrito a seguir foi realizado para um elemento de volume diferencial, considerando apenas a sulfametazina sendo convertida à um produto de degradação, não levando em consideração os seus subprodutos da degradação.

$$\left( \begin{array}{c} \text{Entrada de matéria} \\ \text{no sistema} \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \text{Saída de matéria} \\ \text{no sistema} \end{array} \right) \pm \left( \begin{array}{c} \text{Conversão de matéria} \\ \text{no sistema} \end{array} \right) = \left( \begin{array}{c} \text{Acúmulo de matéria} \\ \text{no sistema} \end{array} \right)$$

O balanço de massa em condições de idealidade – isotérmico, homogêneo e em regime permanente em um reator tubular, resulta na Equação III.

$$\text{TDH} = - \frac{\ln(1-X)}{k} \quad \text{Equação III}$$

Sendo:

X: Eficiência, determinada por:  $1 - \frac{\text{Sul. Ef.}}{\text{Sul. Af.}}$ ;

TDH: Tempo de detenção hidráulico [horas];

k: Constante cinética aparente [horas<sup>-1</sup>].

#### 4.7.3 Fórmula do decaimento cinético

Para realização do perfil cinético, tanto para a remoção da matéria orgânica, quanto para a do antibiótico seguem uma cinética de primeira ordem com residual como mostra a Equação IV semelhante à equação descrita por Camargo e colaboradores Camargo *et al.*, (2002) (33), considerando o reator como tubular ideal (*plug-flow*), ou seja isotérmico, homogêneo e em regime permanente.

$$C(t) = C_{res} + (C_{ao} - C_{res}) \cdot e^{-k \cdot \text{TDH}} \quad \text{Equação IV}$$

Onde:  $C_{res}$ , é a concentração residual [ng L<sup>-1</sup>];

$C_{ao}$ , a concentração com TDH = 0;

k, a constante cinética de degradação;

TDH, o tempo de detenção hidráulica (TDH).

#### 4.7.4 Cálculo da alcalinidade

Para cálculo da alcalinidade anotou-se o volume de ácido pipetado para atingir o pH de 5,75 e de 4,30, bem como a molaridade da solução de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) utilizado.

As equações para alcalinidade parcial, intermediária e total estão descritas a seguir.

Alcalinidade Parcial (mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) – Equação V

$$\text{Al. Parcial} = \frac{V_{\text{pH}5,75} \cdot M_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 50000}{V_{\text{amostra}}} \quad \text{Equação V}$$

Alcalinidade Intermediária (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) – Equação VI

$$\text{Al. Intermediária} = \frac{V_{\text{pH}4,30} \cdot M_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 50000}{V_{\text{amostra}}} \quad \text{Equação VI}$$

Alcalinidade total (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>) – Equação VII

$$\text{Al. Total} = \text{Al. Parcial} + \text{Al. Intermediária} \quad \text{Equação VII}$$

Onde: V<sub>pH5,75</sub> é o volume de ácido utilizado para atingir o pH de 5,75;

V<sub>pH4,30</sub> é o volume de ácido utilizado para atingir o pH de 5,75;

V<sub>amostra</sub>, volume de amostra utilizado (50 mL);

M<sub>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></sub>, a molaridade da solução de ácido sulfúrico utilizado.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Medição de vazão

Durante todo tempo de operação do reator preocupou-se em manter a vazão do reator constante, a fim de que houvesse pouca variação no tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 horas, determinado no início do projeto.

Algumas medidas foram realizadas durante as 42 semanas de operação, como a lavagem adequada das mangueiras de *tygon* de uma a duas vezes na semana, pois um polímero era formado na mangueira de alimentação do reator pelas bactérias fermentativas, o que diminuía a vazão, acarretando em um TDH maior do que o esperado.

Devido às características do reator, como volume útil de 1 litro e TDH de 12 horas, a vazão ideal da alimentação deveria ser de  $1,38 \text{ mL min}^{-1}$ . Na Figura 14 são apresentadas as medições das vazões ao longo do tempo de operação, sendo a média de  $1,24 \pm 0,220 \text{ mL min}^{-1}$ .

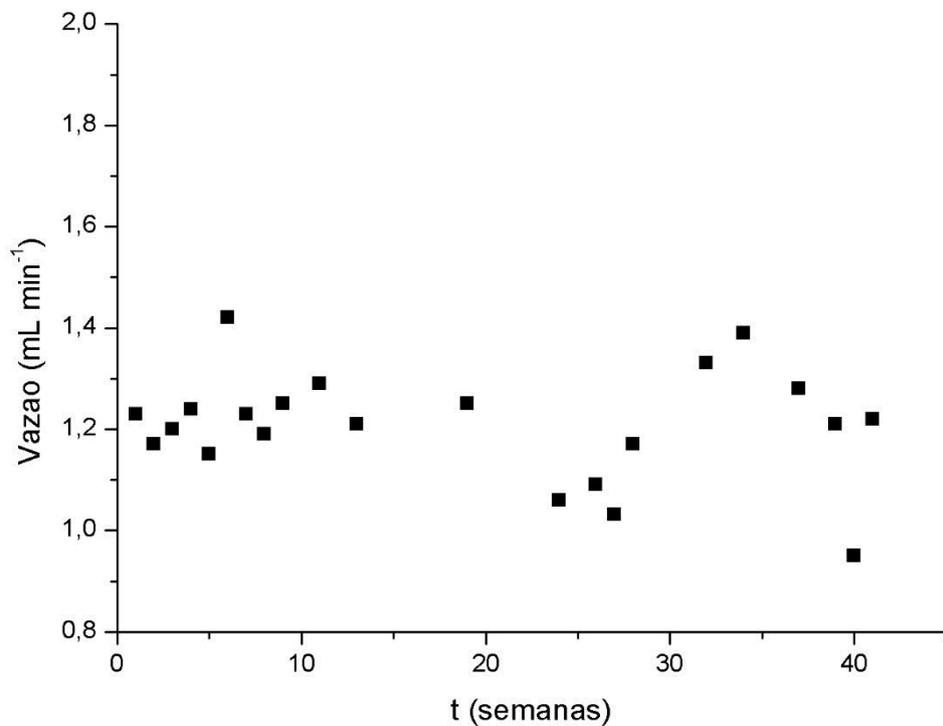


Figura 14 – Variação da vazão ao longo da operação

## 5.2 Alcalinidade, pH e Ácidos orgânicos

A alcalinidade e o pH são parâmetros importantes para garantir que a rota metabólica durante todo o tempo de operação do reator esteja direcionada para a metanogênese. O pH ideal para o projeto em questão deve ficar entre 7,00 e 8,00 pois segundo Pessôa e Jordão (2009) (34), o pH de esgoto varia entre 6,50 e 7,50 e a biota aquática requer uma faixa de pH entre 6,00 e 9,00.

Esses parâmetros são importantes de serem acompanhados, pois valores extremos de pH (muito alto ou muito baixo) podem comprometer a eficiência de remoção da matéria orgânica e da sulfametazina, por meio da inativação ou inibição dos micro-organismos.

As Figuras 15 e 16 representam a variação do pH e relação Al/AP ao longo das semanas de operação.

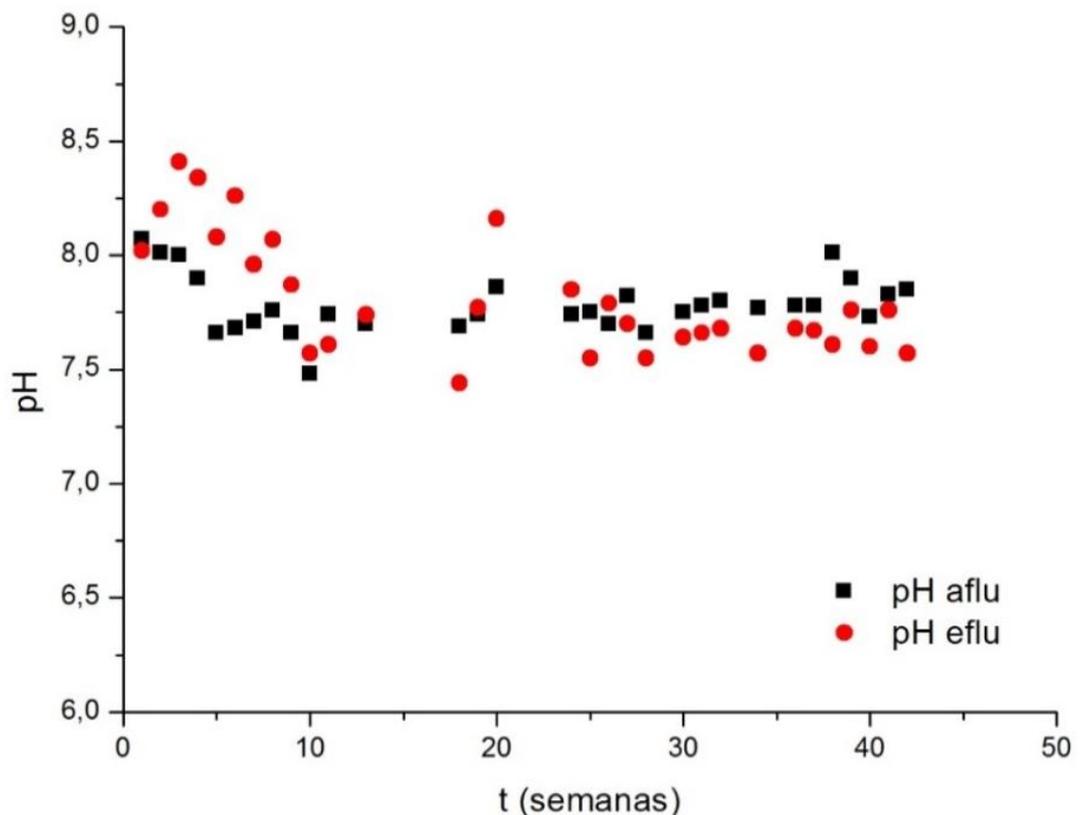


Figura 15 -Variação do pH do afluente e efluente

É possível observar uma variação do pH afluente e pH efluente, isso ocorreu devido à adaptação da alimentação do reator ao pH desejado, próximo a 7 nas primeiras semanas de operação. Após adequação do pH percebe-se que a faixa de pH do afluente e efluente variam de 7,50 a 8,25, sendo a média do pH do afluente de  $7,78 \pm 0,120$ , e o pH médio do efluente de  $7,81 \pm 0,260$ , estando ambos dentro do esperado para esgotos sanitários.

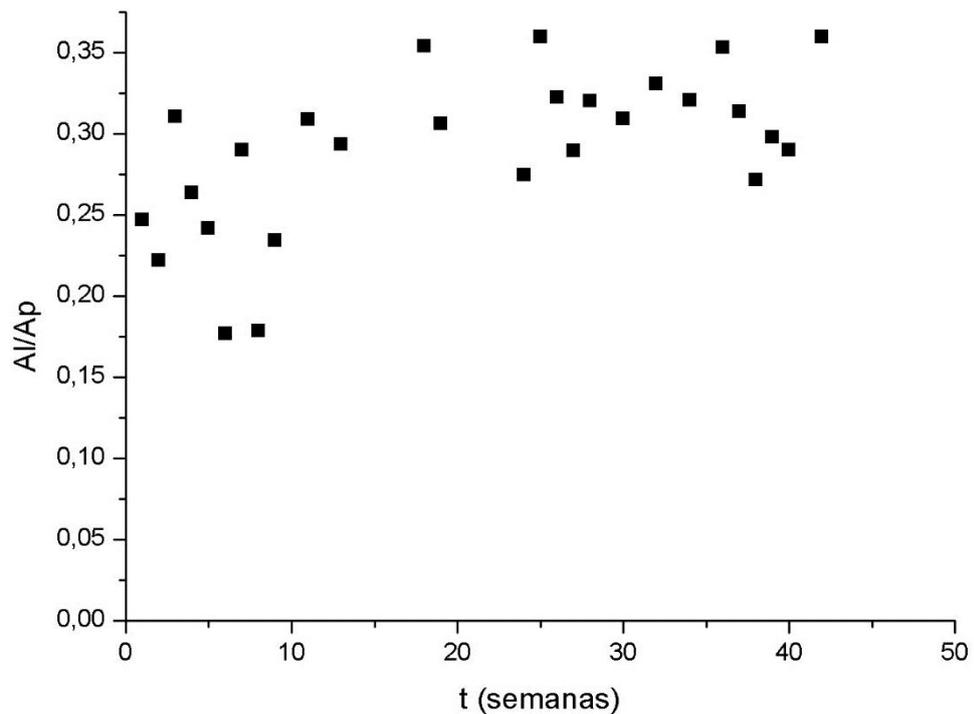


Figura 16 - Relação alcalinidade intermediária e parcial do efluente

A alcalinidade é um parâmetro de extrema importância, por isso também foi acompanhada ao longo de toda operação, pois indica a capacidade de tamponamento do meio, ou seja, a resistência que o mesmo possui na queda brusca de pH. A alcalinidade nos esgotos domésticos encontram-se na faixa de 100 a 250 mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . (35)

A alcalinidade total foi calculada de acordo com a Equação VII, e apresentou média de  $164 \pm 46,0 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . Ripley *et al.* (1986) (30) demonstra que para as estações de tratamento de esgoto (ETE) terem uma boa operação, a relação alcalinidade intermediária / alcalinidade parcial (Al/AP) deve estar próxima a 0,300 e na Figura 16, nota-se que a relação foi respeitada, sendo a média de  $0,270 \pm 0,0900$ .

Em relação aos ácidos voláteis não foi detectado nenhum tipo de ácido pelo método utilizado para sua análise, demonstrando que os ácidos estão em concentrações abaixo do limite

de detecção e quantificação do método, o que permite ter como hipótese que os ácidos estão sendo consumidos pelos micro-organismos presentes no reator. Tendo em vista a estabilização da remoção de DQO e a ausência de ácidos voláteis, tal condição demonstra que a operação está dentro rota metanogênica, conforme desejado em sistemas anaeróbios, pois se houvesse a presença de ácido como o ácido acético indicaria que arqueas acetoclásticas não estariam convertendo o mesmo em gás metano e carbônico, o que representaria uma minimização do processo metabólico da metanogênese.

### 5.3 Remoção da matéria orgânica

A remoção da matéria orgânica foi estimada por um método indireto, o qual calcula a DQO ( $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ). Essa análise foi de grande importância para avaliar o comportamento do reator, bem como quando o mesmo encontrava-se estabilizado e conseqüentemente pronto para receber o antibiótico.

A remoção da matéria orgânica foi analisada por espectrofotometria, e obtida em  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , sendo que a eficiência de remoção é dada pela Equação I.

A DQO no afluente possui média de  $552,75 \pm 54 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , estando próxima da DQO teórica de  $550 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , a qual foi prevista inicialmente. A DQO média do efluente bruto é de  $40,9 \pm 18,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , como ela encontra-se abaixo do limite de detecção do método, que é  $50,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , para fins de cálculo de eficiência usaremos o valor limite do método. Assim, a eficiência do reator para a remoção de matéria orgânica é de 91%, resultando em uma significativa remoção de matéria orgânica.

A Figura 17 mostra os dados da DQO afluente, efluente e eficiência ao longo das 42 semanas de operação. É possível perceber uma variação da concentração de DQO afluente a partir da 4ª semana, isso ocorreu devido à tentativa de adaptar a DQO à concentração estipulada em projeto, pois encontrava-se abaixo dos  $550 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ .

O antibiótico foi colocado na 8ª semana de operação, na concentração de  $200 \text{ ng L}^{-1}$ , e pela Figura 17 é possível notar que não houve alteração na eficiência de remoção da matéria orgânica conforme já esperado, e o mesmo ocorreu quando a concentração de antibiótico foi alterado para  $400 \text{ ng L}^{-1}$ , na 30ª semana, e  $600 \text{ ng L}^{-1}$ , na 37ª semana.

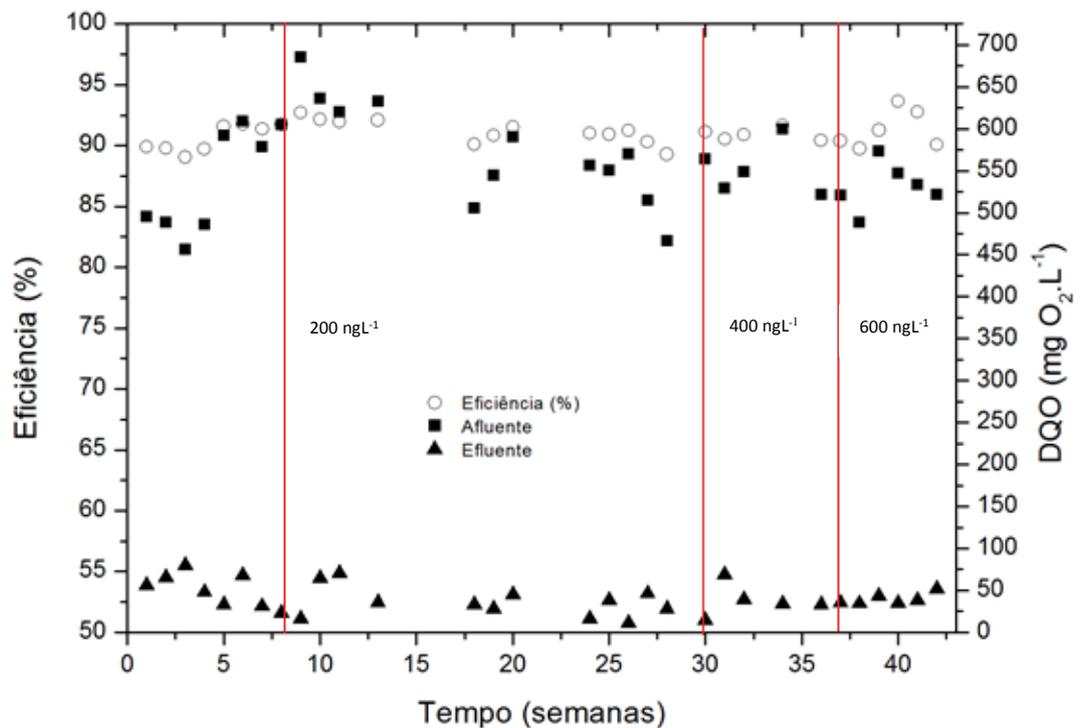


Figura 17 - DQO afluente, efluente e eficiência do reator RAHLF

#### 5.4 Cinética do processo bioquímico no reator RAHLF

Sete perfis cinéticos do reator RAHLF foram realizados, sendo que as amostras foram coletadas de cinco pontos intermediários, que possuem TDH que variam a cada duas horas completando o TDH total de 12 horas.

Ressaltando que todos os perfis foram realizados para igual concentração de matéria orgânica – 550 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, TDH de 12 horas, sendo que houve variação apenas da concentração do antibiótico sulfametazina.

A Figura 18 representa os perfis realizados para a remoção da matéria orgânica, e por meio deles é possível concluir que o reator RAHLF em estudo encontra-se estável, e que a partir do segundo ponto de coleta a degradação da matéria orgânica se estabiliza. Isso indica que há capacidade excedente no reator, portanto, se houver um aumento da vazão, a matéria orgânica ainda será removida com eficiência, uma vez que ainda existem três pontos, ou seja, mais da metade do comprimento do reator, em que os microrganismos anaeróbios ainda podem remover a matéria orgânica.

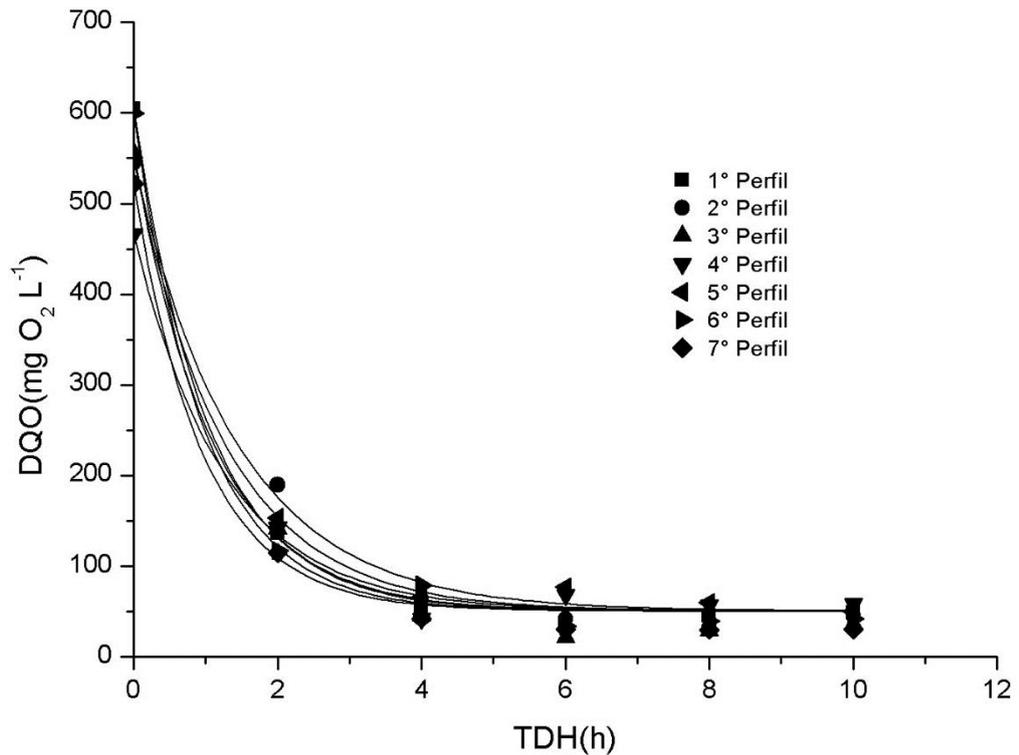


Figura 18 - Perfil cinético de remoção de matéria orgânica com pontos amostrais e perfil ajustado ( $R^2 = 0,990$ )

Os diversos perfis cinéticos estão com bom ajuste,  $R^2_{\text{méd}} = 0,990$ , e são resultados de uma equação de primeira ordem com residual. Os valores das constantes cinéticas aparentes ( $k$ ) de remoção da matéria orgânica, ao longo do comprimento do reator, bem como suas respectivas equações estão na Tabela 5.

Tabela 5 – Equações e constantes cinéticas para os diversos perfis realizados em relação à degradação da matéria orgânica.

	Equação	Constante cinética (k)	$R^2$
<b>1° Perfil</b>	$C(t)=50,0+555. e^{-0,960.TDH}$	$0,960 \text{ h}^{-1}$	0,998
<b>2° Perfil</b>	$C(t)=50,0+497. e^{-0,690.TDH}$	$0,690 \text{ h}^{-1}$	0,992
<b>3° Perfil</b>	$C(t)=50,0+507. e^{-0,910.TDH}$	$0,910 \text{ h}^{-1}$	0,988
<b>4° Perfil</b>	$C(t)=50,0+417. e^{-0,800.TDH}$	$0,800 \text{ h}^{-1}$	0,990
<b>5° Perfil</b>	$C(t)=50,0+499. e^{-0,790.TDH}$	$0,790 \text{ h}^{-1}$	0,995
<b>6° Perfil</b>	$C(t)=50,0+549. e^{-1,02.TDH}$	$1,02 \text{ h}^{-1}$	0,995
<b>7° Perfil</b>	$C(t)=50,0+473. e^{-1,03.TDH}$	$1,030 \text{ h}^{-1}$	0,990

A média da constante cinética aparente para a degradação da matéria orgânica foi de  $0,885 \pm 0,130 \text{ h}^{-1}$ .

Os valores das constantes cinéticas encontrados apresentaram pouca variação para os diferentes perfis, mostrando que o modelo de decaimento de primeira ordem com residual – Equação IV, adotado foi adequado para avaliar a remoção da matéria orgânica que ocorre ao longo do perfil do reator RAHLF estudado.

As variações das constantes cinéticas nos perfis devem-se à erros experimentais e inerentes ao método de análise. A adição do antibiótico no meio, bem como a variação dele ao longo da operação do reator, não afetaram a remoção da matéria orgânica medida na forma de DQO, notando-se que as concentrações de antibiótico utilizadas não apresentaram toxicidade para a microbiota presente no reator, visto que foram utilizadas em baixas concentrações ( $\text{ng L}^{-1}$ ).

### **5.5 Adsorção da antibiótico sulfametazina**

A adição do antibiótico foi iniciada na 8ª semana, quando o reator já estava em regime permanente, e então foram coletadas amostras após completar o tempo de detenção de 12 horas para analisar o comportamento da remoção após supostamente o antibiótico começar a ser detectado no efluente, também foi coletado um ponto 4 e 10 horas após o antibiótico ser aplicado a fim de detectar concentração de antibiótico antes do TDH esperado.

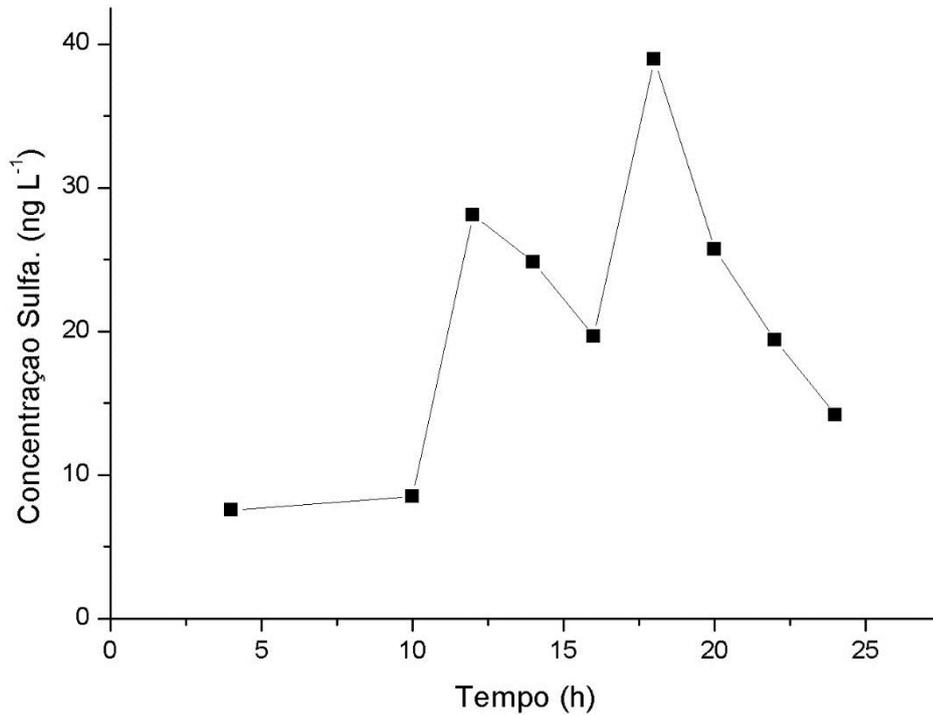


Figura 19 - Variação da concentração de antibiótico no efluente ao longo das primeiras 24 horas

De acordo com a Figura 19 é possível observar que 4 e 10 horas após a adição do antibiótico foi detectado uma concentração de antibiótico no efluente, porém o pico maior iniciou-se no TDH de 12 horas, sendo a maior concentração detectada 18 horas após a adição. Possivelmente esse atraso foi causado pelo efeito de adsorção do antibiótico nos poros das espumas. Vale ressaltar que após o pico no tempo de 18 horas, a concentração de antibiótico voltou a decair. Esse estudo ainda é preliminar sendo necessário estudar de forma mais detalhada a adsorção dos antibióticos, pois esse resultado representa a adsorção e degradação da sulfametazina, uma vez que nenhum composto foi adicionado para minimizar a perda do antibiótico no meio por biodegradação.

## 5.6 Remoção do antibiótico sulfametazina

Após as primeiras 24 horas, as amostras passaram a ser recolhida toda vez que mudava o afluente (segunda, quarta e sexta-feira) e, após completar o TDH de 12 horas, o respectivo efluente também era coletado, com o objetivo de avaliar a remoção do antibiótico sulfametazina nas condições estudadas.

A Figura 20 apresenta os valores de eficiência, concentração de sulfametazina no afluente e efluente. Nota-se que durante o período de 83 dias de operação a 110 dias não há resultados pois nesse período houveram problemas com a solução de sulfametazina. Por esse motivo o tempo de duração na concentração de 200 ng L<sup>-1</sup> foi mais longa do que as demais.

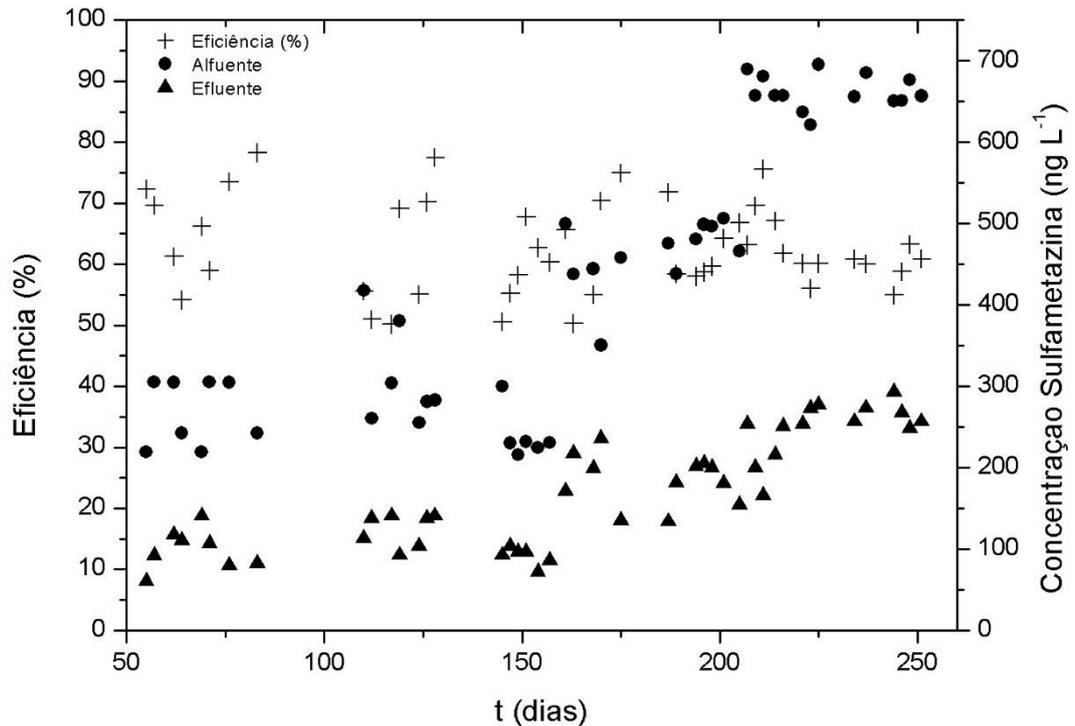


Figura 20 - Concentração do antibiótico afluente, efluente e eficiência do reator RAHLF

Ocorreram variações na concentração do afluente, como visto na figura acima, porém o efluente sempre acompanhou as mesmas, mantendo a eficiência de remoção. A variação da concentração do efluente deve-se à sensibilidade de detecção do método utilizado, bem como a erros durante a aplicação do antibiótico no afluente, como apresentado na Tabela 6. Apesar disso, a concentração de cada etapa ficou dentro do esperado.

Tabela 6 – Valores de concentração de antibiótico sulfametazina e eficiência do reator

	200 ng L <sup>-1</sup>	400 ng L <sup>-1</sup>	600 ng L <sup>-1</sup>
<b>Dias de operação</b>	102	44	44
<b>Afluente (ng L<sup>-1</sup>)</b>	234 ± 22,0	460 ± 36,0	662 ± 21,0
<b>Efluente (ng L<sup>-1</sup>)</b>	101 ± 30,0	172 ± 46,0	249 ± 34,0
<b>Eficiência (%)</b>	56,0 ± 13,0	62,0 ± 12,0	62,0 ± 6,00

De acordo com Drillia *et al.* (2006) (36) a degradação de fármacos inicia-se quando carbono e nitrogênio do meio forem esgotados, porém o mesmo não foi observado para as condições impostas, com DQO de 550 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> e sulfametazina na ordem de ng L<sup>-1</sup>, uma vez que se isso acontecesse, a remoção do antibiótico iniciaria após o TDH de 4 h, tempo que a degradação da matéria orgânica se estabiliza, e comparando as Figuras 18, 21, 22 e 23 percebe-se que a degradação da matéria orgânica e antibiótico ocorrem concomitantemente, mas não com a mesma velocidade.

A eficiência média de remoção da sulfametazina ao longo do tempo de operação foi de 60,0 ±10,0 %.

### **5.7 Cinética de degradação do antibiótico sulfametazina**

Após o reator e a concentração de antibiótico serem estabilizadas foi realizado um perfil cinético para a degradação do antibiótico sulfametazina. Seguindo os métodos descritos foi traçado o gráfico cinético, representado na Figura 21, sendo a concentração de antibiótico deste perfil de 200 ng L<sup>-1</sup>.

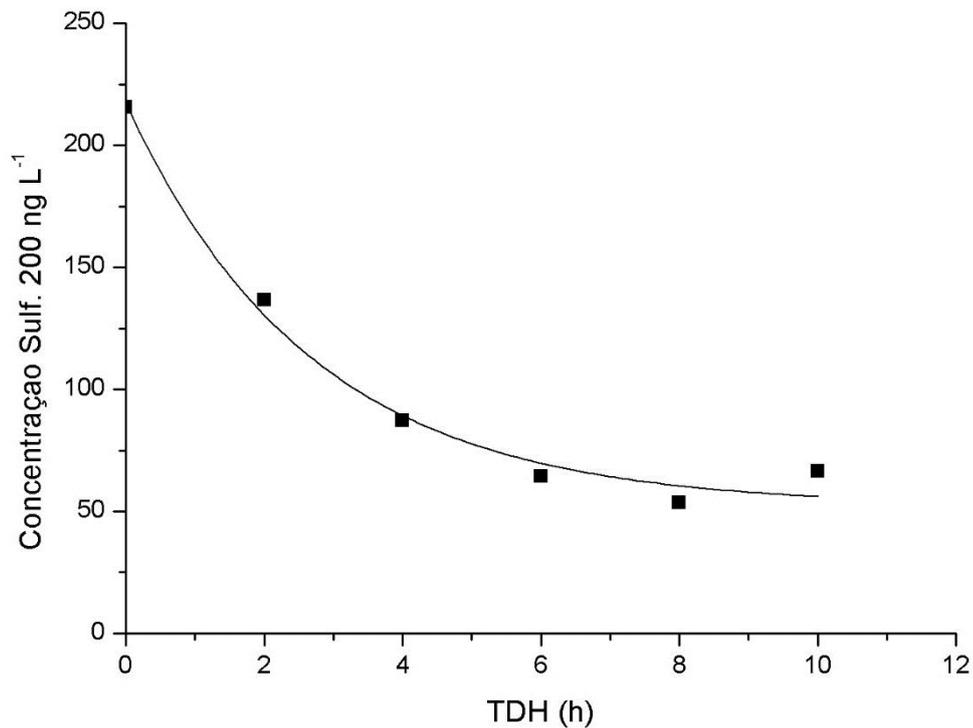


Figura 21 - Perfil cinético de remoção do antibiótico sulfametazina (200 ng L<sup>-1</sup>) com pontos amostrais e perfil ajustado ( $R^2 = 0,980$ )

A equação que representa a degradação do antibiótico sulfametazina ao longo do perfil do reator é:

$$S(t)=52,1+165 e^{-0,373 \cdot TDH}$$

Onde  $S(t)$  é a concentração de sulfametazina de acordo com o tempo de detenção hidráulico (TDH), em ng L<sup>-1</sup>. A partir dessa equação conclui-se que a constante cinética de remoção para o antibiótico é de 0,373 h<sup>-1</sup>, com um ajuste ( $R^2$ ) de 0,980.

É importante ressaltar que o reator, assim como a concentração desejada de antibiótico no afluente já estavam estabilizados antes da 28<sup>a</sup> semana, porém o perfil só foi realizado nessa semana devido a erros experimentais já descritos.

Para a concentração de 400 ng L<sup>-1</sup> foram realizados dois perfis, os quais apresentaram curvas com comportamentos diferentes, o que deve-se a erros experimentais e a sensibilidade do método de detecção, por isso foi realizado uma média dos valores encontrados, cuja equação está descrita abaixo.

$$S(t)=102+356 e^{-0,315 \cdot TDH}$$

A Figura 22 representa o perfil realizado para a concentração de 400 ng L<sup>-1</sup>, cuja constante cinética (k) encontrada foi de 0,315 h<sup>-1</sup>, com ajuste de (R<sup>2</sup>) de 0,989.

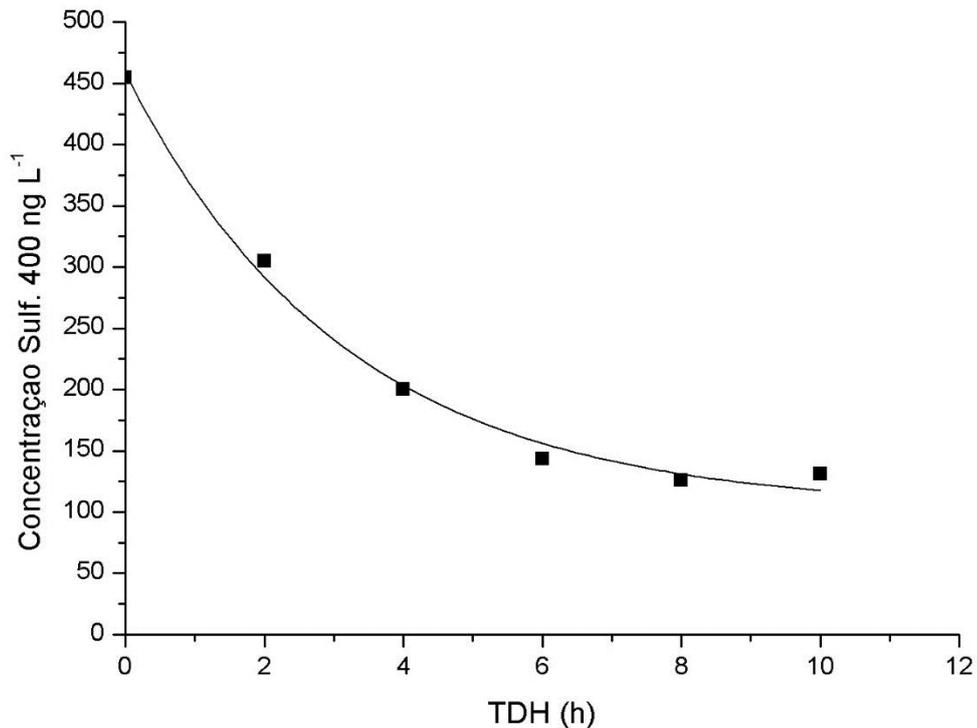


Figura 22 - Perfil cinético de remoção do antibiótico sulfametazina (400 ng L<sup>-1</sup>) com pontos amostrais e perfil ajustado (R<sup>2</sup> = 0,989)

Para a concentração de 600 ng L<sup>-1</sup> realizou-se apenas um perfil cinético, cuja equação está representada abaixo.

$$S(t)=338+328. e^{-0,382.TDH}$$

A partir dessa equação, conclui-se que a constante cinética de remoção para o antibiótico na concentração de 600 ng L<sup>-1</sup>, é de 0,382 h<sup>-1</sup>, com um ajuste (R<sup>2</sup>) de 0,920. O perfil cinético para essa concentração encontra-se na Figura 23.

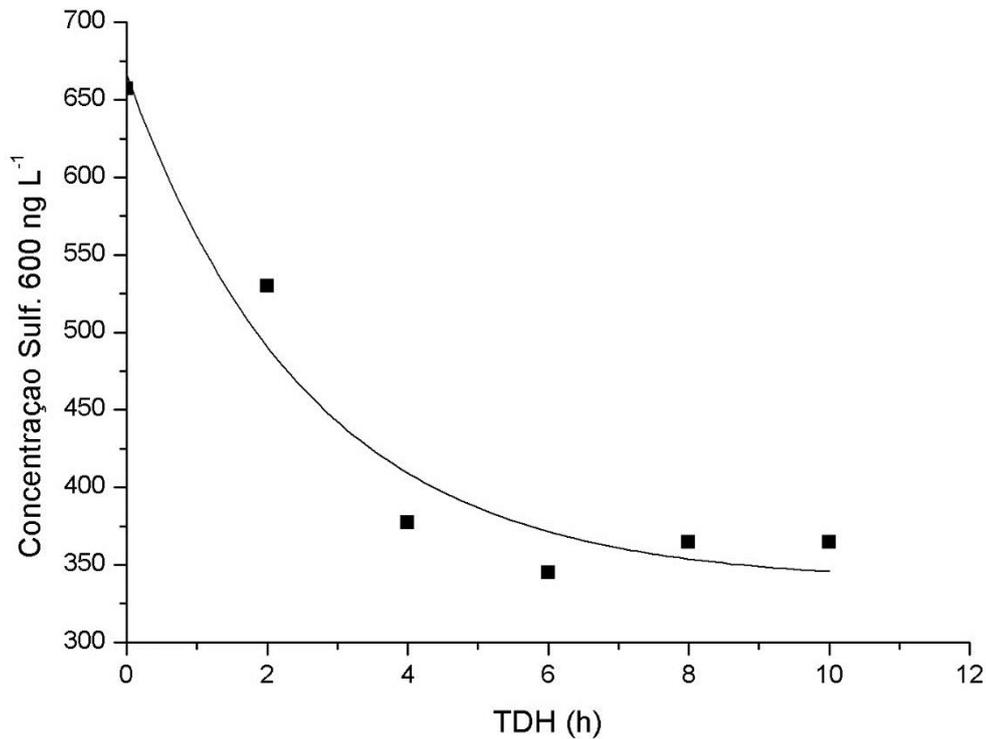


Figura 23 - Perfil cinético de remoção do antibiótico sulfametazina ( $600 \text{ ng L}^{-1}$ ) com pontos amostrais e perfil ajustado ( $R^2 = 0,920$ )

A Tabela 7 apresenta um resumo das médias das constantes cinéticas para cada concentração estudada.

Tabela 7 – Constantes cinéticas para degradação em diferentes concentrações de sulfametazina

Concentração ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Constante cinética (k)
200	$0,373 \text{ h}^{-1}$
400	$0,315 \text{ h}^{-1}$
600	$0,382 \text{ h}^{-1}$

### 5.8 Comparação estatística entre valores cinéticos de degradação da sulfametazina

Para utilização desse teste foram comparados os valores de eficiência obtidos por meio da concentração de antibiótico no afluente e efluente, pois como demonstrado na Equação III (item 4.7.1) o balanço de massa depende da eficiência de remoção, tempo de detenção hidráulico e constante cinética aparente.

Assim, Os valores –  $p$  obtidos estão na Tabela 8.

Tabela 8 – Valor -  $p$  obtido na comparação das eficiências das diferentes concentrações

<b>Concentrações comparadas</b>	<b>Valor - <math>p</math></b>
Entre 200 ng L <sup>-1</sup> e 400 ng L <sup>-1</sup>	0,725
Entre 200 ng L <sup>-1</sup> e 600 ng L <sup>-1</sup>	0,340
Entre 400 ng L <sup>-1</sup> e 600 ng L <sup>-1</sup>	0,589

Pela Tabela 8 verifica-se que os valores –  $p$  encontrados estão acima do nível de significância admitido 5% (0,05), logo podemos aceitar a hipótese nula (item 4.6.6), ou seja os valores de eficiência de remoção entre as concentrações estudadas não diferem estatisticamente.

Portanto, as constantes cinéticas encontradas pertencem ao mesmo grupo ou seja, os diferentes valores encontrados resultam do método de análise, como a alta detectabilidade da análise de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC – MS/MS), bem como erros experimentais, porém não são significativos, o que já era esperado uma vez que não houve inibição de qualquer natureza no metabolismo, bem como alteração dos organismos do meio, fatos que são reforçados pelos valores de constante cinética aparente ( $k$ ) para o antibiótico em estudo – Tabela 7 e teste de hipótese (Tabela 8), os quais constatam que os valores encontrados não apresentaram variância significativa.

A média da constante cinética aparente ( $k_{\text{sulf.}}$ ) para a degradação do antibiótico foi de  $0,356 \pm 0,036 \text{ h}^{-1}$ , sendo aproximadamente duas vezes menor do que a constante aparente de velocidade de remoção da a matéria orgânica, indicando que a matéria orgânica do meio é removida mais rapidamente do que a sulfametazina.

Assim, para utilização da configuração do reator RAHLF em escala piloto ou real, com o objetivo de remoção de compostos recalcitrantes, principalmente do antibiótico sulfametazina, deve-se levar em consideração que sua degradação é o limitante do processo, pois como ocorre mais lentamente que a matéria orgânica, se garantir a remoção do antibiótico, a eficiência da matéria orgânica também ocorrerá.

## 6 CONCLUSÃO

O reator RAHLF encontra-se estabilizado, ou seja os micro-organismos presentes no lodo utilizado se adaptaram bem às condições impostas (DQO 550 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> e TDH 12 horas), e não apresentaram alterações quando diferentes concentrações de antibióticos foram adicionadas, assim, as concentrações, que foram da ordem de ng L<sup>-1</sup>, não foram capazes de inibir a atividade microbiana presente no lodo. A remoção da matéria orgânica, medida pela análise de demanda química de oxigênio foi de 91%, resultando em eficiente degradação da matéria orgânica. Em relação à degradação do antibiótico sulfametazina, a média geral para as diferentes concentrações testadas foi de 60,0%. Foram realizados sete perfis cinéticos para a remoção da matéria orgânica, e notou-se que a remoção ocorre principalmente entre o ponto de entrada e o segundo ponto de coleta (TDH de 4 h), a cinética de degradação da matéria orgânica e da sulfametazina foram consideradas de primeira ordem com residual, e apresentaram as seguintes constantes cinéticas aparentes:  $k_{\text{Mat. orgânica}} = 0,885 \text{ h}^{-1}$  para a remoção da matéria orgânica, enquanto que para o antibiótico sulfametazina ( $k_{\text{sulf.}}$ ) foi de  $0,356 \text{ h}^{-1}$ . O RAHLF apresentou potencial para a remoção do antibiótico sulfametazina e da matéria orgânica, apresentando-se como uma importante ferramenta para auxiliar no tratamento de águas residuárias de compostos recalcitrantes em baixas concentrações.

## REFERÊNCIAS

- (1) BOXALL, A. B. A. et al. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 9, set. de 2012.
- (2) SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. R. I. Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas em um sistema de tratamento de dejetos suínos. **Ciência rural**. Santa Maria. v. 33, n. 5, p. 881-888, set./out. 2003.
- (3) ZAIAT, M. **Desenvolvimento e análise de biorreatores anaeróbios contendo células imobilizadas para tratamento de águas residuárias: reator anaeróbio de leito fixo e reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais**. 2003. 122 f. Tese (livre docência) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
- (4) CATTONY, E. B.M. et. al. Remoção de etanol e benzeno em reator anaeróbio horizontal de leito fixo na presença de sulfato. **Engenharia Ambiental e Sanitária**, v.12, n.2, 2007.
- (5) 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)**. 2012. 128 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- (6) BILA, D. M.; DEZZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v.30, p. 651-666, 2007.
- (7) CARLSEN, E.; GIWERCMAN, A.; KEIDING, N.; SKAKKEBAEK, N.E. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. **British Medical Journal**, v. 305, n. 6854, p. 609-613, 1992.
- (7) CARLSEN, E. et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. **British Medical Journal**, v. 305, n. 6854, p. 609-613, 1992.
- (8) SUMPTER, J.P. Xenoendocrine disruptors – environmental impacts. **Toxicology Letters**, v. 102, p. 337-342, 1998.
- (9) ASH, R. J.; IVERSON, J. L. Antibiotic and disinfectant resistant bacterial rivers of the United States. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHARMACEUTICALS AND ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS IN WATER, 4., 2004, Minneapolis. **Proceedings...** Minneapolis, 2004.
- (10) KÜMMERER, K. Pharmaceuticals in the environment. **The Annual Review of Environment and Resources**, v. 35, p. 57-75, 2010.
- (11) TAMBOSI, J.L. **Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento**. 2008. 141 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- (12) AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão de literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n.3, p. 187-204, 2013.

- (13) IKEHATA, K.; NAGHASHKAR, N. J.; EL-DIN, M.G. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review. **Ozone Science. Technol.**, v. 28, p. 353-414, 2006.
- (14) GARCÍA-GALAN, M. J.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 1008-1022, 2008.
- (15) HOFF, R. **Análise de resíduos de sulfonamidas em alimentos por eletroforese capilar e espectrometria de massas**. 2008. 134 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- (16) GARCÍA-GALAN, M. J. et al.. Bidegradation studies of N<sup>4</sup>-acetylsulfapyridine and N<sup>4</sup>-acetylsulfamethazine in environmental water applying mass spectrometry techniques. **Anal Bioanal Chemistry**, p. 2885-2896, 2012.
- (17) GRANT, G. A.; FRISON, S. L.; SPORNS, P. A sensitive method for detection of sulfamethazine and N<sup>4</sup>-acetylsulfamethazine residues in environmental samples using solid phase immunoextraction coupled with MALDI-TOF MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5367-5375, 2003.
- (18) GARCÍA-GALAN, M. J. **Estudio de la presencia y comportamiento de las sulfamidas em el medio ambiente**. 2012. 389 f. Tesis (Doctorat Química Analítica del Medi Ambient y la Pol·lució) – Facultat de Química, Universitat de Barcelona, Barcelona, 2012.
- (19) SARMAH, A. K.; MEYER, M. T.; BOXALL, A. B. A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, v.65, p. 725-759, 2006.
- (20) SHREESHIVADASAN, C.; SALLIS, P. J. Application of anaerobic biotechnology for pharmaceutical wastewater treatment. Special issue on environmental management for sustainable development. **The IIOAB Journal**, v. 2, p.13-21, 2011.
- (21) SEGHEZZO, L. et al. A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactor. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 175-190, 1998.
- (22) CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1997. 246 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, 5).
- (23) DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources: an introduction**. 2<sup>o</sup> ed. Weinheim: Wiley-Vch, 2011.
- (24) CAMPOS, J. R. (Coord.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, 1999. PROSAB. Rede cooperativa de pesquisas.
- (25) BRASIL. Resolução RDC n<sup>o</sup>53, de 2 de Outubro de 2012 do Ministério da Saúde/ANVISA. Regulamento Técnico MERCOSUL – Metodologias Analíticas, Ingestão Diária Admissível e Limites Máximos de Resíduos para Medicamentos Veterinários em

Alimentos de Origem Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 192, 03 out. 2012. Seção 1, p. 47.

(26) BRASIL. Instrução normativa n° 11, de 05 de maio de 2014, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Subprograma de monitoramento de controle de resíduos e contaminantes em produtos de origem animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 85, 07 maio 2014. Seção 1, p. 5.

(27) BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. Resolução n° 358 de 29 de Abril de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 84, 04 maio 2005. Seção 1, p. 63-65.

(28) TORRES, P. **Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgoto sanitário sob diferentes condições de operação**. 1992. 185 f. Dissertação. (Mestrado em Ciência) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.

(29) CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G. Principais técnicas de preparo de amostra para determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química nova**, vol. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.

(30) RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal WPCF**, v. 58, p. 406-411, 1986.

(31) ADORNO, M. A.; HIRASAWA, J.; VARESCHE, M. B. A. Validation of two methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 5, n. 2, p. 406-414, 2014.

(32) DE NARDI, I. R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Respostas do reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) nos ensaios hidrodinâmicos com diferentes traçadores. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 19., 1997, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: ABES, 1997. p. 127-138.

(33) CAMARGO, E. F. M. et al. 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**, São Paulo, v.19, n. 3, 2002.

(34) PESSOA, C. A.; JORDÃO, E.P. **Tratamento de esgotos domésticos**, 4. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2009.

(35) VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 2005. v. 1

(36) DRILLIA, P.; On the occasional biodegradation of pharmaceuticals in the activated sludge process: the example of the antibiotic sulfamethoxazole. **Journal of Hazardous Materials**, v.122, p. 259-265, 2005.