**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Comportamento ambiental de sulfadiazina em solos brasileiros

Marina Yasbek Reia

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em
Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

**Piracicaba
2013**

Marina Yasbek Reia
Gestora Ambiental

Comportamento ambiental de sulfadiazina em solos brasileiros

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora
Prof^a Dr^a **JUSSARA BORGES REGITANO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em
Ciências. Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas

Piracicaba
2013

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Reia, Marina Yasbek

Comportamento ambiental de sulfadiazina radiomarcada em solos brasileiros / Marina Yasbek Reia. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.

51 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.
Bibliografia.

1. Dissipação 2. Retenção 3. Transporte 4. Fármaco veterinário 5. Solos intemperizados
I. Título

CDD 631.4
R347c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

AGRADECIMENTOS

Agradeço à orientadora Jussara Borges Regitano não só pela orientação mas sobretudo pelo apoio e amizade ao longo desses dois anos.

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida.

Agradeço a todos aqueles que tornaram possível a realização prática dessa pesquisa, aos técnicos do Laboratório de Ecotoxicologia do CENA Carlos Dorelli e Rodrigo Sampaio, aos professores do Departamento de Solos Pablo Vidal-Torrado, Fernando Dini Andreote, Luiz Reynaldo Ferracciú Alleoni, aos técnicos Luiz Silva e Fernando. Também agradeço ao professor do CENA- Lab. Ecotox. Valdemar Tornisielo.

Sinto-me muito feliz ao agradecer a ajuda e amizade dos meus amigos de pesquisa Rafael Leal, Eloana Bonfleur, Gabriel Ramatis Pluguiese, Talita Abruzzini, Fernando Henrique Toledo, Rafael Beirigo, Bruna Botim, Fabrício Giori.

Gratidão aos companheiros de vida Ramom Morato, Natalya Clua Beltrão de Holanda, Gabrielle Stephano de Queiroz, Nádia Matioli Yazbek Bitar, Julia Carolina Fideles, Thales Enrico e Raquel Izidoro.

Agradeço eternamente a toda minha família que me alegra e suporta muito.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Sulfonamidas e suas propriedades físico-químicas.....	13
2.2 Comportamento ambiental da sulfadiazina em solos.....	15
2.2.1 Sorção.....	16
2.2.2 Dissipação.....	18
2.2.3 Lixiviação.....	20
2.3 Impactos Ambientais.....	21
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Coleta e caracterização dos solos	23
3.2 Sulfadiazina.....	24
3.3 Teste de Sorção.....	24
3.4 Teste de Dissipação.....	25
3.5 Carbono da Biomassa Microbiana.....	26
3.6 Teste de Lixiviação.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Sorção.....	29
4.2 Dissipação.....	33
4.3 Lixiviação.....	39
5 CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS.....	45

RESUMO

Comportamento ambiental de sulfadiazina em solos brasileiros

A manutenção da qualidade do solo como um recurso natural vital à humanidade tem impulsionado a pesquisa sobre a dinâmica ambiental de resíduos de antibióticos veterinários no ambiente. Os processos de sorção, degradação e lixiviação da sulfadiazina (SDZ) foram avaliados em quatro solos com atributos físico-químicos distintos, conforme o uso de técnicas radiométricas e os protocolos da OECD para pesticidas. Os coeficientes de sorção (K_d) da SDZ variaram de baixo a muito alto (2,6 a 80 L kg⁻¹). O seu baixo potencial de dessorção (< 24,2% do sorvido ou < 12,1% do aplicado) ratifica a existência de mecanismos específicos envolvidos na sorção da SDZ, afora as interações eletrostáticas e a partição hidrofóbica apontadas pelos estudos prévios. Em concentrações residuais próximas às encontradas em campo (~ 84 µg kg⁻¹), o potencial de sorção da SDZ foi consideravelmente maior do que em altas concentrações. A dissipação da SDZ foi rápida em todos os solos ($t_{1/2}$ < 2,7 dias) e a formação de resíduos ligados foi a principal via de dissipação, correspondendo a > 78% do aplicado após 7 dias. A taxa média de mineralização foi < 3% do aplicado. A presença do antibiótico não impactou a biomassa do solo, indicando que em doses crônicas os efeitos sejam imperceptíveis em curto prazo. Apesar do potencial de mobilidade, a SDZ apresentou baixo potencial de lixiviação nos solos (< 0,11% do aplicado). Já a redistribuição da SDZ foi maior no perfil dos solos recém-aplicados do que nos envelhecidos e a grande maioria permaneceu nos primeiros 5 cm (> 95 % do aplicado). Nos solos envelhecidos, a sua mobilidade foi praticamente nula (0,06% do aplicado). Os resultados da pesquisa contribuem para elucidar a dinâmica de contaminantes orgânicos em solos intemperizados e ácidos de regiões tropicais, o que poderá auxiliar modelos de avaliações de risco, ações de mitigação, entre outros.

Palavras-chave: Dissipação; Retenção; Transporte; Fármaco veterinário; Solos brasileiros intemperizados

ABSTRACT

Environmental behavior of sulfadiazine in brazilian soils

The soil quality as a vital resource for humanity has driven research on the occurrence, environmental fate and behavior of antibiotic residues in the environment. Sorption, leaching and degradation tests were performed on four soils with distinct physic-chemical attributes with ^{14}C -sulfadiazine, following guidelines developed by OECD (USA) for laboratory studies. As the development of research on the subject has its origins in temperate countries, the soil and climatic conditions occurring in the tropics resulted in variations in the dynamic of sulfadiazine, mainly due to conditions of weathered and acidize. The results showed higher K_d (from 3, 5 to 80 L kg^{-1}) for the residual concentration detected in monitoring studies, rapid dissipation (DT_{50} between 2 and 3 days) and reduced leaching potential, in contrast with rates reported in the literature. The formation of bound residues was the major route of dissipation in all soils, reaching values between 78 % and 89 % of the total in just 7 days, whereas the mineralization did not exceed 1.5% throughout the experiment. The analysis of the variation of microbial-biomass carbon as an negative effect of antibiotic, present no difference with the content in the control, as reported by several studies that argue that the effects of chronic doses are imperceptible in short term. Although the knowledge about processes transformation of organic chemicals in soils is very divergent, laboratory tests contributed to a first elucidation about environmental of antibiotic residues, contributing to the improved performance of models to compose risk assessments and mitigation actions in tropical soils, for example.

Keywords: Antibiotics; Sulfadiazine; Environmental behavior; Brazilian weathered soils

1 INTRODUÇÃO

O destino e o comportamento de antibióticos em solos têm sido reconhecidos como um dos problemas emergentes em química ambiental (KEMPER, 2008). A demanda do planeta por alimentos e serviços ambientais e o crescimento exponencial da população, afirma a necessidade de preservação da qualidade dos solos. A liberação de antibióticos veterinários no ambiente ocorre após sua administração em criações animais, onde é usado no combate à doenças como agente terapêutico e profilático. Doses residuais, porém continuas, são liberadas com os excretas animais e atingem matrizes ambientais sólidas e líquidas (KUMMERER et al., 2008). Assim, se a aplicação de esterco contaminado no solo exceder as taxas de degradação dos resíduos antibióticos, é provável que o acúmulo da substância ocorra, e as consequências ambientais são ainda desconhecidas (STOOB et al., 2007).

Atualmente, os resíduos de fármacos veterinários têm sido denominados poluentes emergentes, em conjunto com hormônios, cosméticos e outros resíduos encontrados em baixíssimas concentrações, em matrizes ambientais aquosas e sólidas (BOXALL, 2004). Tais resíduos têm sido diagnosticados em solo (SUKUL; SPITELLER, 2006; MARTÍNEZ-CARBALLO et al., 2007), sedimentos (LE; MUNEKAGE, 2004; ZHOU et al., 2011), plantas (VAIPHASA et al., 2007), esterco animal (HALLING-SORENSEN, 2000), água superficial (BATT et al., 2006; ZHENG, 2012), subsuperficial (HIRSCH et al., 1999), efluentes urbanos (CARBALLA et al., 2004) e em alimentos de origem animal (LEE & RYU, 1999; HOFF, 2008; ALABURDA et al., 2007) entre outros, em concentrações de $\mu\text{g kg}^{-1}$ a mg kg^{-1} .

O uso crescente e mundial de antibióticos durante as últimas 5 décadas tem causado a seleção genética de bactérias resistentes, inclusive patógenos humanos, uma das maiores preocupações ambientais referente ao seu consumo (BARCELÓ et al., 2003), pois pode provocar efeitos imprevisíveis na evolução de toda a microsfera local, com consequências desconhecidas para a saúde humana e os processos ecológicos (MARTÍNEZ, 2009). A escassez de estudos de dinâmica ambiental de resíduos xenobióticos em matrizes ambientais, principalmente as sólidas (THIELE-BRUNH, 2003), não permite ainda a compreensão dos reais riscos e alterações causadas por seu aporte e acúmulo no ambiente, não só à microbiota como também à qualidade de recursos naturais e serviços ambientais dependentes e providos pelos solos (KUMMERER, 2008).

Portanto, a compreensão dos possíveis processos de retenção, transporte e transformação de antibióticos veterinários no solo e as condições ambientais que os

influenciam são fundamentais, porque podem contribuir para o desenvolvimento de fármacos e produtos menos persistentes no ambiente e avaliações de risco ambiental, ações de mitigação e recuperação de solos contaminados (FINNERAN et al., 2011).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sulfonamidas e suas propriedades físico-químicas

Uma classe farmacológica de uso expressivo na medicina veterinária em todo o mundo consiste nas Sulfonamidas (SAs) (YANG et al., 2009), inicialmente utilizada na medicina humana e de uso atual mais frequente na medicina veterinária, como agentes profiláticos na produção principalmente de aves e suínos e administrados por adição na ração e na água dos animais (BARCELÓ et al., 2003). Por apresentarem semelhança estrutural com o ácido p-aminobenzóico (PABA), impedem a formação do ácido fólico pelo microrganismo e compromete a síntese de purina e por último do DNA (OLIVEIRA, 2008).

Apesar de sua ocorrência e concentração no ambiente, a falta de informações atualizadas acerca da produção, venda e consumo de antibióticos veterinários (AV) ainda é comum em quase todos os países (PEREIRA et al., 2011) e no Brasil inexistem levantamentos sobre as classes de fármacos em específico. Em 2009, a venda de antimicrobianos na Europa movimentou mais de 1 bilhão de dólares, enquanto nos Estados Unidos, estima-se que o consumo desses produtos seja em média de 10 mil toneladas por ano (KOLLS et al., 2008). No mesmo ano, a comercialização de AV no Brasil atingiu cerca de 379 milhões de dólares (SINDAN, 2010). Entretanto, ao se tornar signatário do *CODEX Alimentarius* (FAO, 1963) em 1997 o Brasil acatou legalmente a restrição sobre a quantidade máxima de 0,1 mg kg⁻¹ de resíduos de SAs em tecidos comestíveis animais (ALABURDA et al., 2007). Apesar disso, até hoje não há legislação específica sobre os limites para a concentração de SDZ ou de qualquer outro fármaco veterinário (FV) em solo. Somente em 2001, a Agência Europeia para a Avaliação de Produtos Medicinais (EMEA, *European Agency for the Evaluation of Medical Products*) determinou um limite genérico de 100 µg kg⁻¹ para FV em solo. Esse valor foi estabelecido com base em estudos ecotoxicológicos realizados com FVs autorizados nos Estados Unidos e está abaixo dos níveis prejudiciais observados em minhocas, micróbios e plantas (PEREIRA et al., 2011).

A sulfadiazina (SDZ) é uma molécula pertencente à classe das SAs que apresenta alta disseminação no ambiente (HALLING-SORENSEN et al., 1998), alvo crescente de estudos de comportamento em solos, principalmente devido ao seu uso intensivo em criações de aves

e porcos não só no Brasil (REGITANO & LEAL, 2010), como também na maioria dos países produtores (SARMAH et al., 2006).

Algumas propriedades físico-químicas da SDZ são crucias para a predição de seu destino ambiental e auxiliam também na interpretação dos resultados dos estudos sobre sua dinâmica em matrizes ambientais (Tabela 1).

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas da sulfadiazina

Nome químico	4-amino-N-2-pirimidinilbencenosulfonamida
Fórmula molecular	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S
Massa molecular (g mol ⁻¹)	250,3
Solubilidade em água (mg L ⁻¹)	77 (23 °C)
pK _{a1} / pK _{a2}	1,6 ~ 2,4 / 5,8 ~ 6,4
Log K _{ow}	-0,09
Constante de Henry (Pa L mol ⁻¹)	1,60 X 10 ⁻⁸

Fonte: Adaptado de Thiele-Bruhn (2003).

Sua composição química consiste em um anel benzeno, um grupo amina (-NH₂, básico) e um grupo sulfonamida (-SO₂NH₂, ácido). Como resultado das propriedades indutivas do grupo SO₂ principalmente, têm comportamento anfótero. Isto permite que em determinadas faixas de pH a molécula se torne um zwitterion e apresente simultaneamente carga positiva e negativa (SARMAH et al., 2006), característica que atrela as variações físico-químicas da matriz de ocorrência ao seu comportamento no ambiente. O pKa 1 da SDZ (1,6 ~2,4), representa a protonação do grupo amina, enquanto o pKa 2 (5,8 ~6,4), representa a desprotonação do grupo SO₂NH (BOXALL et al., 2003) (Figura 1).

Figura 1 – Equilíbrio de ionização da sulfadiazina

Fonte: Adaptado de Sukul et al. (2008) e Barceló et al. (2009).

2.2 Comportamento ambiental da sulfadiazina em solo

A produção massiva de animais causa a liberação de diversos tipos de fármacos no ambiente, como os antibióticos veterinários, excretados pela urina e fezes e acumulados em solo e águas superficiais consequentemente (HOFF, 2008). Depois da administração ao animal, a SDZ é majoritariamente excretada em sua forma original, atingindo taxas entre 40 a 90 % (HALLER et al., 2002). Em conjunto com a aplicação de lodo de esgoto e esterco como fertilizantes agrícolas e/ou condicionadores de solos, essas são as principais rotas de entrada da SDZ e de resíduos de fármacos veterinários em matrizes ambientais (KOTZERKE et al., 2008). Por conta de seu uso intensivo, a SDZ já foi diagnosticada em diferentes matrizes ambientais, como em sedimentos de fazendas de piscicultura marinha (SAMUELSEN et al., 1992; LE; MUNEKAGE, 2004), em lodo de esgoto (HÄLLING-SORENSEN, 2001) e em solo (MARTÍNEZ-CARBALLO et al., 2007).

Concentrações entre 1,0 e 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de SDZ foram detectadas em solos agriculturáveis de clima temperado, enquanto que as concentrações diagnosticadas em esterco animal são geralmente maiores, em torno de 250 a 3500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (THIELE-BRUHN et

al., 2003). Nessas condições, a persistência e a mobilidade da SDZ no ambiente depende principalmente da sua fotoestabilidade, capacidade de ligação e adsorção/dessorção, taxa de degradação e potencial de lixiviação (BARCELÓ et al., 2003). E assim como para outros poluentes orgânicos, o destino ambiental da SDZ no solo é fundamentalmente regido por processos de retenção, transporte e transformação (ACCINELLI et al., 2007). As condições climáticas também podem interferir (BURKHARDT et al., 2005).

Os atributos dos solos também são responsáveis pela dinâmica da molécula, condicionando sua interação com a atmosfera e corpos de água. É preciso ressaltar contudo, que como antibiótico veterinário, a SDZ possui propriedades e formas de entrada no ambiente que difere dos poluentes químicos industriais convencionais, como a tendência da molécula original e sais associados em formar sólidos polimórficos; sua introdução no ambiente subsequente ao metabolismo animal e estrutura molecular extensa e ionizável (CUNNINGHAM, 2004), conferindo persistência e dinâmica muito variáveis no solo. Somado a isso, em relação aos pesticidas, moléculas pioneiras no estudo de comportamento ambiental de resíduos orgânicos no solo, os antibióticos veterinários apresentam de forma geral, maiores valores de solubilidade em água e menores valores de K_{ow} , provavelmente devido à presença dos sítios ionizáveis (REGITANO; LEAL, 2010).

Todavia, apesar de seu uso intensivo na agropecuária, em contraste com outros poluentes emergentes, o comportamento da SDZ bem como o de antibióticos veterinários em geral, não tem sido estudados extensivamente em compartimentos ambientais (MARTÍNEZ-CARBALLO et al., 2007). Solos e sedimentos são escassamente investigados em relação aos ambientes aquáticos. Os métodos analíticos empregados são, em sua maioria, variações dos desenvolvidos para amostras de água (SNOW et al., 2008).

2.2.1 Sorção

O processo de sorção da SDZ é geralmente atribuído a pontes de H, forças de Van der Waals, atrações eletrostáticas, partição hidrofóbica e/ou ligações covalentes, mecanismos que normalmente ocorrem simultaneamente após o aporte do no solo (HALLING-SORENSEN, 1998). Como possui caráter anfótero, a SDZ pode se ligar ionicamente a grupos com cargas positivas (oxihidróxidos) e com cargas negativas (MO e argilominerais) conforme a ionização de seus sítios reativos (SARMAH et al., 2006).

Os coeficientes de sorção (K_f ou K_d) das SAs em solos são baixos (BOXALL et al., 2002; THIELE-BRUHN et al., 2004), variando entre 0,2 e 2,0 L kg⁻¹ (TOLLS et al., 2001), indicando baixo potencial de retenção. Os fármacos veterinários que apresentam baixos valores de K_d possuem em tese elevada mobilidade no solo, característica indesejável em relação ao controle de poluição e qualidade de fontes de água. Em pesquisa de revisão sobre o tema, Tolls (2001) relatou uma série de estudos conduzidos em matrizes ambientais sólidas como sedimentos marinhos, lodos-de-esgoto e solos, apresentando valores de K_d entre 0.6 e 4,9 L kg⁻¹ para as SAs, 290 a 1620 L kg⁻¹ para as Tetraciclina e 310 a 6310 L kg⁻¹ para Fluorquinolonas, o que mostra baixo potencial de sorção e alto potencial de mobilidade das SAs em relação às outras classes de antimicrobianos, com provável risco de escoamento superficial e lixiviação (SUKUL et al., 2008). Kasteel et al. (2010) estudaram a sorção de SDZ em diferentes profundidades de amostras de solo em laboratório e caracterizaram o processo como não-linear, dependente do tempo, pH e carbono orgânico. Eles observaram que a capacidade de sorção foi maior na camada superficial de solo franco-siltoso, seguido do solo areno-siltoso e 4 vezes menor em profundidade, atribuindo a variação principalmente ao teor de carbono orgânico do solo.

Yang et al. (2009) obtiveram valores de K_d de 0.24 L kg⁻¹ e 0.35 L kg⁻¹ após 1 e 14 dias, respectivamente para um solo (2.57 % de matéria orgânica e 39% de argila). Para outro solo (0.35% de matéria orgânica, 16% de argila) o K_d variou de 0.09 a 0.6 L kg⁻¹ para os mesmos tempos, apontando também para a influência do teor de carbono orgânico e do tempo de retenção. Outra pesquisa demonstrou a ocorrência de histerese para solos com atributos contrastantes; ou seja, a maioria da SDZ sorvida não sofreu dessorção, mesmo em solos com baixa sorção ($K_d < 3$ L kg⁻¹) (SUKUL et al., 2008). Este comportamento foi relatado também por Gao e Pedersen (2005) e Stoob et al. (2007), entre outros.

Por sua vez, o fenômeno de histerese é relacionado ao envelhecimento; ou seja, aumento na sorção do composto com o aumento do seu tempo de residência no solo. Isso resulta em declínio da disponibilidade na solução do solo e, subsequentemente, em redução das quantias extraídas por métodos que não alterem o analito ou a matriz do solo. O composto se torna mais fortemente retido pelo solo, o que pode decrescer sua biodisponibilidade e reduzir a fração que pode ser extraída por procedimentos convencionais de extração em laboratório (GEVAO et al., 2000). O envelhecimento é frequentemente observado nos estudos de sorção com a SDZ (THIELE-BRUHN et al., 2004; WEHRHAN et al., 2010) e pode ser

causado pela formação de resíduo-ligado (RL) entre a molécula e o solo. A definição de RL está atrelada a capacidade de extração do solvente empregado, sem que altere as estruturas químicas da molécula e da matriz (GEVAO et al., 2000). As frações não-extraídas dessa forma compõe então os RL, que podem se formar com a molécula mãe ou seus metabólitos. Como no caso da SDZ original, as informações na literatura acerca da identidade, concentração, vias e cinética de dissipação dos metabólitos são bem reduzidas (WEHRHAN et al., 2010).

2.2.2 Dissipação

A taxa de dissipação geral de um resíduo de poluente orgânico no solo têm sido acessada por meio de seu tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), que expressa o tempo necessário, em dias ou horas normalmente, para que 50% da concentração presente se dissipe (LAVORENTI et al., 2003). O termo dissipação é utilizado como indicação de perda da concentração inicial do produto que seja resultante de processos de transporte, degradação (quebra) e/ou formação de RLs (WOOD et al., 2005). O processo de degradação é um importante componente de qualquer modelo de avaliação de riscos ambientais para xenobióticos em geral (SNOW et al., 2008), que pode ser protagonizado por microorganismos ou não.

Em laboratório, a degradação de um composto radiomarcado pode ser avaliado através de seu balanço de massa. O balanço de massa é necessário para determinar as quantias das concentrações iniciais dos experimentos que foram convertidas em i) fração disponível, composta pela molécula parental e produtos intermediários extraídos em solução conforme o método empregado; ii) fração residual, dita não extraível e determinada pela oxidação do solo e iii) fração mineralizada, determinada pela quantia de $^{14}\text{CO}_2$ liberada pela microbiota como produto final da degradação da molécula. As frações são expressas em porcentagens (%) da quantia inicial aplicada em cada teste e o balanço final deve estar entre 90 e 110 % do total aplicado (OECD por extenso, 2002).

No caso da SDZ, o metabólito acetil-sulfadiazina (Ac-SDZ) parece ser exclusivamente produzido pelo metabolismo animal e não em outras condições ambientais em que a molécula encontra o ambiente quimicamente “livre”, enquanto que a hidroxilação de SDZ para hidroxissulfadiazina (OH-SDZ) no solo é um processo que tem sido cada vez mais diagnosticado porém ainda não elucidado com clareza (ZARFL, 2008). As taxas de meia-vida relatadas para

a SDZ em solos não estéreis e em condições aeróbicas variam entre 2 dias (LIU et al., 2010), 12 dias (YANG et al., 2009) e 18 dias (ACCINELLI et al., 2007), apresentando variação conforme o tipo de solo.

Apesar de alguns trabalhos apontarem que a degradação da SDZ em solos é promovida principalmente pela microbiota (ACINELLI et al., 2007; YANG et al., 2009; LIU et al., 2010), outros mostram que em condições de laboratório, a biodegradabilidade tem sido um processo de pouca expressão (KREUZIG; HOLTGE, 2005; ZARFL, 2008). Em teste de laboratório, a mineralização da SDZ foi menor que 2 % da concentração inicial e os resíduos de SDZ permaneceram não extraíveis em sua maior parte, mesmo após 102 dias (HEISE et al., 2006). Até 95 % da ^{14}C -SDZ foi transformada em fração não extraível rapidamente e a formação de resíduos mineralizados foi de menor importância, apenas 2 % do total (KREUZIG; HÖLTGE, 2005). De fato, a formação de RL é frequentemente apontada como o processo mais expressivo de dissipação no caso da SDZ (SUKUL; SPITELLER, 2006; HEISE et al., 2006).

Afora a influência das propriedades da molécula e do solo, não é possível desconsiderar outros fatores quando se deseja compreender o comportamento real do resíduo no campo. Como parece ser o caso das práticas de manejo, a exemplo da sulfacloropiridazina, que sofreu degradação em taxas mais elevadas no solo que sofreu preparo (descompactação da camada arável), porque o revolvimento causou sua maior exposição à ação da microbiota (KAY et al., 2005a). A persistência em campo é afetada também pela interação de fatores climáticos, principalmente temperatura, umidade e pluviosidade (SARMAH et al., 2006).

2.2.3 Lixiviação

Colunas de solo deformado, lisímetros e parcelas de campo podem ser usados para prever o transporte da SDZ da superfície do solo para barragens, canais e rios via escoamento superficial e lixiviação (SARMAH et al., 2007). Após seu aporte na superfície do solo, fatores como a solubilidade em água, constantes de dissociação referentes aos processos de adsorção, taxas de biodegradação, estabilidade das ligações com os constituintes do solo e as condições climáticas afetam a mobilidade do produto (BURKHARDT et al., 2005).

Os fármacos com baixos valores de K_d tendem a lixiviar e serem transportados para os corpos de água subterrâneos, enquanto aqueles que apresentam alta sorção tendem a se acumular em solos ou sedimentos e podem se movimentar horizontalmente através do escoamento superficial e da erosão do solo (BARCELÓ et al., 2003). Ao se acumular na superfície do solo, possíveis efeitos nocivos para o ambiente e saúde humana podem surgir, como a contaminação de alimentos ou de águas superficiais (HIRSCH et al., 1999). Enquanto que a mobilização vertical no perfil do solo caracteriza risco de acúmulo em corpos de água subsuperficiais.

A SDZ já foi detectada na solução percolada em até 30% do total aplicado, em laboratório (WEHRHAN et al., 2006; BLACKWELL et al., 2007; UNOLD et al., 2009). Em diagnóstico de campo, Lindsey et al. (2001) reportaram a ocorrência de SAs na concentração média de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ em águas superficiais e subsuperficiais. Contudo, outros apontam a baixa mobilidade da SDZ, com até 64 % do total aplicado retido entre nos 5 cm (KREUZIG; HOLTGE, 2005) e 3 cm superficiais (KASTEEL et al., 2010) ressaltando que a classificação da SDZ como molécula móvel devido unicamente às baixos K_{ds} , parece superestimar seu potencial de lixiviação em campo.

Cabe destacar que o esterco pode interferir na mobilidade da molécula e representa um fator ambiental que necessita ser avaliado. Enquanto Blackwell et al. (2007) detectou no máximo $0,78 \mu\text{g L}^{-1}$ de SDZ em água lixiviada (20 dias após o início da aplicação de esterco contaminado em solo arenoso), em outro estudo a presença do esterco aumentou em até 6 vezes a quantia de SDZ transportada na solução do solo (LARSBO et al., 2008). Nesse caso o efeito foi atribuído à ligação da molécula com a matéria orgânica dissolvida e ao pH mais básico do esterco. Assim como no caso da degradação, outros fatores como fluxos preferências de drenagem e canais abertos por minhocas (bioturbação) também podem interferir na movimentação da SDZ (KAY et al., 2004).

2.3 Impactos Ambientais

De maneira geral, o impacto de antibióticos veterinários no ambiente irá depender de uma série de fatores, incluindo as propriedades físico-químicas da molécula, o tipo de tratamento e dose, as condições de confinamento, o metabolismo do animal e as taxas de degradação do antibiótico (CUNNINGHAM, 2004). Outros fatores como tipo de solo, clima e ecotoxicidade também influenciam o impacto sobre os ecossistemas (BOXALL, 2004). Uma vez que as SAs em geral apresentam tendência de persistência em solo e são dificilmente biodegradáveis (INGERSLEV; HALLING-SORENSEN, 2000), é provável que continuem a exercer seus efeitos antimicrobianos quando liberadas no ambiente. Como relatado por (KOTZERKE et al., 2008), a presença de SDZ em esterco suíno líquido incorporado ao solo causou redução da atividade microbiana, especificamente quanto aos processos metabólicos do ciclo do nitrogênio. Em contradição, os produtos de degradação da SDZ não influenciaram a reprodução bacteriana em solo (HALLING-SORENSEN, 2003). A literatura atual sobre os efeitos da SDZ na microbiota diverge consideravelmente.

Contudo, foi a geração de bactérias resistentes e a passagem dessa resistência entre organismos não alvos (como os patógenos), que impulsionou a pesquisa ambiental de resíduos xenobióticos e ainda gera grande discussão científica (SNOW et al., 2008). Em um estudo atual, uma bateria de testes ecotoxicológicos foi conduzida com 12 diferentes sulfonamidas, entre elas a SDZ. Os testes foram feitos com duas bactérias, uma marinha (*Vibrio fischeri*) e outra terrestre (*Arthrobacter globiformis*), uma alga unicelular (*Scenedesmus vacuolatus*) e uma planta superior (*Lemna minor*). Nas bactérias, os resultados revelaram ausência de toxicidade de SDZ em concentrações de até 125 mg L⁻¹ para a *A. globiformis* e 25 mg L⁻¹ para *V. fischeri*. Já no caso dos organismos não-alvos, apresentou valores de EC₅₀ próximas as concentrações ambientalmente relevantes, 2,22 mg L⁻¹ para *S. vacuolatus* e 70 µg L⁻¹ para *L. minor*, apresentando riscos aos mesmos e sugerindo que a avaliação dos efeitos crônicos sejam prioridade em relação aos agudos (BIALK-BIELÍŃSKA, 2011). Em oposição, concentrações de sulfametazina e sulfacloropiridina acima de 100 µg g⁻¹ não exerceram efeitos negativos sobre a respiração microbiana (ACCINELLI et al., 2007).

Afora os efeitos na microbiota, os resíduos de SDZ também podem ser absorvidos pelas plantas e interferir em seu desenvolvimento, o que depende bastante das espécies vegetais afetadas (JEMBA, 2002). Os impactos negativos de esterco aplicado em solos

agrícolas estão mais relacionados à quantidades excessivas de nitrogênio e de metais pesados, porém não de antibióticos (THIELE-BRUHN, 2003). Talvez por isso ainda seja difícil encontrar pesquisas sobre o efeito de SAs em plantas. Todavia, a remobilização de resíduos de ^{14}C -SDZ em lodo de esgoto ativado aplicado em cultivo da gramínea *Brassica rapa*, menos do que 3 % dos resíduos ligados foram retransferidos para a fração extraível após o cultivo da planta e somente 0.1 % foi de fato absorvido pela espécie durante todo o experimento (HEISE et al., 2006). Halling-Sorensen (2001) reportou ausência de efeito com até 60 mg L⁻¹ de SDZ em bactérias aeróbicas em lodo de esgoto.

Porém, mesmo no caso de resíduos com alta taxa de dissipação ou baixo potencial de sorção, os metabólitos gerados podem apresentar toxidez comparável ao do composto original (HOFF, 2008) e devem ser também estudados. Apesar da pesquisa e publicação sobre a ocorrência de antibióticos em compartimentos ambientais (água, solo, sedimentos) ter notadamente crescido nos últimos anos, (SARMAH, 2006; KUMMERER, 2008), no Brasil ainda há uma ampla escassez de informações qualitativas e/ou quantitativas a respeito dos efeitos tóxicos e do comportamento e dinâmica ambiental de resíduos de antibióticos no solo (REGITANO; LEAL, 2010).

Com isso, o objetivo desse trabalho é descrever o comportamento ambiental de ^{14}C -SDZ em quatro solos de atributos variáveis e avaliar como esses influenciam na dinâmica da molécula.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e Caracterização dos solos

Foram coletados os 15 centímetros superficiais dos solos, com limpeza da cobertura vegetal, sendo a classificação dos solos feita conforme a EMBRAPA (2006): Latossolo Vermelho distroférico típico (LVd), Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico (LVAd) Neossolo Quartzarênico órtico típico (RQ) e Gleissolo Melânico Alumínico típico (GM). Todas as coletas ocorreram na zona rural do município de Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil. As coordenadas geográficas são: LVd: 22° 37'27" S e 47° 36'67"W; RQ: 22° 45'18" S e 47° 53' 75"W; GM: 22°41'46" S e 47°43'58" W e LVA: 22° 40'20" S e 47° 37'31" W.

A caracterização dos atributos físico-químicos dos solos foi feita no laboratório de Química do Solo, no Departamento de Ciências do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ-USP. A granulometria foi determinada com o método do densímetro (CAMARGO et al., 1986), enquanto as análises químicas foram feitas conforme metodologias propostas por Raij et al. (2001). O carbono orgânico (C - org) foi avaliado através de analisador de partículas elementares (Tabela 2).

Tabela 2 – Atributos físico-químicos dos solos

Solo	pH CaCl ₂	Areia	Silte	Argila	C - org	CTC
-----g kg ⁻¹ -----						mmol _c kg ⁻¹
GM	3,8	6	41	53	85,4	73
LVd	3,9	27	17	56	34,8	53
LVA	4,9	80	8	12	15,8	45
RQ	4,1	93	2	5	15,1	12,5

Os solos GM, LVd e RQ se encontram em áreas não cultivadas. O GM está sob floresta ripária, na cabeceira de drenagem de um pequeno rio. O LVd suporta um remanescente florestal do tipo Floresta Estacional Semidecidual (FESD) e o RQ está sob um fragmento de mata secundária também do tipo FESD. Já o LVAd se encontra em área de pousio agrícola pertencente à área experimental da ESALQ/USP. Todos os solos não apresentam histórico de aplicação de rejeitos agroindustriais, nem de esterco, efluentes industriais ou domésticos, ou seja, são solos não contaminados nem poluídos previamente à condução dos estudos.

3.2 Sulfadiazina

A Sulfadiazina radiomarcada (^{14}C -SDZ) apresentou pureza de 99 %, radioatividade de 3,53 MBq e marcação do isótopo ^{14}C uniforme no anel fenil. A molécula não radiomarcada apresentou pureza de 97 %. Soluções estoque contendo $0,82 \text{ mg mL}^{-1}$ de ^{14}C -SDZ foram preparadas em metanol (pureza HPLC) e armazenadas a -18°C , no escuro. A partir dessa solução, foram elaboradas as soluções de trabalho com concentrações específicas para cada teste.

3.3 Teste de Sorção

Sorção

Inicialmente, alíquotas de 10 mL de cada uma das soluções estoques foram adicionadas a 5 g de solo seco (relação solo:solução = 1:2), em tubos de teflon (50 mL). Seis concentrações (C_1 a C_6) foram testadas: 0,04, 0,26, 0,54, 1,37, 2,75 e $55,43 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, sendo compostas de molécula radiomarcada e não radiomarcada, preparadas em solução $0,005 \text{ M L}^{-1}$ de CaCl_2 . Para detectar possível sorção às paredes dos frascos, foram preparadas amostras em branco, consistindo em duplicatas das soluções estoque sem o solo (total de 12 tubos por solo). Após a adição da molécula nos tubos, os componentes foram homogeneizados em agitador horizontal a 190 rpm durante 48 h e posteriormente centrifugados entre a $2,620 \text{ g}$ por 15 min^{-1} . Alíquotas de 1 mL do sobrenadante foram retiradas para determinar a concentração da substância teste em equilíbrio na solução (C_e) por espectrometria de cintilação líquida. A quantidade adsorvida (C_s) foi calculada pela diferença entre a concentração inicial (C_o) e a concentração de equilíbrio (C_e) na solução do solo e os valores de K_d calculados através da relação: $K_d (\text{L kg}^{-1}) = S (\text{mg g}^{-1}) / C_e (\text{mL g}^{-1})$. Os dados foram ajustados ao modelo de sorção não-linear de Freundlich para a determinação da constante de sorção e de dessorção (K_f) respectivamente, obtida a partir da equação linearizada de Freundlich: $\text{Log } S = \text{Log } K_f + N \text{ Log } C_e$. N representa o coeficiente de inclinação da reta.

Dessorção

Após a retirada de 1 mL para a determinação da concentração em equilíbrio na solução (C_e), outros 4 mL da solução sobrenadante foram descartados, somente nos tubos referentes às concentrações C_1 : $0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$ e C_3 : $0,54 \mu\text{g mL}^{-1}$. Na sequência, em cada tubo de centrífuga foram adicionadas alíquotas de 5 mL de solução fresca de CaCl_2 $0,005 \text{ M L}^{-1}$. Os tubos foram então agitados e centrifugados nas mesmas condições referentes à etapa de adsorção e o procedimento repetido por mais 3 vezes, num total de 4 ciclos de dessorção. Os dados foram ajustados ao modelo de sorção não-linear de Freundlich, como descrito acima para a etapa de sorção. Os resultados foram avaliados e expressos através das isotermas de adsorção e dessorção (OECD, 2000).

3.4 Teste de Dissipação

Após a coleta dos solos referente aos 15 cm superficiais, as folhas e raízes foram removidas e os solos passaram por peneira de malha de 2mm, sendo então armazenados em geladeira a 4°C (em sacos plásticos que permitiam a passagem de ar). O teste foi realizado em frascos biométricos, em duplicata. 50g de solo seco foram adicionados em cada frasco e a umidade ajustada para 60% da capacidade de campo. Os frascos foram pré- incubados durante 15 dias no escuro, em temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, a fim de reativar a população microbiana do solo.

Na sequência, cada amostra foi contaminada com 200 μL de solução de trabalho de ^{14}C -SDZ dissolvida em metanol, resultando em concentração no solo equivalente a $42 \mu\text{g kg}^{-1}$, o próxima das concentrações residuais normalmente diagnosticadas em campo. Os solos foram homogeneizados com auxílio de espátula e devidamente fechados. Após a adição da solução radiomarcada, cada frasco recebeu 10mL de solução 0,2 M de NaOH, para reter o gás carbônico. Semanalmente, alíquotas de 1 mL dessa solução eram retiradas dos tubos e a radioatividade contada em 10 mL de solução cintiladora para a determinação do $^{14}\text{CO}_2$ por contagem em Espectrometria de Cintilação Líquida (ECL), a fim de medir a mineralização da SDZ. Em quatro tempos de análise, 0, 7, 14 e 28 dias (T_0 , T_7 , T_{14} e T_{28} , respectivamente), os solos foram transferidos para tubos de teflon junto com 100 mL de metanol, para extração segundo metodologia adaptada de YANG et al. (2009). O sistema foi então agitado durante 9 horas para uma primeira extração (E1) e por 12 horas para uma segunda extração (E2), ambas em agitador horizontal a 200 rpm.

Depois da contagem dos extratos para a determinação da quantidade total disponível em solução, os mesmos foram concentrados em rotaevaporador a 40 °C até atingirem volume final de 2 mL, de onde alíquotas de 0,1mL foram analisadas por meio de cromatografia de camada delgada (TLC), em conjunto com o padrão de ^{14}C -SDZ, para a caracterização da radioatividade encontrada (OECD 2002a). As placas foram eluídas com 100 mL de acetato-de-etila (KREUZIG; HOLTGE 2005). A estimativa da radioatividade referente às porcentagens da molécula original de SDZ e de metabólitos gerados ao longo do ensaio foram realizadas através da revelação das placas em filme fosforescente por 24 horas, seguida de escaneamento no equipamento Cyclone (Perkin-Elmer). Após a extração, os solos foram secos ao ar e homogeneizados. Três alíquotas de 0,2 g de cada amostra foram separadas e queimadas em oxidador de amostras biológicas Oxidizer – OX 500, para a quantificação dos resíduos não extraíveis. Os dados foram ajustados ao modelo de cinética de primeira ordem: $C = C_0 e^{-kt}$, em que C = concentração no tempo (t), C_0 = concentração inicial e k = constante cinética ($r > 0,91$, $p < 0,01$), o que permitiu calcular os valores de meia-vida de dissipação ($t_{1/2}$) como sendo $t_{1/2} = \ln 2 / k$.

3.5 Análise de Carbono da Biomassa Microbiana

O C da biomassa microbiana refere-se a uma fração do C “vivo” do solo, proveniente das células microbianas. Com o intuito de avaliar possíveis efeitos na microbiota do solo causados pela SDZ, realizou-se a análise do Carbono da Biomassa Microbiana em amostras controle (sem a molécula) e em amostras incubadas com a molécula não radiomarcada. As análises foram feitas em triplicata para cada tratamento, no tempos inicial ($t = 0$ dias) e no tempo final ($t = 28$ dias) do experimento de degradação. O método utilizado foi o de fumigação-extração (VANCE, 1987). As amostras anteriormente conservadas a 4°C foram peneiradas em malha de 2mm, tomando-se 50 gramas de solo (equivalente ao peso seco) para incubação em frascos biométricos, a 60 % da capacidade de campo, como na montagem dos frascos para o experimento de degradação. Os frascos foram pré-incubados durante 14 dias, em sala climatizada a $25 \pm 1^\circ \text{C}$, na ausência de luz. Em cada tempo de análise, 3 frascos de cada solo foram sacrificados e duas alíquotas de 10g de solo foram retiradas de cada um. Os teores de C foram calculados pela diferença entre os teores da amostra fumigada e não-fumigada, como segue (equação 1):

$$C \text{ (}\mu\text{g/g de solo)} = (C_f - C_{nf})/K_c$$

Sendo: C_f e C_{nf} os teores de C nos solos fumigados e não fumigados, respectivamente, e K_c é o coeficiente de eficiência de extração considerado ($= 0,38$ nesse estudo) (VANCE et al., 1987).

3.6 Teste de Lixiviação

Para a avaliação da mobilidade da SDZ, os solos RQ e LVA foram selecionados, pois eles representam os cenários mais prováveis de ocorrência de perdas por lixiviação devido a textura mais arenosa de ambos. Para a montagem das colunas, os solos foram secos ao ar, peneirados em malha de 2 mm e homogeneizados. Os testes foram realizados em triplicata, conforme metodologia adaptada da OECD (2002b). Cada coluna foi empacotada com solo até 30 cm de comprimento, sendo a massa de solo equivalente pesada. As colunas foram saturadas por fluxo ascendente com água deionizada por aproximadamente 3 horas, e então drenadas livremente. Dois ensaios foram realizados, onde um consistiu na aplicação da molécula diretamente no solo (colunas não envelhecidas) e o outro recebeu a molécula por meio de solos envelhecidos com a SDZ (amostras incubadas anteriormente por 62 dias foram adicionados à superfície das colunas após o restante delas ser empacotado com solo não contaminado). A concentração inicial de ^{14}C -SDZ nessas colunas ($29 \mu\text{g kg}^{-1}$) foi estipulada pela oxidação prévia do solo envelhecido, enquanto as colunas não envelhecidas receberam a molécula na concentração de $23 \mu\text{g kg}^{-1}$, diluídas em 200 μL da solução de trabalho. Cada coluna recebeu solução 0,01 M de CaCl_2 continuamente por 62 h, com vazão média de 8,2 mL h^{-1} , o equivalente a uma chuva de aproximadamente 258 mm^{-1} . A cada 12 horas, alíquotas de 1 mL do lixiviado eram retiradas e contados em cintilador líquido para a quantificação da molécula. Ao fim do teste, as colunas foram esvaziadas e os solos foram seccionados em 7 profundidades: 0 - 2,5 cm, 2,5 - 5 cm, 5 - 10 cm, 10 - 15 cm, 15 - 20 cm, 20 - 25 cm e 25 - 30 cm. As camadas de 0-2,5 cm sofreram extração com MeOH, a semelhança do realizado no teste de degradação. Após a secagem e homogeneização dos solos, amostras de 0,2 g de cada camada foram oxidadas em triplicata, a fim de determinar a distribuição da molécula ao longo das colunas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sorção

O modelo de Freundlich ajustou-se adequadamente às isotermas de sorção ($r^2 \geq 0,99$, $p < 0,01$) (Tabela 3 e Figura 3). Valores de $N < 1$ evidenciam que o comportamento sortivo da SDZ não é linear, ou seja, depende da concentração inicial do soluto. Em outras palavras, ocorre saturação dos sítios de sorção à medida que a concentração do soluto aumenta, diminuindo assim o seu potencial de sorção (WEBER; MILLER, 1989). O aumento das concentrações iniciais de SDZ de 0,044 para 55,430 $\mu\text{g mL}^{-1}$ resultou em diminuição nos valores parciais de K_d de 80,0 para 14,8 no caso do GM, por exemplo (Tabela 4), evidenciando o efeito da concentração sobre a extensão da sorção, comportamento descrito anteriormente (SUKUL et al., 2008; WEHRHAN et al., 2010) no caso dessa molécula e também para outras classes de antibióticos (HALLING-SORENSEN et al., 1998).

Tabela 3 – Parâmetros do modelo de Freundlich que descrevem o comportamento sortivo da SDZ

Solo	Sorção					Dessorção C_1				Dessorção C_3			
	K_f	N	R^2	K_d médio	% sorvida	K_f	N	% dess	deltaH	K_f	N	% dess	deltaH
GM	24,7	0,8	0,99	$49 \pm 21,9$	97,2	0,1	0,04	2,8	18	1,4	0,04	3,2	18,5
LVd	6	0,8	0,99	$8 \pm 2,8$	83,9	0,1	0,02	4,5	37	1,1	0,06	8,1	13,1
LVA	2,7	0,7	0,99	$4,4 \pm 2,7$	80	0,1	0,06	8,1	11	0,9	0,05	8,8	12,2
RQ	1,5	0,8	0,99	$1,8 \pm 0,7$	56,4	1,1	0,12	19,5	6	1,6	0,14	24,2	5,3

K_f = coeficiente de sorção de Freundlich; N = coeficiente de inclinação de Freundlich; K_d médio = coeficiente aparente de sorção, média entre o coeficiente relativo à cada concentração testada.

Tabela 4 – Efeito da concentração no coeficiente de sorção, K_d (L kg^{-1})

Solo	$K_d C_1^*$	$K_d C_3^{**}$
GM	80,1	14,8
LVd	11,1	3,4
LVA	8,4	0,9
RQ	2,6	0,7

* $C_1 = 0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$; ** $C_3 = 55,43 \mu\text{g mL}^{-1}$

Figura 3 – Isotermas de Freundlich para expressar a sorção (círculos cheios) e a dessorção (círculos vazios) da SDZ nos diferentes solos.

Paralelamente, valores $N < 1$ e distintos sugerem que os coeficientes de sorção de Freundlich (K_f) não podem ser utilizados para comparar os potenciais de sorção entre solos, uma vez que seu comportamento não é linear (OLIVEIRA JR.; REGITANO, 2009). Para fins de discussão, usaremos os valores de K_d obtidos na menor concentração ($0,044 \mu\text{g mL}^{-1}$ ou $88 \mu\text{g kg}^{-1}$) (Tabela 3), pois representa mais adequadamente as concentrações residuais encontradas em solos agriculturáveis, que normalmente variam de 1 a $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ (THIELEBRUNH, 2003; LEAL et al., 2012). Assim, houve considerável variação nos valores de K_d entre os diferentes solos (2,6 a $80,0 \text{ L kg}^{-1}$), o que correspondeu a cerca de 56 e 97% das quantidades aplicadas, respectivamente (Tabela 3). Isto significa que o potencial de sorção da SDZ pode variar de baixo/moderado ($< 5,0 \text{ L kg}^{-1}$) a muito alto ($> 50 \text{ L kg}^{-1}$) (TOLLS 2001),

dependendo dos atributos físico-químicos dos solos, conforme já relatado anteriormente (BOXALL et al., 2002; HALLING-SORENSEN et al., 2003; THIELE-BRUHN et al., 2004; KAY et al., 2005; LEAL, 2012). No entanto, para as SAs em geral, a literatura cita valores médios variando de 0,6 a 7,4 L kg⁻¹ (SARMAH et al., 2006), o que sugere baixo a moderado potencial de sorção para esta classe de antibióticos nos solos estudados e enfatiza seu potencial de mobilidade no perfil do solo, podendo atingir corpos de água subterrâneos (HIRSCH et al., 1999). Infelizmente, a maioria dos trabalhos adotou concentrações iniciais de antibióticos muito maiores do que aquelas relevantes ambientalmente ($>> 100 \mu\text{g kg}^{-1}$) (THIELE-BRUHN et al., 2004; ACCINELLI et al., 2007; SUKUL et al., 2008; YANG et al., 2009), provavelmente devido às necessidades da técnica analítica empregada (cromatografia), o que deve ter subestimado os valores reais de K_d . Claramente, o uso de técnicas radiométricas constitui vantagem sobre as técnicas cromatográficas e outras ferramentas analíticas mais comumente empregadas em estudos ambientais do gênero, pois são capazes de quantificar concentrações mais próximas às residuais encontradas no solo após a administração veterinária, comumente abaixo dos limites de quantificação impostos pela cromatografia.

Os atributos do solo que mais comumente afetam o comportamento sortivo das SAs são o teor de matéria orgânica, a textura e a CTC, o que também foi aqui observado ($r = 0,98, 0,77$ e $-0,76$ para os teores de carbono orgânico, CTC e areia, respectivamente, $p < 0,01$), através de análise de correlação linear simples. O solo GM, com maior teor de carbono orgânico (8,5%, assumindo densidade do solo igual a 1,0 g cm⁻³), maior CTC (73 mmol_c kg⁻¹) e menor teor de areia (6%) (Tabela 1), apresentou o maior potencial de sorção (80,0 L kg⁻¹). Já o solo RQ, com o menor teor de carbono orgânico (1,5%), menor CTC (13 mmol_c kg⁻¹) e maior teor de areia (93%), apresentou o menor potencial de sorção (2,6 L kg⁻¹) (Tabela 2). Com base na classificação proposta para pesticidas, a SDZ apresentaria alto potencial de lixiviação apenas no solo RQ ($K_d < 5 \text{ L kg}^{-1}$), o que ratifica a importância dos atributos do solo sobre a dinâmica ambiental da SDZ.

O valor de pH do solo não apresentou correlação com o potencial de sorção da SDZ, apesar de muitas evidências anteriores apontarem para tal (THIELE-BRUHN; AUST 2004; GAO; PEDERSEN, 2005; LERTPAITONPAN et al., 2009; KASTEEL et al., 2010). De forma geral, os valores de K_d das SAs aumentaram de < 1 a 30 L kg⁻¹ com a diminuição nos valores de pH (BOXALL et al., 2002). Entretanto, a grande maioria desses trabalhos adotaram solos formados sob condições de clima temperado, apresentando maiores valores de pH ($>$

6), o que culmina na desprotonação da molécula e repulsão eletrostática com os colóides do solo carregados negativamente. Porém, comportam-se como ácidos-fraco na faixa de pH relevante ambientalmente (3,5 a 8,0), uma vez que o valor de sua constante de dissociação básica é muito baixa ($pK_{a1} < 2,6$). Portanto, a não observância de correlação deve-se primariamente aos baixos valores de pH nos solos estudados ($pH\ CaCl_2 = 3,9$ a $4,9$), o que favorece a presença das moléculas na forma neutra ($> 97\%$ das moléculas estão nesta forma) (Tabela 3), um indício de que outros mecanismos além das interações eletrostáticas ditam a sorção da SDZ. A literatura suporta a partição hidrofóbica à fração orgânica do solo como importante mecanismo de sorção para a SDZ (THIELE-BRUHN et al., 2004; SUKUL et al., 2008). A alta correlação entre os coeficientes de sorção e o teor de carbono orgânico do solo ($r = 0,98$, $p < 0,01$) parece ratificar isso. No entanto, valores de $N < 1$ conforme aqui observados sugerem não-linearidade e que mecanismos específicos de ligação são importantes, provavelmente envolvendo sítios internos de ligação (PIGNATELLO; HUANG, 1991), o que já foi especificamente relatado para a SDZ (BIALK; PEDERSEN, 2005; KAHLE; STAMM, 2007).

Outros mecanismos, tais como o aprisionamento físico dentro dos poros do solo, pontes de H e troca de cátions, também foram relacionados à sorção da SDZ em solos (THIELE-BRUHN et al., 2004; GAO; PEDERSEN, 2005; ZARFL, 2008). O baixo potencial de dessorção desta molécula ($< 24,2\%$ da quantidade sorvida ou $< 12,1\%$ da quantidade aplicada) (Tabela 3), mesmo para um solo com baixa reatividade como o RQ (areia = 93% e $CTC = 13\ mmol_c\ kg^{-1}$), ratifica a existência de outros mecanismos específicos envolvidos na sorção da SDZ, uma vez que a partição hidrofóbica representa um mecanismo não específico de sorção (GEVAO et al., 2000). O potencial de dessorção da SDZ seguiu a seguinte ordem nos solos estudados: $GM < LVd < LVA < RQ$. Isto significa que quanto maior o potencial de sorção, menor é o potencial de dessorção da molécula; ou seja, maior a histerese da reação no solo (maior o valor de ΔH) (Tabela 3).

Não foi objetivo desse estudo identificar os mecanismos envolvidos na sorção da SDZ. No entanto, a identificação, distinção e compreensão destes seria uma etapa subsequente, extremamente importante para a predição de seu destino ambiental em solos tropicais.

4.2 Dissipação

Para todos os solos e tempos de incubação, a recuperação variou de 83,7 a 106,7% da radioatividade aplicada, com valor médio de $94,6 \pm 9,7\%$, ratificando a exatidão e a precisão da técnica adotada (radiometria). A recuperação do método de extração foi bastante razoável ($> 80\%$), exceto no solo GM ($= 60,5\%$) devido à sua elevada e rápida reatividade com a SDZ, conforme verificado pelos estudos de sorção. A mineralização da SDZ foi baixa nos solos estudados ($< 3\%$ da quantidade aplicada após 28 dias de incubação) (Tabela 5), o que traduz a ausência de degradação completa da molécula (KREUZIG; HOLTGE, 2005; LAMSHOFT et al., 2010). Esses valores são coerentes com os resultados de estudos prévios (KREUZIG; HOLTGE, 2005; ZARFL, 2008; YANG et al., 2009). De modo geral, especula-se que a fixação de compostos antibióticos na superfície ou nos poros da matriz do solo protege-os do ataque microbiano, não havendo alterações em suas estruturas moleculares (HALLING-SORENSEN et al., 2002) e, conseqüentemente, resultando em concentrações menores do que aquelas necessárias para o início da degradação biológica (THIELE-BRUHN, 2003).

Do mesmo modo, o metabolismo da SDZ pode ter gerado intermediários recalcitrantes, com maiores potenciais de sorção às partículas do solo, o que acarreta em diminuição da biodisponibilidade. Além disso, a composição e a densidade microbiana também afetam a taxa de mineralização dos xenobióticos em solos, pois são variadas as linhagens capazes de degradá-los além de existir especificidade entre as linhagens e os poluentes (FERREIRA; MORITA, 2011), somados à dificuldade em manter as condições favoráveis ao desenvolvimento microbiano, especialmente em condições de laboratório (KUMMERER, 2008).

As quantidades de ^{14}C -resíduos extraídas diminuíram rápida e abruptamente com o tempo de residência da molécula no solo; ou seja, com o seu tempo de envelhecimento no solo ($< 16,6\%$ após 7 dias de incubação e $< 8,2\%$ após 28 dias de incubação) (Tabela 5), independentemente dos seus atributos físicos e químicos. Conseqüentemente, as quantidades de ^{14}C -resíduos não-extraídas aumentaram rápida e abruptamente ($> 78,0\%$ após 7 dias de incubação e $> 82,4\%$ após 28 dias de incubação). O efeito do tempo residual de uma molécula no seu potencial de retenção no solo é descrito como envelhecimento, definido como um processo lento de sorção ao solo, podendo ser irreversível ou parcialmente reversível e, portanto, formando uma fração residual (não-extraível) no solo (PIGNATELLO, 1999), também denominada de resíduos ligados (RLs) (GEVAO et al., 2000). Deste modo, podemos

dizer que a formação de RLs representou a principal forma de dissipação da SDZ, responsável pela transferência da molécula da solução para a matriz sólida do solo, compondo o seu sumidouro final primário (KREUZIG; HOLTGE, 2005; HEISE et al., 2006; YANG et al., 2009). De fato, são frequentes os relatos sobre o efeito do envelhecimento da SDZ em solos e esterco (THIELE-BRUHN et al., 2004; KAY et al., 2004; SCHAUSS, 2009), assim como para a maioria dos antibióticos veterinários (KUMMERER, 2008). A formação de RLs deve ser entendida como um processo controlador da disponibilidade da SDZ na solução do solo, uma vez que a natureza de suas ligações às partículas do solo é desconhecida (ZARFL, 2008). A literatura relata quantidades muito reduzidas de SDZ transferidas para tecidos vegetais ou animais, sugerindo que a fração de RLs é expressiva, porém dificilmente poderá representar riscos ambientais significativos, já que para exercer efeito antimicrobiano, a molécula precisa estar dissolvida na solução do solo para ser absorvida pela célula bacteriana (ZARFL, 2008).

Tabela 5 – Balanço de massa da SDZ (Continua)

Tempo	¹⁴ C-CO ₂	¹⁴ C-extraíveis	¹⁴ C-RLs	SDZ	Metabólito	Meia-vida
Dias	-----% do aplicado-----					Dias
Solo GM						
0	0,6	60,5	37,6	24,4	6,4	2,7
7	1,0	16,6	89,1	6,1	5,1	
14	1,2	12,1	83,6	5,3	0	
28	2,0	8,2	88,2			
Solo LVd						
0	0,9	82,2	14,6	57,8	0	2,6
7	1,4	15,7	86,0	5,3	4,6	
14	1,8	10,6	77,3	3,4	3,5	
28	2,5	7,2	82,4			
Solo LVA						
0	1,5	87,9	6,2	73,4	0	2
7	2,1	9,8	80,2	3,4	3,4	
14	2,7	6,3	79,2	2,5	2,2	
28	3,0	3,8	76,9			

$^{14}\text{C-CO}_2$ = quantia mineralizada; $^{14}\text{C-extraíveis}$ = quantia extraída em MeOH; $^{14}\text{C-RLs}$ = quantia não extraída em MeOH.

Tabela 5 – Resultados do estudo de degradação da SDZ

(Continuação)

Tempo	¹⁴ C-CO ₂	¹⁴ C-extraíveis	¹⁴ C-RLs	SDZ	Metabólito	Meia-vida
Dias	-----% do aplicado-----					Dias
Solo RQ						
0	0,7	87,5	8,0	51,5	14,7	2,7
7	1,2	16,3	78,0	4,1	5,1	
14	1,4	11,2	78,6	4,0	3,3	
28	1,6	7,5	78,9			

$^{14}\text{C-CO}_2$ = quantia mineralizada; $^{14}\text{C-extraíveis}$ = quantia extraída em MeOH; $^{14}\text{C-RLs}$ = quantia não extraída em MeOH.

Apesar dos mecanismos responsáveis pela formação de resíduos ligados não serem completamente compreendidos (SARMAH et al., 2006), no caso da SDZ o processo tem sido associado às interações químicas, como ligações covalentes à fração orgânica do solo, através de reações mediadas por enzimas e óxidos metálicos capazes de oxidarem a MOS, gerando radicais fenoxi capazes de se auto associarem formando oligômeros e/ou polímeros ou formarem associações cruzadas com a amina aromática da molécula (BIALK, 2006). Os processos físicos de difusão e aprisionamento (ou sequestro) da SDZ e seus metabólitos nos poros do solo também são especulados como possíveis mecanismos envolvidos na formação de RLs (ZARFL, 2008). Em teoria, eles podem atuar concomitantemente aos processos químicos, contribuindo para a imobilização e a proteção do antibiótico contra o ataque bacteriano a longo prazo (SARMAH et al., 2006).

A dissipação da SDZ foi muito rápida, especialmente no solo GM, em que 75,6% da SDZ havia dissipado no tempo zero; ou seja, apenas 24,4% da SDZ aplicada mostrou-se disponível (Figura 5). Após sete dias de incubação, independentemente do tipo de solo, a dissipação foi maior que 93,9% da quantidade aplicada (Figura 5). Isto se deve principalmente à rápida formação de RLs (Tabela 4). Os valores de $t_{1/2}$ foram sempre $< 2,7$ dias, ratificando a rápida dissipação da SDZ nos solos. Resultados semelhantes foram encontrados em pesquisas anteriores (KREUZIG; HOLTGE, 2005; ACCINELLI et al., 2007; YANG et al. 2009). Por outro lado, alguns estudos relataram alta persistência da SDZ, com DT_{50} variando de 30 dias (na superfície) a até 6 meses (em subsuperfície) (KASTELL et al., 2010), semelhante à maioria dos estudos conduzidos em campo quando a molécula é incorporada ao solo via esterco (CRISTIAN et al., 2003; STOOB et al., 2007; LAMSHOFT et al., 2010). Nesses

casos, o pH é sempre acima de 6. Possivelmente, as condições ácidas dos solos tropicais resultem em menor persistência, por motivos ainda não elucidados.

Apesar de a degradação biológica ser considerada uma via importante de dissipação de antibióticos em solos em condições aeróbicas (BOXALL, 2004), o fato de um metabólito (não identificado) já ter surgido no tempo zero nos solos GM e RQ (Tabela 4 e Figura 5) sugere que a degradação da SDZ envolve primariamente processos químicos, uma vez que não haveria tempo suficiente para que ocorresse o ataque microbiano, pois metanol foi utilizado no processo de extração e este pode ser letal à microbiota. Portanto, dificilmente essa quebra atípica (sem registros na literatura), resultando no rápido aparecimento de um metabólito em relativa alta proporção (14,7% da quantidade aplicada no solo RQ no tempo zero), possui origem biológica. O fato dos solos apresentarem biomassas bastante distintas entre si quando tratados com SDZ (Tabela 5) e, mesmo assim, mostrarem igualmente rápida dissipação corrobora com a possibilidade de degradação química. Caso contrário, esperar-se-ia que quanto maior a biomassa do solo, maior a sua biodegradação.

Figura 5 - Dissipação da SDZ e formação de metabólito (não identificado)

Além dos indícios de baixa contribuição da microbiota na quebra da SDZ, a análise do carbono da biomassa microbiana apontou curiosamente níveis um pouco maiores para as amostras que receberam SDZ do que para as amostras controle (Tabela 6), independentemente do período de incubação (0 ou 28 dias), o que sugere ausência de ação deletéria à microbiota do solo na concentração estudada ($42 \mu\text{g kg}^{-1}$), conforme relatado para concentrações até $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ no caso da sulfametazina (ACCINELLI et al., 2007). De fato, em doses crônicas (ambientais), as pesquisas apontam que o maior risco associado ao uso de antibióticos consiste na seleção de linhagens de bactérias resistentes e na transferência dessa resistência para organismos patogênicos (KOTZERKE et al., 2008; BIÁLK-BIELÍŃSKA et al., 2012). E esses efeitos são imperceptíveis a curto prazo.

Tabela 6 – Análise do carbono da biomassa microbiana

Solo	Biomassa ($\mu\text{g C g}^{-1}$ solo)			
	0 dia		28 dias	
	Controle	SDZ	Controle	SDZ
GM	1,63	1,88	0,88	1,04
LVd	0,94	1,08	0,69	0,72
LVA	0,53	0,58	0,72	0,42
RQ	0,19	0,27	0,22	0,17

Vimos que a dissipação da SDZ é rápida e primariamente devido a formação de RLs. A sua transformação (degradação) também é rápida e envolve primariamente processos químicos, apesar da taxa de mineralização ser lenta. Associados ao fato de que a SDZ apresentou baixíssima mobilidade em todos os solos, mesmo no RQ, com baixo valor de K_d ($2,6 \text{ L kg}^{-1}$), os resultados apontam para a possibilidade de que seja(m) o(s) metabólito(s) o(s) principal(ais) responsável(eis) pela rápida e extensa interação dessa molécula com a matriz do solo, pois este solo apresentou a maior concentração do metabólito já no tempo zero, apesar de sua baixa biomassa e baixo teor de C-org. Trabalhos anteriores indicam que os produtos intermediários resultantes da degradação da SDZ permanecem na matriz mesmo após excessivas extrações (KREUZIG; HOLTGE, 2005), o que traduz no aumento de sua persistência no ambiente (ZARFL, 2008). Embora a microbiota do solo possa exercer papel relevante na formação de RLs para a SDZ (KREUZIG; HOLTGE, 2005), os resultados não indicam a ocorrência da biodegradação como via expressiva de dissipação no caso da SDZ.

Portanto, exploramos a possibilidade de duas vias de degradação físico-químicas: a hidrólise ácida e a hidroxilação do grupo anilina. Nossos solos são bastante ácidos ($\text{pH-CaCl}_2 < 4,9$), o que poderia facilitar a hidrólise ácida da SDZ na presença de metanol (BIALK-BIELÍNSKA et al., 2012). Apesar do processo ter sido relatado para antibióticos em outras matrizes ambientais (HALLING-SORENSEN, 2002), a hidrólise ácida exerce papel secundário na dissipação SAs em solos (ZARFL, 2008; YANG et al., 2009), uma vez que essas moléculas não apresentam estruturas facilmente hidrolisáveis (LIU et al., 2010). De fato, a SDZ mostrou-se estável à hidrólise ácida em meio aquoso, dissipando apenas 18% após 14 dias de incubação a pH 4,7 (YANG et al., 2009). E mesmo em soluções aquosas, a sua dissipação foi menor que 20% após 30 dias de incubação a pH 4,0 (BIALK-BIELÍNSKA

et al., 2012). Esses resultados indicam que a hidrólise ácida ocupa papel limitado na degradação da SDZ enquanto processo químico de dissipação.

A hidroxilação do grupo anilina também foi identificada como via de degradação abiótica para as SAs, especialmente para a SDZ, sendo que os produtos intermediários apresentaram elevada estabilidade e, portanto, resistência à mineralização (CALZA et al., 2004). A hidroxilação também foi apontada na transformação química de ^{14}C -SDZ em esterco envelhecido (SPITELLER et al., 2010). Outra pesquisa mostrou que os principais metabólitos resultantes da quebra da SDZ em solos adubados com esterco foram a OH-SDZ e Ac-SDZ, havendo predomínio da SDZ e da OH-SDZ nos RLs (ZARFL, 2008). Em paralelo, Bialk e Pedersen (2008) observaram que houve formação de ligações covalentes entre a SDZ e os ácidos húmicos do solo através do grupo amina. A hidroxilação não altera o grupo amina da SDZ (HOFF, 2008), o que permite especular que a OH-SDZ possa interagir especificamente com a fração orgânica do solo, uma evidência de que talvez a rápida e expressiva formação de RLs seja consequência da hidroxilação e da subsequente interação da OH-SDZ com o solo, formando os RLs. Isso também culminaria na bioindisponibilidade dessa parcela, uma vez que retida na fase sólida do solo sua absorção pelas células bacterianas e pelas plantas é impedida.

4.3 Lixiviação

A recuperação da radioatividade aplicada nas colunas variou de 82,7 a 109,5%, com valor médio de $95,4 \pm 8,7\%$, mais uma vez ratificando a exatidão e a precisão da técnica adotada (radiometria). Apenas os solos com maiores potenciais de lixiviação teóricos (LVA e RQ) foram testados devido principalmente a seus maiores teores de areia ($> 80\%$ areia) e menores de carbono orgânico ($< 15,7 \text{ g dm}^{-3}$).

A SDZ mostrou baixo potencial de lixiviação, o que correspondeu a $< 0,06$ ou $< 0,11\%$ das quantidades aplicadas nos solos LVA e RQ, respectivamente, independentemente do envelhecimento e de baixo potencial de sorção nesses solos, principalmente no solo RQ ($K_d = 2,6 \text{ L kg}^{-1}$). Além disso, a redistribuição da SDZ foi maior no perfil dos solos recém aplicados do que nos envelhecidos (2 meses), mas mesmo assim a grande maioria da sua radioatividade (77,1 e 60,2% nos solos LVA e RQ, respectivamente) ficou retida na forma de RLs nos primeiros 5 cm, ratificando a baixa mobilidade da molécula no perfil do solo (Figura 8). Nos solos envelhecidos, a mobilidade da SDZ no perfil dos solos foi praticamente nula uma vez

que a grande maioria da radioatividade ($> 95,6\%$) ficou nos primeiros 2,5 cm, o que correspondeu praticamente à camada de solo envelhecido adicionada ao topo da coluna. A menor mobilidade nos solos envelhecidos era esperada, pois a grande maioria da SDZ já havia dissipado principalmente na forma de RLs, como indicado pelo teste de dissipação. A ligeira menor mobilidade no solo LVA do que no RQ também seria esperada devido ao seu maior potencial de sorção (Tabela 3), reflexo de maior teor de argila e maior CTC.

Figura 8 – Distribuição da SDZ em LVA e RQ envelhecidos e não envelhecidos

Alguns trabalhos na literatura já haviam apontado a baixa mobilidade da SDZ no perfil dos solos, com até 64 % do aplicado ficando retido nos primeiros 5 (KREUZIG; HOLTGE, 2005) ou 3 cm da camada superficial (KASTEEL et al., 2010), ressaltando que a sua classificação como móvel em função dos baixos valores de K_d é incorreta e pode superestimar o real potencial de lixiviação da SDZ. A baixa mobilidade pode ser ratificada pelo seu baixo escoamento superficial, pois apenas 0,57 % da SDZ aplicada na forma de esterco bovino foi encontrada neste material (BURKHARDT et al., 2005). No entanto, outros trabalhos conduzidos em solos de clima temperado detectaram de 4,1 % a 27,6 % da SDZ aplicada na solução lixiviada e de escoamento superficial (BOXALL et al., 2002; WEHRHAN et al., 2006; BLACKWELL et al., 2007; UNOLD et al., 2009). Solos tropicais normalmente apresentam menores valores de pH e a fração argila mais intemperizada (com menor CTC, mas maiores teores de óxidos e hidróxidos de Fe e Al), o que pode ter contribuído para a rápida degradação química da molécula (conforme verificado anteriormente), subsequentemente favorecendo a formação dos RLs. De fato, na camada mais superficial (0-5 cm) dos solos recém-aplicados, a maioria das moléculas de SDZ permaneceu na forma de RLs, correspondendo a 81,4 e 74,5% da radioatividade total nos solos LVA e RQ, respectivamente. A análise da radioatividade extraída nas camadas de 0 – 2,5 cm indicou a presença de um metabólito (também não identificado) mas com o mesmo tempo de retenção do estudo de dissipação, correspondendo a 21,2 % (LVA) e a 5,6% (RQ) do total extraído. Considerando que a média geral de retenção da SDZ nessa camada foi de 95, 3 %, essas quantias são consideravelmente altas e podem indicar a ocorrência do mesmo processo de degradação.

Os resultados acima corroboram para rápida quebra da SDZ e sua baixa mobilidade, conforme também relatado para a sulfacloropiridazina (BOXALL et al., 2002). É pressuposto que os produtos da transformação (metabólitos) exibem propriedades de sorção diferentes (isotermas, cinética, reversibilidade) em relação ao composto original. Alguns autores detectaram a presença da OH-SDZ em soluções percoladas de estudos em colunas com solos de clima temperado, correspondendo a até 4,8% do total lixiviado (WEHRHAN et al., 2006; UNOLD et al., 2009), o que indica que esta molécula apresenta potencial de mobilidade. Talvez, os óxidos e hidróxidos de Fe e Al abundantes nos solos de clima tropical favoreçam a retenção da OH-SDZ, questão essa que ainda necessita de comprovação. De qualquer maneira, torna-se crucial entender a dissipação da SDZ e como seus metabólitos interagem com a matriz do solo para tentar prever seu potencial de transporte no ambiente (KUMMERER, 2008). Os resultados apontam para o baixo risco de contaminação dos

mananciais de água subterrâneos com SDZ em condições tropicais, apesar de seu relativo baixo potencial de sorção. Contudo, retida na superfície do solo, a SDZ apresenta riscos de contaminação via escoamento superficial e erosão.

5 CONCLUSÕES

O potencial de sorção da SDZ variou consideravelmente em função dos atributos dos solos e das concentrações testadas ($K_d = 0,7$ a $80,0 \text{ L kg}^{-1}$). Os atributos dos solos que mais influenciaram a sorção foram a CTC e os teores de carbono orgânico e areia. A dessorção da SDZ foi baixa, ratificando a histerese e a inacessibilidade da molécula aos demais processos de dissipação ambiental. A partição hidrofóbica e a complexação aos óxidos de Fe e Al são alguns dos possíveis mecanismos envolvidos na sorção da SDZ.

A SDZ sofreu rápida dissipação ($t_{1/2} < 2,7$ dias). A formação de RLs foi a principal via de dissipação, enquanto a taxa de mineralização foi insignificante. Houve quebra da molécula e a subsequente formação de metabólitos já no tempo zero, o que parece ter contribuído para a formação dos RLs. A transferência da SDZ para a fração não disponível no solo possivelmente representa um reservatório ambiental de longo prazo, retardando a degradação da molécula e diminuindo os riscos de lixiviação e contaminação ambiental.

As quantidades de SDZ lixiviadas foram extremamente reduzidas ($< 0,11\%$ do aplicado) e a maioria da molécula permaneceu retida nos primeiros 5 cm do solo. Embora a literatura aponte risco de lixiviação devido aos baixos K_{ds} , mesmo no solo de menor sorção ($K_d 2,6 \text{ L kg}^{-1}$) menos de 1 % do total aplicado sofreu lixiviação. Esse resultado pode ser explicado pelo seu baixo potencial de dessorção e pela rápida formação de RLs em todos os solos. A formação de metabólitos também pode ter ocorrido nas colunas, culminando em maior retenção no solo, a semelhança do observado durante o teste de dissipação.

Os processos que afetam o destino ambiental da SDZ em solo estão interconectados e devem ser analisados simultaneamente para a compreensão dos riscos ambientais inerentes aos seu uso em solos tropicais. Os resultados acima mostram a baixa disponibilidade da SDZ na solução de solos tropicais, o que aponta para um baixo risco de contaminação ambiental de corpos de água através da lixiviação, mesmo em solo de baixo K_d , embora o escoamento superficial e a erosão possam transportar a molécula horizontalmente até corpos de água superficiais.

REFERÊNCIAS

- ACCINELLI, C.; KOSKINEN, W.C.; BECKER, J.M.; SADOWSKY, M.J. Environmental fate of two sulfonamide antimicrobial agents in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Minnesota, v. 55, p. 2677-2682, Oct. 2007.
- ALABURDA, J.; RUVIERI, V.; SHUNDO, L.; ALMEIDA, A.P.; TIGLEA, P.; SABINO, M. Sulfonamidas em leite por cromatografia líquida de alta eficiência com derivação pré-coluna e detecção por fluorescência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, São Paulo, v. 42, p. 1587-1592, 2007.
- AL-AHMAD, A.; DASCHNER, F.D.; KÜMMERER, K. Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G and sulfamethoxazole, and inhibition of waste water bacteria. **Achievements of Environmental Contamination and Toxicology**, Mannheim, v. 37, p. 158-163, 1999.
- BARCELÓ, D.; DÍAZ –CRUZ, M.S.; ALDA, M.J.L. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. **Trends in Analytical Chemistry**, Barcelona, v. 22, n. 6, p. 340-351, 2003.
- BARCELO, D.; DIAZ-CRUZ, M.S.; GARCIA-GALÁN, M.J. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. **Trends in Analytical Chemistry**, Barcelona, v. 27, n. 11, p. 1008-1022, 2008.
- BATT, A.L.; BRUCE, I.B.; AGA, D.S. Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges. **Environmental Pollution**, New York, v. 142, n. 2, p. 295-302, 2006.
- BIALK-BIELÍŃSKA, A.; STOLTE, S.; ARNING, J.; UEBERS, U. BÖSCHEN, A.; STEPNOWSKI, P.; MATZKE, M. Ecotoxicity evaluation of selected sulfonamides. **Chemosphere**, Gdansk, v. 85, p. 928–933, July 2011.
- BLACKWELL, P.A.; KAY, P.; BOXALL, A.B.A. The dissipation and transport of veterinary antibiotics in a sandy loam soil. **Chemosphere**, York, v. 67, p. 292-299, Jan. 2007.
- BOXALL, A.B.A.; KAY, P.; BLACKWELL, P.A.; FOGG, L.A. Fate of veterinary medicines applied to soils. In: KÜMMERER, K. (Ed). **Pharmaceuticals in the environment**. 3rd ed. Berlin: Springer-Verlag, 2004. chap. 14, p. 165-180.
- BOXALL, A.B.A.; BLACKWELL, P.; CAVALLO, R.; KAY, P.; TOLLS, J. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. **Toxicological Letters**, Derby, v. 131, p. 19-28, Feb. 2002.
- BOXALL, A.B.A.; FOGG, L.; KAY, P.; BLACKWELL, P. PEMBERTON, E.; CROXFORD, A. Priorisation of veterinary medicines in the UK. **Toxicological Letters**, Derby, v. 142, p. 207- 218, 2003.
- BURKHARDT, M.; STAMM, C. Depth distribution of sulfonamide antibiotics in pore water of an undisturbed loamy grassland soil. **Journal of Environmental Quality**, Dubendorf, v. 36, n. 2, p. 588-596, 2007. BURKHARDT, M.; STAMM, C.; WAUL, C.; SINGER, H.;

MULLER, S. Surface runoff and transport of sulfonamide antibiotics and tracers on manured grassland. **Journal of Environmental Quality**, Dubendorf, v. 34, p. 1363-1371, July 2005.

CALZA, P.; MEDANA, C.; PAZZI, M.; BAIACHI, C.; PELIZZETTI, E. Photocatalytic transformations of sulphonamides on titanium dioxide. **Applied Catalysis B: Environmental**, Torino, v. 53, p. 63-69, June 2004.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. **Métodos de análises química, mineralógica e física dos solos do Instituto Agronômico de Campinas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1986. 94p. (IAC. Boletim Técnico, 106).

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; LLOMPART, M.; GARCIA-JARES, C.; RODRIGUEZ, I.; GOMEZ, M.; TERNES, T. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. **Water Research**, Madrid, v. 38, p. 2918-2926, 2004.

CHAVES, A.C. **Comportamento ambiental da ametrina e suas influências sobre a diversidade da população microbiana dos solos**. 2007. 83 p. Dissertação (Mestrado em Biologia na Agricultura e Meio-ambiente) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Centro de Energia Nuclear da Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

COSTA, M.A. **Efeito da matéria orgânica em alguns atributos do solo**. 1983. 137 p. Dissertação (Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

CUNNINGHAM, V.L. Special characteristics of pharmaceuticals related to environmental fate. In: KÜMMERER, K. (Ed.). **Pharmaceuticals in the environment**. 2nd ed. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag 2004. chap. 2, p. 13-24.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação; EMBRAPA, CNPS, 2006. 104p.

EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS. **Antibiotic resistance in the European Union Associated with therapeutic use of veterinary medicines**: report and qualitative risk assessment by the Committee for Veterinary medicinal products. London, 1999. 33p. (EMEA/CVMP, 342).

FERREIRA, I.D.; MORITA, D.M. Biorremediação de solo contaminado por Isobutanol, Bis-2-etil-hexilftalato e di-isodecilftalato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 643-652, mar./abr. 2012.

FINNERAN, K.T.; MOHATT, J.L.; HU, L.; STRATHMANN, T.J. Microbially mediated abiotic transformation of the antimicrobial agent sulfamethoxazole under iron-reducing soil conditions. **Environmental Science & Technology**, Clemson, v. 45, p. 4793-4801, May, 2011.

GAO, J.; PEDERSEN, J.A. Adsorption of sulfonamide antimicrobial agents to clay minerals. **Environmental Science and Technology**, Madison, v. 39, p. 9509-9516, 2005.

GEVAO, B.; SEMPLE, K.T.; JONES, K.C. Bound pesticide residues in soils: a review. **Environmental Pollution**, Lancaster, v. 108, p. 3-14, Apr. 2000.

HALLER, M.Y.; MULLER, S.R.; McARDELL, C.S.; ALDER, A.C.; SUTER, M.J.F. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography mass spectrometry. **Journal Chromatography A**, Dubendorf, v. 952, p. 111-120, 2002.

HALLING- SORENSEN, B.; NIELSEN, N.S.; JENSEN, J. **Environmental assessment of veterinary medicinal products in Denmark**. Copenhagen: Danish Environmental Protection Agency, 2002. 97p. (Environmental Project, 659).

HALLING-SORENSEN, B.; SENGELOV, G.; INGERSLEV, F.; JENSEN, L.B. Reduced antimicrobial potencies of oxytetracycline, tylosin, sulfadiazine, streptomycin, ciprofloxacin and olaquinox due to environmental processes. **Archive Environmental Contamination Toxicologic**, Copenhagen, v. 44, p. 7-16, 2003.

HALLING-SORENSEN, B.; NIELSEN, N.; LANZKY, P.F.; INGERSLEV, F.; LUTZHOFT, H.C.; JORGENSEN, S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment. – a review. **Chemosphere**, Copenhagen v. 36, p. 357–393, 1998.

HEISE, J.; HOLTGE, S.; SCHRADER, S.; R, KREUZIG. Chemical and biological characterization of non-extractable sulfonamide residues in soils. **Chemosphere**, Braunschweig, v. 65, p. 2352-2357, 2006.

HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K; KRATZ, K-L. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of Total Environment**, Wiesbaden, v. 225, p. 109-118, 1999.

HOFF, R. **Análise de resíduos de sulfonamidas em alimentos por eletroforese capilar e espectrometria de massas**. 2008. 134 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

JORGENSEN, S.E.; HALLING-SORENSEN, B. Drugs in the environment. **Chemosphere**, Copenhagen, v. 40, p. 691-699, 2000.

KAHLE, M.; STAMM, C. Sorption of the veterinary antimicrobial sulfathiazole to organic materials of different origin. **Environmental Science and Technology**, Dubendorf, v. 41, n. 1, p. 132-138, 2007.

KASTEEL, R.; MBOH, C.M.; UNOLD, M.; GROENEWEG, J.V.; VEREECKEN, H. Transformation and sorption of the veterinary antibiotic sulfadiazine in two soils: a short-term batch study. **Environmental Science Technology**, Jülich, v. 44, p. 4651-4657, 2010.

KAY, P.; BLACKWELL, P.A.; BOXALL, A.B.A. Transport of veterinary antibiotics in overland flow following the application of slurry to arable land. **Chemosphere**, Derby, v. 59, p. 951-959, 2005a.

_____. Column studies to investigate the fate of veterinary antibiotics in clay soils following slurry application to agricultural land. **Chemosphere**, Derby, v. 60, p. 497-507, 2005b.

KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological Indicators**, Kiel, v. 8, p. 1-13, June 2007.

KOTZERKE, A.; SHARMA, S.; SCHAUSS, K.; HEUER, H.; THIELE-BRUHN, S.; SMALLA, K.; WILKE, B.-M.; SCHLOTTER, M. Alterations in soil microbial activity and N-transformation processes due to sulfadiazine loads in pig-manure. **Environmental Pollution**, Berlin, v. 153, p. 315- 322, Aug. 2008.

KREUZIG, R.; HÖLTGE, S. Investigations on the fate of sulfadiazine in manured soil: laboratory experiments and test plot studies. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Braunschweig, v. 24, n 4, p. 771-776, June 2005.

KUMMERER, K. Introduction: pharmaceuticals in the environment. In: _____. (Ed.). **Pharmaceuticals in the environment: source, fate, effects and risk**. Berlin: Springer-Verlag, 2008. p. 1-7.

LAVORENTI, A.; PRATA, F.; VANDERBORGHT, J.; BURAUDEL, P.; VEREECKEN, H. Miscible displacement, sorption and desorption of atrazine in a Brazilian Oxisol. *Vadose Journal*, New York, v. 2, p. 728-738, 2003.

LE, T.X.; MUNEKAGE, Y. Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam. **Marine Pollution Bulletin**, Hanoi, v. 49, p. 922-929, July 2004.

LEAL, R.M.P. **Ocorrência e comportamento ambiental de resíduos de antibióticos de uso veterinário**. 2012. 134 p. Tese (Doutorado em Química na Agricultura e no Ambiente) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

LERTPAITONPAN, W.; ONG, S.K.; MOORMAN, T.B. Effect of organic carbon and pH on soil sorption of sulfamethazine. **Chemosphere**, Ames, v. 76, p. 558–564, Apr. 2009.

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**, Florida, v. 73, p. 4640-4646, 2001.

LIU, F.; YING, G.-G.; YANG, J.-F.; ZHOU, L.-J.; TAO, R.; WANG, L.; ZHANG, L.-J.; PENG, P.-A. Dissipation of sulfamethoxazole, trimethoprim and tylosin in a soil under aerobic and anoxic conditions. **Environmental Chemistry**, Amsterdam, v. 7, p. 370-376, 2010.

MARTINEZ, J.L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution**, Madrid, v. 157, p. 2893-2902, May 2009.

MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; BARREIRO-GONZÁLEZ, C.; SCHARF, S.; GANS, O. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. **Environmental Pollution**, Ourense, v. 148, n. 2, p. 570-579, 2007.

MELO, S.A.S.; TROVÓ, A.G.; BAUTITZ, I.R.; NOGUEIRA, R.F.P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 188-197, dez. 2009.

MIGLIORE, L.; CIVITAREALE, C.; COZZOLINO, S. CASORIA, P.; BRAMBILLA, G., GAUDIO, L. Laboratory models to evaluate phytotoxicity of sulphadimethoxine on terrestrial plants. **Chemosphere**, Rome, v. 37, p. 2957-2961, 1998.

OLIVEIRA, E.A.S. **Antibióticos que atuam como antibacterianos**. Disponível em: <<http://www.easo.com.br>>. Acesso em: 23 set. 2012.

OLIVEIRA JR, A.; REGITANO, J.B. **Dinâmica de pesticidas no solo**. Em: Química e Mineralogia do Solo, Parte 2-Aplicações. SBCS- Viçosa, 2009. 431p.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Adsorption-desorption using a batch equilibrium method**. Washington, 2000. 45 p. (OECD Guidelines for Testing of Chemicals – Revised Proposed for a New Guideline, 106).

_____. **Aerobic and anaerobic transformation in soil**. Washington, 2002a. 17 p. (OECD Guideline for Testing of Chemicals – Revised Proposed for a New Guideline, 307).

_____. **Leaching in soil columns**. Washington, 2002b. 15 p. (OECD Guidelines for Testing of Chemicals – Revised Proposed for a New Guideline, 32).

PEREIRA, L.A.; JARDIM, I.C.S.F.; FOSTIER, A.H.; RATH, S. Ocorrência, comportamento e impactos ambientais provocados pela presença de antimicrobianos veterinários em solos. **Química Nova**, Campinas, v. 7, p. 1-11, set. 2011.

PIGNATELLO, J.J.; HUANG, L.Q. Sorption reversibility of atrazine and metolachlor residues in field soil samples. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 20, p. 222-228, 1991.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIOI, J.A. **Análise química para a avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

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

SAMUELSEN, O.B.; LUNESTAD, B.T.; ERVIK, A.; FJELDE, S. Stability of antibacterial agents in artificial marine aquaculture sediment studied under laboratory conditions. **Aquaculture**, Bergen, v. 126, p. 283-290, 1994.

SARMAH, A.K.; MEYER, M.T.; BOXALL, A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, New Zealand, v. 65, p. 725–759, 2006.

SINDAN. Disponível em: <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html>>. Acesso em: 21 jan. 2013.

SNOW, D.D.; HUNT-BARTELT, S.L.; SAUNDERS, S.E.; DEVIVO, S.L.; CASSADA, D.A. **Detection, occurrence and fate of emerging contaminants of agricultural environments**. Lincoln: University of Nebraska, Faculty Publications from The Water Center, , 2008. 31 p.

STOOB , K.; SINGER, H.P.; MUELLER, S.R.; SCHWARZENBACH, R.P.; STAMM, C.H. Dissipation and transport of veterinary sulfonamide antibiotics after manure application to

grassland in a small catchment. **Environmental Science Technology**, Eschanbach, v. 41, p. 7349-7355, 2007.

SUKUL, P.; SPITELLER, M. Sulfonamides in the environment as veterinary drugs. Rev. **Environmental Contamination Toxological**, Dortmund, v. 187, p. 67-101, 2006.

SUKUL, P.; LAMSHOFT, M.; ZUHLKE, S.; SPITELLER, M. Sorption and desorption of sulfadiazine in soil and soil-manure systems. **Chemosphere**, Dortmund, v. 73, p.1344–1350, Aug. 2008.

THIELE-BRUHN, S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, , v. 166, p. 145-167, 2003.

THIELE-BRUHN, S.; SEIBICKE, T.; SCHULTEN, H.-R.; LEINWEBER, P. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soil and particle-size fractions. **Journal of Environmental Quality**, Weinheim, v. 33, p. 1331-1342, June 2004.

TOLLS, J. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. **Environmental Science and Technology**, Amsterdam, v. 53, p. 3397-3406, 2001.

UNOLD, M.; GROENEWEG, R.K.J.; VEREECKEN, H. Transport and transformation of sulfadiazine in soil columns packed with a silty loam and a loamy sand. **Journal of Contaminant Hydrology**, Jülich, v. 103, p. 38-47, 2009.

VAIPHASA, C.; BOER, W.F.; SKIDMORE, A.K.; PANICHART, S.; VAIPHASA, T.; BAMRONGRUGSA, N.; SANTITAMNOT, P. Impact of solid shrimp pond waste materials on mangrove growth and mortality: a case study from Pak Phanang, Thailand. **Hydrobiologia**, Bangkok, v. 591, p. 47-57, 2007.

VANCE, E.D.; BROOKES, P.C.; JENKINSON, D.S. An extraction method for measuring soil microbial biomass carbon. **Soil Biology and Biochemistry**, Harpenden, v. 19, p. 703-707, 1987.

WEBER, J.B.; MILLER, C.T. Organic chemical movement over and through soil. In: SAWHNEY, B.L.; BROWN, K.W. (Ed.). **Reactions and movement of organic chemicals in soils**. Madison: Soil Society of America, 1989. p. 305-334. (SSSA. Special Publication, 22).

WEHRHAN, A. Fate of veterinary pharmaceuticals in soil: **An experimental and numerical study on the mobility, sorption and transformation of sulfadiazine**. 2006. 93 p. Thesis (Doctor) –University of Jülich, Jülich, 2006

WEHRHAN, A.; SIMUNEK, J.; GROENEWEG, J.; VEREECKEN, H.; KASTEEL, R. Transport of sulfadiazine in soil columns – experiments and modeling approaches. **Journal of Contaminant Hydrology**, Madison, v. 89, p. 107-135, Oct. 2007.

WEHRHAN, A.; STRECK, T.; GROENEWEG, J.; VEREECKEN, H.; KASTEEL, R. Long-term sorption and desorption of sulfadiazine in soils: experiments and modeling. **Journal of Environment Quality**, Madison, v. 39, p. 654-666, Jan. 2010.

WOOD, B.P.; GUMBS, F.; HEANDLY, J.V. Dissipation of atrazine and two N- dealkylated metabolites in soils of sugarcane plantations under field conditions in Barbados.

Communications in Soil Science and Plant Analysis, New York, v. 36, p. 783-794, 2005.

YANG, J.-F.; YING, G.-G.; YANG, L.-H.; ZHAO, J.-L.; LIU, F.; TAO, R.; YU, Z.-Q.; PENG, P. Degradation behavior of sulfadiazine in soils under different conditions. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, Guangzhou, v. 44, p. 241-248, Mar. 2009.

ZARFL, C. **Chemical fate of sulfadiazine in soils: mechanisms and modelling approaches**. Aanhe: Shaker Verlag; Universität Osnabrück. Institut für Umweltsystemforschung, 2008.

ZHENG, S.; QUI,.; CHENH.; YU.; LIU, Z.; ZHONG, G.; Li, H.; CHEN, M.; SUN, G.; HUANG, H.; YU, W.; FREESTONE, D. Antibiotics pollution in Jiulong River estuary: source, distribution and bacterial resistance. **Chemosphere**, Xiamen, v. 84, p.1677-85, Sept. 2011.