GUILHERME HENRIQUE DUARTE DE OLIVEIRA

Remoção de sulfametazina em reatores anaeróbios tratando água
residuária de suinocultura

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador:
Prof. Tit. Marcelo Zaiat

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2016

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.

O48r Oliveira, Guilherme Henrique Duarte de
Remoção de sulfametazina em reatores anaeróbios
tratando água residuária de suinocultura / Guilherme
Henrique Duarte de Oliveira; orientador Marcelo Zaiat;
coorientador Álvaro José dos Santos Neto. São Carlos,
2016.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área
de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,
2016.

1. Sulfametazina. 2. Reatores anaeróbios. 3. Água
residuária de suinocultura. 4. RAHLF. 5. UASB. 6.
RAMBI. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **GUILHERME HENRIQUE DUARTE DE OLIVEIRA.**

Título da tese: "Remoção de sulfametazina em reatores anaeróbios tratando água residuária de suinocultura".

Data da defesa: 13/05/2016

Comissão Julgadora:

Prof. Associado **Marcelo Zaiat (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Prof. Dr. **José Alberto Domingues Rodrigues**
(Escola de Engenharia de Mauá/EEM)

Prof. Dr. **Sérgio Francisco de Aquino**
(Universidade Federal de Ouro Preto/UFOP)

Prof. Associado **Eduardo Bessa Azevedo**
(Instituto de Química de São Carlos/IQSC)

Prof. Dr. **Pedro Sergio Fadini**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Resultado:

Aprovado

Aprovado

Aprovado

APROVADO

APROVADO

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

*“Vivendo, se aprende;
mas o que se aprende, mais, é só a fazer outras maiores perguntas.”*

João Guimarães Rosa

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo amor, incentivo e apoio incondicional em toda a minha vida. Aos meus pais, Hercylio e Silvana, pelas batalhas que travaram todos os dias para que os seus filhos pudessem ter a melhor educação possível. Aos meus irmãos, Victor e Caio, pelo companheirismo.

Ao professor Marcelo Zaiat, por ter me recebido no Laboratório de Processos Biológicos desde a Iniciação Científica e ter confiado a mim a execução deste trabalho. Obrigado pela atenta orientação e pela dedicação a este projeto. Mas principalmente, obrigado pela inspiração profissional e por ensinar a liderar pelo exemplo.

Ao professor Álvaro José dos Santos Neto, pela valiosa orientação e contribuições a este trabalho e ao meu desenvolvimento profissional.

À minha querida Bia, minha companheira e melhor amiga, pela cumplicidade e carinho devotados todos os dias.

À Rachel, colega na longa caminhada da formação científica desde a graduação. Obrigado pela amizade e pela inspiração. Que as nossas discussões científicas continuem por anos e anos.

A todos os amigos do LPB, em especial: Priscila Camiloti, Ana Flávia, Adriana Maluf, Vivian, Lucas Fuess (obrigado pelo exemplo de seriedade onde esta realmente importa), os queridíssimos Leandro, Carla e Carol, Du, Dago, Rodrigo Carneiro, Inês, Bruno Giz, Adriano Capixaba, Laís, Alana, Fabrício, Juliana Kawanishi, Camila, Inaê, Samuel, Thaís, Tania, Ania, os T(h)iagos (Palladino, Bacanão, IQSC e Cebola), Guilherme Vuitik, Marcus, Mírian, Lívia, Paulo, Mara, Vanessa, Kiemi, Simone, Fiaz, Gleyce, Bruna, Moara, e Jéssica. Obrigado pela amizade e agradável companhia por todos esses anos.

À velha guarda do LPB: Renata Rodriguez, Bruna Moraes, Theo Souza e Gustavo Mockaitis que conheci ainda na Iniciação Científica e que sempre foram para mim exemplos a serem seguidos.

Aos professores Eugênio Foresti, Bernadete, Márcia e Wyclef, obrigado por me acolherem no laboratório.

À Bruna Oliveira, pela ajuda com os experimentos, pelo empenho na condução de seu trabalho e, principalmente, pela determinação de continuar fazendo pesquisa mesmo quando nada parecia dar certo.

Aos alunos de iniciação científica Cristiane Oliveira, Bianca de Nadai, Guilherme Romeiro, Luma Sayuri, Liliane Folli, Marina Gomes e Maria Eduarda por lembrar como é encarar a pesquisa pela primeira vez e mostrar que vale a pena.

Aos colegas do IQSC, Lucas Sponton, Maura Roquete, Thiessa Maramaldo, e Tanare Cambraia, por todos os ensinamentos.

Ao corpo técnico do Laboratório de Processos Biológicos, Carol Sabatini, Janja Adorno, Eloisa Pozzi e Isabel Sakamoto, obrigado por todo auxílio, pela paciência e pela convivência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo 2012/18942-0) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo GM 130935/2012-3) pelos auxílios financeiros concedidos.

A todo o São Carlos Pression Team, em especial Genja, Beto, Isa, Ju, Bruno, Shimoto, Ives, Raúl, Greg, Fabi, Marina e Cleber. Obrigado por serem a minha família longe de casa.

À Escola de Engenharia de São Carlos e à Universidade de São Paulo, por proporcionarem um ambiente de crescimento profissional e humano.

Por fim, a todos que contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

Muito obrigado!

RESUMO

OLIVEIRA, G. H. D. **Remoção de sulfametazina em reatores anaeróbios tratando água residuária de suinocultura**. 2016. 197 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

A contaminação ambiental por antibióticos e antimicrobianos quimioterápicos despertou o interesse da comunidade científica devido à possibilidade do desenvolvimento de resistência bacteriana e de efeitos ecotóxicos sobre organismos não-alvo. As águas residuárias contaminadas representam a principal fonte de dispersão desses fármacos para o meio ambiente. Enquanto as tecnologias anaeróbias têm sido crescentemente aplicadas para o tratamento de águas residuárias de origem agroindustrial, frequentemente contaminadas com antimicrobianos, pouco se sabe sobre as transformações que esses micropoluentes podem sofrer durante o tratamento. O objetivo do presente trabalho foi a investigação da degradação do antimicrobiano veterinário sulfametazina (SMZ) durante o tratamento anaeróbio de água residuária de suinocultura. Para tanto, foram conduzidas três fases experimentais. Na primeira fase, ensaios em batelada foram realizados com o intuito de avaliar a contribuição da biodegradação anaeróbia e de outros fenômenos na remoção de SMZ da fase líquida. A segunda fase envolveu a operação de três reatores anaeróbios contínuos em escala de bancada alimentados com água residuária sintética contaminada com SMZ, um reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF), um reator anaeróbio de mistura e biomassa imobilizada (RAMBI) e um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB). Avaliou-se o efeito da variação da DQO total afluente e do TDH na eficiência de remoção de SMZ. Na terceira fase, o RAHLF foi alimentado com água residuária de suinocultura real pré-sedimentada e acrescida de SMZ. Os resultados obtidos durante a primeira fase permitiram o desenvolvimento de um modelo matemático de dois compartimentos que apontou a fase aquosa como o compartimento biodisponível para a degradação de SMZ. Não foram observadas diferenças expressivas de desempenho dos reatores anaeróbios na remoção de SMZ para as condições experimentais ensaiadas na segunda fase. As condições operacionais que permitiram máxima remoção de SMZ foram TDH de 24 h e DQO total afluente de 3000 mg O₂.L⁻¹, que resultaram em eficiências médias de remoção de SMZ de 74%, 71% e 70% para os reatores RAHLF, RAMBI e UASB, respectivamente. Observou-se que a biodegradação anaeróbia de SMZ é favorecida pelo aumento da velocidade de degradação de matéria orgânica, como esperado para uma transformação cometabólica. Embora a degradação de SMZ tenha sido interrompida durante a alimentação do RAHLF com água residuária de suinocultura, os resultados obtidos mostraram que a biodegradação de SMZ pode acontecer em reatores anaeróbios e pode ser favorecida por meio do controle de parâmetros de operação adequados, demonstrando o potencial de aplicação dessa tecnologia no abatimento de emissões desse fármaco.

Palavras-chave: sulfametazina, reatores anaeróbios, água residuária de suinocultura, RAHLF, RAMBI, UASB.

ABSTRACT

OLIVEIRA, G. H. D. **Sulfamethazine removal in anaerobic reactors treating swine wastewater**. 2016. 197 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

Environmental contamination by antibiotics and antimicrobial chemotherapeutics has drawn the attention of the scientific community because of the possibility of bacterial resistance development and toxic effects on non-target organisms. Contaminated wastewaters are the main sources of antimicrobial dispersion to the environment. While anaerobic technologies have been increasingly applied to the treatment of agricultural wastewaters, which are often contaminated with antimicrobials, little is known about the changes that these micropollutants can undergo during treatment. The objective of this study was to investigate the degradation of the veterinary antimicrobial sulfamethazine (SMZ) during the anaerobic treatment of swine wastewater. Three experimental phases were performed. In the first phase, batch tests were performed in order to evaluate the contribution of anaerobic biodegradation and other phenomena to the overall removal of SMZ from the liquid phase. The second phase involved the operation of three continuous, bench-scale anaerobic reactors fed with SMZ-contaminated synthetic wastewater: a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor, an anaerobic stirred reactor with immobilized biomass (ASRIB) and an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. The effect of varying the total influent COD and the HRT on SMZ removal efficiency was evaluated. In the third phase, the HAIB was fed with real pre-sedimented swine wastewater contaminated with SMZ. The results obtained during the first phase allowed the development of a two-compartment mathematical model which established the aqueous phase as the bioavailable compartment for SMZ degradation. No significant differences in SMZ removal performance between the three reactors were observed in the second phase. The maximum removal of SMZ was observed for a HRT of 24 h and total influent COD of 3000 mg O₂.L⁻¹, which resulted in average SMZ removal efficiencies of 74%, 71% and 70% for the HAIB, ASRIB and UASB reactors, respectively. It was observed that the anaerobic biodegradation SMZ is favored by increasing the organic matter degradation rate, as expected for cometabolic transformations. Although SMZ degradation ceased when the HAIB was fed with swine wastewater, the experimental results showed that the biodegradation of SMZ occurs in anaerobic reactors and can be enhanced by controlling appropriate operating parameters, demonstrating the potential of this technology for the abatement of SMZ emission.

Keywords: sulfamethazine, anaerobic reactors, swine wastewater, HAIB, ASRIB, UASB.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Principais rotas de entrada de antimicrobianos no meio ambiente.....	33
Figura 3.2 - Estrutura química geral das sulfonamidas.	38
Figura 3.3 - Estrutura química da sulfametazina.	40
Figura 3.4 - Presença de sulfametazina em diversos compartimentos ambientais. Os círculos azuis representam SMZ presente na fase líquida, ao passo que os círculos vermelhos representam SMZ presente na fase sólida.	41
Figura 4.1 - Delineamento experimental da pesquisa.....	51
Figura 4.2 - Reator Anaeróbico Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) previamente à inoculação.	59
Figura 4.3 - Esquema construtivo do RAMBI.....	60
Figura 4.4 - Reator anaeróbico de mistura e biomassa imobilizada (RAMBI) previamente à inoculação.....	61
Figura 4.5 - Esquema construtivo do reator UASB.....	62
Figura 4.6 - reatores anaeróbios acondicionados em câmara de controle de temperatura.	62
Figura 4.7 - Arranjo de <i>column switching</i> em modo <i>backflush</i> . Adaptado de Santos-Neto et al. (2008).....	75
Figura 5.1 - Fase 1: Ensaio de estabilidade química de SMZ realizado em batelada (R0), contendo apenas solução aquosa de SMZ a $200 \mu\text{g.L}^{-1}$	81
Figura 5.2 - Fase 1: Perfil temporal de DQO solúvel para os ensaios em batelada realizados com lodo ativo (R2) e lodo inativo (R3).....	82
Figura 5.3 - Fase 1: Perfil temporal de SMZ para os ensaios em batelada realizados com lodo ativo (R2) e lodo inativo (R3).....	83
Figura 5.4 - Fase 1: Perfil temporal de SMZ para os ensaios em batelada realizados com presença de matéria orgânica (R2) e ausência de matéria orgânica (R1).....	85
Figura 5.5 - Fase 1: Perfil temporal de SMZ para os ensaios em batelada realizados com lodo inativo (R3) e com ausência de matéria orgânica (R1).	86
Figura 5.6 - Fase 1: Perfis temporais de DQO solúvel para os ensaios em batelada realizados com diferentes DQO iniciais. As linhas representam um ajuste de uma cinética de primeira ordem com residual.	87
Figura 5.7 - Fase 1: Perfis temporais de SMZ para os ensaios em batelada realizados com diferentes DQO iniciais (R5 a R7), acompanhados do controle sem adição de meio sintético (R4).....	88

Figura 5.8 - Fase 1: Perfis temporais de DQO solúvel e SMZ em ensaio em batelada com adição de DQO exógena após 72h de reação (R8).....	89
Figura 5.9 - Fase 1: Perfis temporais de SMZ para os ensaios em batelada conduzidos com biomassa inativa para diferentes concentrações iniciais de SMZ. As linhas contínuas representam o ajuste obtido utilizando-se do modelo de adsorção de pseudo-segunda ordem de Ho e McKay (1999).....	92
Figura 5.10 - Fase 1: Isoterma de adsorção de SMZ ao lodo granular anaeróbico. A linha contínua representa uma regressão linear dos dados experimentais. A equação da isoterma resultante é apresentada juntamente com o coeficiente de determinação.	94
Figura 5.11 - Modelos conceituais para a remoção de SMZ. Hipótese 1: a adsorção e a biodegradação ocorrem em paralelo; Hipótese 2: adsorção e a biodegradação ocorrem em série.	98
Figura 5.12 - Fase 1: Perfis temporais de concentração de SMZ obtidos para diferentes concentrações iniciais de SMZ e DQO ajustados aos modelos matemáticos desenvolvidos. As linhas contínuas representam o melhor ajuste obtido para a Hipótese 1, e as linhas descontínuas representam o melhor ajuste para a Hipótese 2.	101
Figura 5.13 - Fase 1: Previsão do modelo cinético para a contribuição relativa da adsorção e da biodegradação na remoção de SMZ segundo a concentração inicial de SMZ. A simulação foi conduzida utilizando $X=5 \text{ g STV}^{-1}$, $K_p=0,0717 \text{ L.g STV}^{-1}$, $k'=2 \times 10^{-3} \text{ L.}\mu\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$, $T'=1 \times 10^{-4} \text{ L.mg O}_2^{-1}$, $k_{DQO}=0,1 \text{ h}^{-1}$, $DQO_{rem}=150 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ e $DQO_0=1500 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$	103
Figura 5.14 - Fase 2: Curva F obtida por meio do ensaio hidrodinâmico em degrau para o RAHLF, com TDH teórico de 24 horas.	104
Figura 5.15 - Fase 2: Monitoramento de DQO filtrada do RAHLF durante todas as etapas experimentais.	106
Figura 5.16 - Fase 2: Perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas I e II. As linhas representam um ajuste de um modelo cinético de primeira ordem com residual.	108
Figura 5.17 - Fase 2: Valores médios de ácidos graxos voláteis efluentes ao RAHLF durante as etapas experimentais I a XIII. As barras de erros representam um desvio padrão do conjunto dados experimentais.	112
Figura 5.18 - Fase 2: Curva F obtida por meio do ensaio hidrodinâmico em degrau para o RAMBI, com TDH teórico de 24 horas.	113
Figura 5.19 - Fase 2: Monitoramento de DQO filtrada do RAMBI.	115

Figura 5.20 - Fase 2: Valores médios de ácidos graxos voláteis efluentes ao RAHLF durante as etapas experimentais I a X. As barras de erros representam um desvio padrão do conjunto de dados experimentais.....	118
Figura 5.21 - Fase 2: Curva F obtida por meio do ensaio hidrodinâmico em degrau para o UASB, com TDH teórico de 24 horas.	119
Figura 5.22 - Fase 2: Monitoramento de DQO filtrada do UASB.	120
Figura 5.23 - Fase 2: Valores médios de ácidos graxos voláteis efluentes ao UASB durante as etapas experimentais I a X. As barras de erros representam um desvio padrão do conjunto de dados experimentais.	123
Figura 5.24 - Fase 2: Monitoramento de DQO total e SMZ nos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas II a VIII, em que se variou a DQO total afluyente.....	124
Figura 5.25 - Fase 2: Eficiência de remoção de DQO total dos reatores anaeróbios durante as Etapas II a VIII.	125
Figura 5.26 - Fase 2: Eficiência de remoção de SMZ dos reatores anaeróbios durante as Etapas II a VIII.	127
Figura 5.27 - Fase 2: Perfis espaciais de SMZ e DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas II a VIII. As linhas representam o ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.	129
Figura 5.28 - Fase 2: Perfis de velocidade de remoção de DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas II a VIII.	131
Figura 5.29 - Fase 2: Perfis espaciais de concentração de biomassa no RAHLF realizados ao início da operação (Dia 0), e ao final das Etapas VII (Dia 318), XI (Dia 471) e XIII (Dia 527). As linhas contínuas representam um ajuste de um modelo cinético de primeira ordem com residual.....	134
Figura 5.30 - Fase 2: Perfis espaciais de ácido acético e propiônico no RAHLF, durante as Etapas II, VII, e VIII.....	136
Figura 5.31 - Fase 2: Monitoramento de DQO total e SMZ nos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas VIII (TDH = 24h), IX (TDH = 16h) e X (TDH = 8h).	138
Figura 5.32 - Fase 2: Eficiência de remoção de DQO total dos reatores anaeróbios durante as Etapas VIII (TDH = 24h), IX (TDH = 16h) e X (TDH = 8h).	139
Figura 5.33 - Fase 2: Eficiência de remoção de SMZ dos reatores anaeróbios durante as Etapas VIII, IX e X.....	141

Figura 5.34 - Fase 2: Perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF submetido a diferentes TDH durante as Etapas VIII (24 h), IX (16 h) e X (8h). As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.....	142
Figura 5.35 - Fase 2: Perfis espaciais de SMZ no RAHLF, quando submetido a diferentes TDH durante as Etapas VIII (24 h), IX (16 h) e X (8 h).....	144
Figura 5.36 - Fase 2: Perfis espaciais de ácido acético e propiônico no RAHLF, quando submetido a diferentes TDH durante as Etapas VIII (24 h), IX (16 h) e X (8 h).	145
Figura 5.37 - Fase 2: Ensaios de remoção de SMZ por lodo granular em batelada com ácidos graxos voláteis individuais presentes como fonte de carbono.	148
Figura 5.38 - Fase 3: Monitoramento de DQO total e SMZ no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII.	149
Figura 5.39 - Fase 3: Perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII. As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.	151
Figura 5.40 - Fase 3: Perfis espaciais de ácido acético e propiônico no RAHLF durante as Etapas XII e XIII. As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.....	153
Figura 5.41 - Fase 3: Eficiência de remoção de SMZ do RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII.....	154
Figura 5.42 – Fase 3: Perfis espaciais de SMZ no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII. As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.	155
Figura 5.43 - Estrutura química proposta dos quatro produtos de biodegradação anaeróbia da sulfametazina monitorados no RAHLF.	158
Figura 5.44 - Cromatograma apresentando os quatro produtos de biodegradação anaeróbia de SMZ.	159
Figura 5.45 - Perfis espaciais dos produtos de biodegradação anaeróbia da sulfametazina no RAHLF. O preenchimento sólido representa o ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual obtido para o perfil espacial de SMZ na Etapa operacional em que foram analisados os produtos de biodegradação.	161
Figura 5.46 - Modelo de cometabolismo de um composto xenobiótico por um consórcio microbiano. As sequências de flechas indicam rotas cometabólicas que levam a produtos <i>dead-end</i> (●). A transferência interespecíes de tais produtos por meio de relações sintróficas	

(flechas horizontais) pode levar à completa mineralização do composto (sequência a-g).

Adaptado de Knackmuss (1996)..... 163

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Propriedades físico-químicas da sulfametazina.	41
Tabela 4.1 - Composição nutricional do meio sintético proposto por Bergmann et al. (2000) e caracterização observada por Oliveira (2006).	55
Tabela 4.2 - Composição inorgânica da água residuária sintética utilizada.	55
Tabela 4.3 - Composição orgânica da água residuária sintética utilizada.	56
Tabela 4.4 - Condições experimentais das bateladas operadas durante a Fase 1.	58
Tabela 4.5 - Condições operacionais aplicadas aos reatores anaeróbios contínuos durante a Fase 2.	65
Tabela 4.6 - Condições operacionais aplicadas ao RAHLF durante a Fase 3.	68
Tabela 4.7 - Caracterização da água residuária de suinocultura.	69
Tabela 4.8 - Parâmetros de operação da fonte de íons para o método LLE-HPLC-ESI-MS/MS.	73
Tabela 4.9 - Parâmetros de operação do espectrômetro de massas para o método LLE-HPLC-ESI-MS/MS.	73
Tabela 4.10 - Parâmetros de operação do espectrômetro de massas para o método SPE-HPLC-ESI-MS/MS.	77
Tabela 4.11 - Parâmetros de operação do espectrômetro de massas para o método de detecção de produtos de biodegradação anaeróbia da SMZ.	80
Tabela 5.1 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para o perfil temporal de DQO solúvel dos reatores em batelada R5, R6 e R7.	87
Tabela 5.2 - Parâmetros do ajuste do modelo cinético de adsorção de pseudo-segunda ordem.	93
Tabela 5.3 - Parâmetros de ajuste dos modelos matemáticos representando as Hipóteses 1 e 2.	102
Tabela 5.4 - Valores médios do monitoramento de DQO filtrada no RAHLF em todas as etapas experimentais.	107
Tabela 5.5 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada do RAHLF nas Etapas I e II.	109
Tabela 5.6 - Monitoramento de pH e alcalinidade no RAHLF ao longo de todas as etapas experimentais.	111
Tabela 5.7 - Valores médios do monitoramento de DQO filtrada no RAMBI em todas as etapas experimentais.	116

Tabela 5.8 - Monitoramento de pH e alcalinidade no RAMBI durante as Etapas 0 a X.	117
Tabela 5.9 - Valores médios do monitoramento de DQO filtrada no UASB em todas as etapas experimentais.	121
Tabela 5.10 - Monitoramento de pH e alcalinidade no UASB durante as Etapas 0 a X.	122
Tabela 5.11 - Valores médios do monitoramento de DQO total afluente e efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas II a VIII.	126
Tabela 5.12 - Valores médios do monitoramento de SMZ no afluente e no efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas II a VIII.	128
Tabela 5.13 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas II a VIII.	130
Tabela 5.14 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de SMZ do RAHLF nas Etapas II a VIII.	130
Tabela 5.15 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de concentração de biomassa no RAHLF nas Etapas VII, XI e XIII.	134
Tabela 5.16 - Valores médios do monitoramento de DQO total no afluente e no efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas VIII a X.	139
Tabela 5.17 - DQO particulada média efluente aos reatores anaeróbios durante as Etapas VIII a X.	140
Tabela 5.18 - Valores médios do monitoramento de SMZ no afluente e efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas VIII a X.	141
Tabela 5.19 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas VIII a X.	142
Tabela 5.20 - Velocidades superficiais e carga orgânica volumétrica média e velocidades máximas de remoção de DQO filtrada observadas no RAHLF nas Etapas II a X.	146
Tabela 5.21 - Valores médios do monitoramento de DQO total e filtrada do RAHLF durante as Etapas XI a XIII.	150
Tabela 5.22 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas XI a XIII.	152
Tabela 5.23 - Valores médios do monitoramento de SMZ do RAHLF durante as Etapas XI a XIII.	154
Tabela 5.24 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de SMZ do RAHLF nas Etapas XI a XIII.	156

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
ANOVA	Análise de Variância
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CE	Energia de Colisão
CXP	Potencial de Saída
DAD	<i>Diode Array Detection</i>
DP	Potencial de Desagregação
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EP	Potencial de Entrada
EPI	<i>Enhanced Product Ion</i>
ESI	<i>Electrospray</i>
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i>
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>
HLB	<i>Hydrophilic Lipophilic Balanced</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
L/D	Comprimento por diâmetro
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i>
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MBR	<i>Membrane Bioreactor</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
m/z	Relação massa/carga
N ¹ -OH-SMZ	N ¹ -Hidroxi-Sulfametazina
N ⁴ -OH-SMZ	N ⁴ -Hidroxi-Sulfametazina
N ⁴ -Form-SMZ	N ⁴ -Formil-Sulfametazina
N ¹ -G-SMZ	N ¹ -Glucoronamida-Sulfametazina
PD	Produtos de Degradação
RAHLF	Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo

RAMBI	Reator Anaeróbio de Mistura e Biomassa Imobilizada
RSD	Desvio Padrão Relativo
S/N	Sinal/Ruído
SMZ	Sulfametazina
SMZ- ¹³ C	Sulfametazina-Fenil- ¹³ C ₆
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
SRM	<i>Selected Reaction Monitoring</i>
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ST	Sólidos Totais
STV	Sólidos Totais Voláteis
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
ToF	Time of Flight
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
UV	Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

A	área do pico cromatográfico
A_0	maior área do pico cromatográfico em um mesmo perfil espacial
C	concentração
C^*	concentração máxima de traçador
C_0	concentração inicial
C_{NC}	concentração não convertida
C_{res}	concentração residual
C_s	concentração adsorvida em termos da concentração em solução
C_s^{eq}	concentração adsorvida em termos da concentração em solução, no equilíbrio
C_w	concentração na fase aquosa
C_w^{eq}	concentração na fase aquosa no equilíbrio
DQO_{fil}	DQO filtrada
DQO_{fil}^0	DQO filtrada inicial
DQO_{fil}^{res}	DQO filtrada residual
DQO_{sol}	DQO solúvel
DQO_{sol}^0	DQO solúvel inicial
DQO_{sol}^{res}	DQO solúvel residual
k	constante cinética de degradação de primeira ordem
k'	constante cinética de adsorção relativa à concentração em solução
k_{DQO}	constante cinética de degradação de DQO
k_{SMZ}	constante cinética de degradação de SMZ
k_x	constante cinética de decaimento de biomassa
K_p	coeficiente de partição
KS_{SMZ}	constante de meia saturação da degradação de sulfametazina
q_{eq}	concentração adsorvida em termos da concentração na fase sólida, no equilíbrio
R^2	coeficiente de determinação
r_{DQO}	velocidade de remoção de DQO
r_{SMZ}	velocidade de degradação de sulfametazina
SMZ_0	concentração inicial de sulfametazina
SMZ_{res}	concentração residual de sulfametazina

t	tempo
T_{SMZ}^{DQO}	capacidade de transformação do substrato de crescimento
v	volume
X	concentração de biomassa
X^0	Concentração inicial de biomassa
X^{res}	Concentração residual de biomassa
θ_h	tempo de detenção hidráulica
$\overline{\theta_h}$	tempo de detenção hidráulica médio
σ^2	variância
Δt	intervalo de tempo
μg	micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	29
2. OBJETIVOS	31
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	33
3.1. Presença de antimicrobianos em águas residuárias	33
3.2. Sulfonamidas.....	37
3.3. Sulfametazina.....	40
3.4. Mecanismos de remoção de antimicrobianos em sistemas biológicos de tratamento de efluentes.	43
3.5. Comportamento de sulfonamidas em sistemas anaeróbios de tratamento.....	46
3.6. Considerações finais	49
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1. Delineamento experimental	51
4.2. Fase 1	52
4.2.1. Ensaio em batelada.....	52
4.2.2. Ensaio abiótico	53
4.2.3. Água residuária sintética	54
4.2.4. Inóculo	56
4.2.5. Análise cinética.....	57
4.2.6. Condições experimentais.....	57
4.3. Fase 2	58
4.3.1. Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF)	58
4.3.2. Reator Anaeróbio de Mistura e Biomassa Imobilizada (RAMBI)	59
4.3.3. Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (UASB)	61
4.3.4. Ensaio hidrodinâmico	63
4.3.5. Inóculo	64
4.3.6. Operação e monitoramento.....	64

4.3.7.	Análise cinética	66
4.3.8.	Quantificação de sulfametazina adsorvida no leito do RAHLF	67
4.4.	Fase 3.....	68
4.4.1.	Condições experimentais	68
4.4.2.	Água residuária de suinocultura.....	68
4.5.	Métodos analíticos.....	69
4.5.1.	Análises físico-químicas de monitoramento	69
4.5.2.	Quantificação de ácidos graxos voláteis por cromatografia líquida	70
4.5.3.	Quantificação de ácidos graxos voláteis por cromatografia gasosa.....	70
4.5.4.	Quantificação de sulfametazina por extração líquido-líquido (LLE-HPLC-ESI-MS/MS).....	71
4.5.5.	Quantificação de sulfametazina por extração em fase sólida online (SPE-HPLC-ESI-MS/MS)	75
4.5.6.	Identificação de produtos de biodegradação anaeróbia da sulfametazina	77
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
5.1.	Fase 1: Ensaios em batelada.....	81
5.1.1.	Avaliação da influência de fenômenos físico-químicos, adsorptivos e bioquímicos na remoção de sulfametazina	81
5.1.2.	Influência da presença de matéria orgânica na remoção de sulfametazina.....	86
5.1.3.	Adsorção de SMZ no lodo granular anaeróbio	91
5.1.4.	Modelação matemática	95
5.2.	Fase 2: Monitoramento dos reatores contínuos.....	103
5.2.1.	Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF).....	104
5.2.2.	Reator Anaeróbio de Mistura e Biomassa Imobilizada (RAMBI).....	113
5.2.3.	Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (UASB).....	118
5.3.	Fase 2: Influência da DQO total afluyente na remoção de sulfametazina	123
5.4.	Fase 2: Influência do tempo de detenção hidráulica na remoção de sulfametazina	138
5.5.	Fase 3: Aplicação de água residuária de suinocultura ao RAHLF.....	149

5.6. Avaliação da formação de produtos de degradação de sulfametazina.....	158
6. CONCLUSÕES.....	167
7. SUGESTÕES.....	169
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	171
9. ANEXOS	189

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de produtos e processos para suprir as demandas da sociedade frequentemente resulta na geração de resíduos que os sistemas convencionais de tratamento de efluentes não estão preparados para receber, e cujo efeito no meio ambiente é pouco conhecido. Nesse contexto, a contaminação ambiental pelos chamados poluentes emergentes tem ganhado atenção da comunidade científica. São denominadas poluentes emergentes substâncias que frequentemente não estão sujeitas a restrições regulatórias, mas que são possíveis candidatas para futuras regulamentações, dependendo da pesquisa de seus potenciais efeitos à saúde humana e ao meio ambiente e do monitoramento de sua ocorrência.

Dentre os poluentes emergentes, os antibióticos e antimicrobianos quimioterápicos recebem especial atenção por serem compostos biologicamente ativos. A exposição contínua de bactérias a antimicrobianos em concentrações subterapêuticas pode levar ao desenvolvimento de genes de resistência, reduzindo, em longo prazo, a eficácia desses compostos. Além disso, os antimicrobianos podem apresentar efeitos adversos sobre organismos não-alvo e de grande relevância ambiental.

O desenvolvimento e aplicação de técnicas analíticas sensíveis revelou a ubiquidade dos antimicrobianos, permitindo a sua detecção em diversos compartimentos ambientais. Os antimicrobianos são usualmente encontrados em faixas de concentrações de pg.L^{-1} até $\mu\text{g.L}^{-1}$ e são oriundos do uso na medicina humana e veterinária, permanecendo no ambiente devido à sua resistência à degradação. Enquanto as águas residuárias contaminadas constituem a principal via de dispersão de antimicrobianos para o meio ambiente, pouco é conhecido sobre as transformações que esses compostos podem sofrer nos sistemas de tratamento desses efluentes.

Uma vez que os sistemas convencionais de tratamento de águas residuárias são projetados para a remoção dos macroconstituintes orgânicos e inorgânicos das águas residuárias, não é inesperado que sejam observados desempenhos altamente variáveis de remoção de antimicrobianos, mesmo para uma mesma tecnologia de tratamento. Grande parte dos esforços de pesquisa voltou-se à investigação do comportamento dos antimicrobianos em sistemas aeróbios de tratamento, visto a sua predominância nas estações de tratamento de esgoto sanitário. Embora as tecnologias anaeróbias venham sendo crescentemente aplicadas

para o tratamento de águas residuárias de origem agroindustrial, frequentemente contaminadas com antimicrobianos, pouco se sabe sobre a sua efetividade na remoção desses compostos. Nesse contexto, as águas residuárias de suinocultura recebem especial atenção, uma vez que essa prática utiliza, historicamente, mais antimicrobianos do que as demais atividades agropecuárias, para fins terapêuticos, profiláticos e de promoção de crescimento.

A literatura científica é ainda incipiente na identificação dos mecanismos que levam à degradação de antimicrobianos em sistemas biológicos de tratamento. É um grande desafio a realização da conexão entre os parâmetros operacionais dos reatores biológicos e os processos do metabolismo microbiano que ocasionam a degradação dos fármacos, possibilitando o controle de engenharia sobre o processo. Existe, assim, uma demanda por estudos que forneçam os subsídios necessários para avaliar se os sistemas biológicos de tratamento, sozinhos, constituem tecnologia suficiente para barrar a dispersão de antimicrobianos para o meio ambiente.

Outra lacuna de conhecimento a ser preenchida diz respeito à caracterização das rotas da degradação dos antimicrobianos, com a verificação da existência de produtos de degradação resistentes ou da ocorrência de mineralização completa. É preciso garantir que não ocorra a formação de produtos de degradação que possam causar impacto negativo superior ao do composto original.

Neste sentido, a hipótese desta pesquisa é que é possível promover a remoção do antimicrobiano quimioterápico sulfametazina durante o tratamento anaeróbio de água residuária de suinocultura por meio da seleção de condições de operação apropriadas e do controle de variáveis de processo. Buscou-se, assim, avaliar a eficácia de reatores anaeróbios na remoção desse composto, compondo uma barreira primária na dispersão do antimicrobiano.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo principal a investigação da degradação anaeróbia do antimicrobiano quimioterápico sulfametazina presente em água residuária de suinocultura.

Os objetivos específicos da pesquisa foram:

- i.* Comparar o desempenho de reatores anaeróbios de diferentes configurações (reator anaeróbio horizontal de leito fixo – RAHLF; reator anaeróbio de mistura e biomassa imobilizada – RAMBI; e reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo – UASB) na remoção de sulfametazina;
- ii.* Determinar os parâmetros operacionais dos reatores que resultem na melhor remoção de sulfametazina;
- iii.* Avaliar o efeito do tempo de detenção hidráulica na remoção de sulfametazina;
- iv.* Investigar a contribuição de fenômenos físico-químicos na remoção de sulfametazina;
- v.* Identificar produtos da biodegradação anaeróbia de e avaliar possíveis mecanismos de remoção de sulfametazina.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Presença de antimicrobianos em águas residuárias

Antimicrobianos podem ser definidos como substâncias de origem natural ou sintética utilizadas primariamente como agentes microbicidas ou biostáticos no tratamento ou profilaxia de doenças. Esses compostos são, também, empregados como aditivos alimentares na criação de animais devido a seu efeito de promoção de crescimento. Em menor escala, alguns antimicrobianos são utilizados na fruticultura e na apicultura. O emprego difundido na medicina humana e veterinária, associado à excreção em fezes e urina fazem das águas residuárias contaminadas os principais veículos de transporte de antimicrobianos para o meio ambiente. A Figura 3.1 apresenta as principais rotas de dispersão de antimicrobianos.

Figura 3.1 - Principais rotas de entrada de antimicrobianos no meio ambiente.

Após sua administração, os antimicrobianos e seus produtos de metabolismo são excretados e chegam às estações de tratamento de efluentes sanitários, hospitalares, agroindustriais e da indústria farmacêutica. A remoção incompleta dos fármacos nos sistemas de tratamento acarreta o seu transporte até os corpos d'água superficiais. A disposição de

medicamentos descartados e de lodo de estações de tratamento em aterros sanitários faz destes uma fonte pontual importante de dispersão de antimicrobianos para o meio ambiente. O lixiviado de aterros sanitários pode contaminar aquíferos subterrâneos (HOLM et al., 1995), e subsequentemente águas superficiais.

O emprego de esterco animal e lodo de estações de tratamento como adubos e condicionantes de solo representa um aporte significativo de antimicrobianos a esse compartimento ambiental (BOXALL et al., 2002). A infiltração e o escoamento superficial, por sua vez, podem transportar os fármacos para aquíferos e corpos d'água. Outra fonte de contaminação aquática por antimicrobianos veterinários é a introdução desses compostos diretamente na água para tratar infecções em pisciculturas.

O reúso potável indireto de águas residuárias, seja ele planejado ou não, aumenta a probabilidade da exposição de humanos a concentrações residuais de antimicrobianos. Resíduos de antimicrobianos já foram detectados em água mineral engarrafada (PERRET et al., 2006; DÍAZ-CRUZ et al., 2008) e em água de abastecimento (YE et al., 2007; YIRUHAN et al., 2010).

Dentre as principais fontes de emissão de antimicrobianos, o esgoto sanitário representa a maior geração volumétrica. Entretanto, os antimicrobianos estão geralmente presentes em níveis de concentração de pg.L^{-1} a poucos $\mu\text{g.L}^{-1}$, devido à grande diluição observada nessa água residuária. Efluentes hospitalares, por sua vez, apresentam concentrações muito superiores desses micropoluentes, constituindo uma importante fonte pontual de emissão de antimicrobianos (VERLICCHI et al., 2010).

Atividades de criação intensiva de animais também são fontes significativas de emissão de antimicrobianos. A manutenção de elevado número de animais em grande proximidade e o potencial de rápida propagação de doenças torna necessário o uso rotineiro de antimicrobianos para a manutenção da viabilidade dessas atividades (SARMAH et al., 2006). Adicionalmente, o emprego de antimicrobianos em concentrações subterapêuticas para aumentar a velocidade de ganho de peso dos animais contribui para a presença desses compostos nas águas residuárias. Alguns autores apontam o uso veterinário como principal fonte de contaminação ambiental por antimicrobianos (BARAN et al., 2011). Águas residuárias de suinocultura apresentam antimicrobianos em concentrações que podem chegar a $400 \mu\text{g.L}^{-1}$ na fase líquida (CAMPAGNOLO et al., 2002) e a 200 mg.kg^{-1} em resíduos sólidos (LERTPAITONPAN, 2008).

A maior concentração de antimicrobianos, contudo, é observada em águas residuárias das indústrias farmacêuticas (LIN e TSAI, 2009). Concentrações de até 31 mg.L⁻¹ já foram observadas para o antimicrobiano ciprofloxacino (LARSSON et al., 2007).

Embora o emprego terapêutico de antimicrobianos remonte à década de 1930, foi apenas recentemente que a atenção da comunidade científica se voltou para a avaliação dos efeitos da sua presença no meio ambiente. A justificativa da necessidade de conter a emissão de antimicrobianos advém do potencial de geração de resistência microbiana no ambiente e a efeitos ecotóxicos a organismos não-alvo.

É estabelecido que o desenvolvimento e transferência de genes de resistência estão associados à administração de antimicrobianos, favorecidos pela exposição de bactérias por períodos prolongados a concentrações insuficientes para matar a totalidade de microrganismos presentes (HÖLZEL et al., 2010; HEUER et al., 2011). Não existe, contudo, consenso na comunidade científica acerca do desenvolvimento de genes de resistência decorrente da exposição de comunidades bacterianas do ambiente aos níveis de concentração de antimicrobianos observados em águas residuárias e nos diversos compartimentos ambientais.

Embora muitos trabalhos observem correlação entre a presença ambiental de antimicrobianos com a presença de genes de resistência, a concentração dos antimicrobianos no ambiente é raramente relacionada com os níveis de resistência encontrados (HÖLZEL et al., 2010). Como tais concentrações são várias ordens de grandeza inferiores às concentrações terapêuticas, não se espera que os antimicrobianos exerçam no meio ambiente uma pressão de seleção para microrganismos resistentes. Provavelmente, o processo principal de seleção de bactérias resistentes ocorre no organismo do animal sendo tratado, onde as concentrações do princípio ativo são elevadas. (HÖLZEL et al., 2010)

Dessa maneira, é possível que a real fonte de resistência microbiana no ambiente não seja a presença dos princípios ativos em si, mas o aporte de bactérias já resistentes, veiculadas por meio de águas residuárias e esterco, selecionadas em organismos durante o tratamento terapêutico com antimicrobianos (KÜMMERER, 2009).

A presença de antimicrobianos no meio ambiente também pode causar impactos negativos a organismos não-alvo. Segundo uma classificação generalista, os antimicrobianos podem ser classificados como extremamente tóxicos para microrganismos (indução de metade

do efeito máximo a concentrações inferiores a $100 \mu\text{g.L}^{-1}$), e muito tóxicos para algas (indução de metade do efeito máximo observada entre 0,1 e 1 mg.L^{-1}). Efeitos menos pronunciados foram observados para rotíferos, crustáceos e peixes (SANTOS et al., 2010).

Antimicrobianos, em geral, possuem impacto negativo sobre organismos contendo cloroplastos devido à origem cianobacteriana dos plastídeos (GARCIA-GALÁN et al., 2009). Assim, efeitos sobre populações de produtores primários podem repercutir indiretamente por toda a cadeia alimentar, uma vez que elas representam uma importante fonte de carbono para outros níveis tróficos.

Antimicrobianos podem ser absorvidos e acumulados em culturas alimentícias fertilizadas com esterco contaminado (DOLLIVER et al., 2007), inclusive apresentando efeitos fitotóxicos pronunciados (MIGLIORI et al., 2003). Efeitos genotóxicos e mutagênicos de antimicrobianos já foram observados por Isidori et al. (2005), embora para faixas de concentração de dezenas de mg.L^{-1} .

Naturalmente, a magnitude do impacto negativo causado por antimicrobianos no meio ambiente é função da concentração ambiental desses compostos. Muitos trabalhos observaram efeitos ecotoxicológicos crônicos e agudos em faixas de concentração superior às ambientalmente relevantes (FERRARI et al., 2004; DE LIGUORO et al., 2009; BIALK-BIELINSKA et al., 2011; GARCÍA-GALÁN et al., 2012). Entretanto, a acumulação de antimicrobianos pode ocorrer em certos compartimentos ambientais e elevar localmente o efeito ecotóxico exercido por esses contaminantes. Migliori et al. (1997) observaram elevada acumulação da sulfonamida sulfadimetoxina em plantas. De maneira similar, a acumulação de antimicrobianos também pode ocorrer por adsorção (KEMPER, 2008). Efeitos sinérgicos da presença de múltiplos antimicrobianos também podem ser significativos, aumentando a atividade ecotóxica de antimicrobianos (EGUCHI et al., 2004).

A revisão da literatura científica revela o elevado grau de incerteza existente acerca dos impactos ambientais negativos causados pela presença de antimicrobianos em baixas concentrações no meio ambiente. O conhecimento disponível é insuficiente para uma avaliação aprofundada do risco ambiental representado pela dispersão de antimicrobianos (KÜMMERER, 2009), sendo esse o principal motivo da ausência de regulações restritivas para as emissões desses compostos. O princípio da precaução, contudo, sugere que mesmo na ausência de certeza científica formal, medidas devem ser tomadas na prevenção de um risco sério em potencial. Dessa forma, fica patente a necessidade de estudos para preencher as

lacunas de conhecimento existentes, assim como a promoção do gerenciamento criterioso de antimicrobianos, o que envolve não só a redução da pressão de seleção para organismos resistentes durante a terapia antimicrobiana, mas também o controle de sua disseminação.

3.2. Sulfonamidas

As sulfonamidas são uma classe de antimicrobianos de uso difundido na medicina humana e veterinária. A sua descoberta remonta à década de 1930 e foram os primeiros agentes antibacterianos utilizados com sucesso no tratamento de doenças infecciosas em humanos (GARCÍA-GALÁN et al., 2008). São agentes bacteriostáticos sintéticos de amplo espectro, agindo sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Utilizadas após sua descoberta como o principal fármaco para o tratamento de infecções bacterianas em humanos, as sulfonamidas têm hoje seu uso limitado ao tratamento de doenças muito específicas na medicina humana (GOLDBERG e BISHARA, 2012). Isso ocorre devido ao potencial para efeitos colaterais tais como alergias, o desenvolvimento de resistência bacteriana e a disponibilidade de outros antimicrobianos mais eficientes. Quantidades expressivas, entretanto, ainda são empregadas na medicina veterinária, tanto no tratamento de doenças como também, em níveis subterapêuticos, como promotores de crescimento e agentes de aumento da eficiência de alimentação dos animais (GARCÍA-GALÁN et al., 2008).

As sulfonamidas são derivadas da sulfanilamida. A estrutura química geral dessa classe é apresentada na Figura 3.2. A molécula consiste de um anel de benzeno, um grupamento amina ($-NH_2$) e um grupamento sulfonamida ($-SO_2NH$) conectado a um radical orgânico ($-R$). Os grupos amina e sulfonamida precisam estar conectados ao anel de benzeno na posição *para*, para que a molécula possua propriedade antibacteriana (HARDMAN et al., 2001¹ apud SARMAH et al., 2006).

¹ HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. (2001) Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics, 10th ed. McGraw-Hill, New York, p. 1171-1173.

Figura 3.2 - Estrutura química geral das sulfonamidas.

O mecanismo principal de ação das sulfonamidas é conhecido no nível enzimático. Elas inibem a multiplicação das bactérias por serem análogos estruturais ao ácido para-aminobenzóico, competindo pelo mesmo sítio ativo enzimático. As sulfonamidas conectam-se à enzima dihidropteroato sintetase, inibindo a formação de ácido dihidrofólico, um precursor do ácido fólico, essencial na síntese de ácidos nucleicos (BARAN et al., 2011).

Os dados de consumo de antimicrobianos no mundo apontam para a extensão do uso das sulfonamidas. Nos Estados Unidos, a UCS (Union of Concerned Scientists) estima um consumo anual de antimicrobianos da ordem de 16.000 toneladas, dos quais 84% correspondem a usos agrícolas. (MELLON et al., 2001). Sarmah et al. (2006) apontam que, do total de farmacêuticos utilizados nos EUA, 2,3% são sulfonamidas. Na União Europeia, estima-se um consumo de 10.000 toneladas anuais de antimicrobianos, das quais 48% são destinadas a uso veterinário (EUROPEAN COMMISSION, 1999). Dentre esses, as sulfonamidas figuram como a segunda classe mais utilizada de antimicrobianos, representando entre 11% e 23% do total de antimicrobianos veterinários na França, Suécia, Dinamarca, Alemanha e Reino Unido (THIELE-BRUHN, 2003).

Sabe-se que parte da dose de sulfonamida administrada em humanos e animais não é metabolizada e é excretada na urina e fezes, tanto como composto inalterado ou como metabólitos que ainda podem ser biologicamente ativos. Animais tratados com sulfonamidas excretam entre 50% a 100% da dose administrada, com o composto inalterado representando entre 30% a 95% do eliminado. Metabólitos acetilados podem compor entre 5% até 60% da dose eliminada. (PARFITT, K., 1999² apud KAY et al., 2004). Esses compostos podem ser reconvertidos ao antibiótico primário no ambiente com a metabolização do grupamento acetyl por bactérias.

² PARFITT, K. (1999) The complete drug reference. 32nd ed. Pharmaceutical Press, London, UK.

Tendo em vista a estabilidade da ligação sulfonamida, os antimicrobianos dessa classe são quimicamente muito estáveis e, portanto, pouco propensos a sofrer rápida biodegradação no meio ambiente (GRANT et al., 2003). De fato, Ingerslev e Halling-Sørensen (2000) realizaram ensaios de biodegradação com doze sulfonamidas e concluíram que estes compostos não podem ser classificados como prontamente biodegradáveis. Segundo os resultados obtidos, os autores apontam que as sulfonamidas são igualmente ou mais persistentes que outros compostos usualmente considerados como recalcitrantes, como o pentaclorofenol.

Considerando tais características das sulfonamidas, não foi inesperado que, com o desenvolvimento e aprimoramento dos métodos analíticos de detecção, esses antimicrobianos tenham sido identificados em diversos compartimentos ambientais. A presença de sulfonamidas e seus metabólitos foi verificada em amostras de solo (SHELVER et al., 2010); esterco (HALLER et al., 2002); esgotos domésticos antes e após tratamento (BATT et al., 2007); lodo de estação de tratamento de esgoto (GÖBEL et al., 2005); água residuária hospitalar (VERLICCHI et al., 2010); mananciais superficiais e aquíferos subterrâneos (HIRSCH et al., 1999); e até mesmo em água mineral engarrafada (PERRET et al., 2006; DÍAZ-CRUZ et al., 2008).

A presença de sulfonamidas no ambiente é primariamente atribuída ao seu emprego nas atividades agropecuárias (BARAN et al., 2011). De fato, as maiores concentrações de sulfonamidas são constatadas em resíduos líquidos ou sólidos de atividades de criação intensiva de animais. Estercos apresentam concentrações típicas de 1 a 10 mg.kg⁻¹, mas chegam a atingir valores de até 200 mg.kg⁻¹ (LERTPAITONPAN, 2008). Granjas de criação intensiva de suínos recebem especial atenção, já que tradicionalmente utilizam mais antimicrobianos como aditivo alimentar do que as demais atividades agropecuárias (GIGUÈRE et al., 2007).

A constatação da presença de sulfonamidas em compartimentos ambientais revela que, atualmente, os tratamentos aos quais são submetidos os efluentes que contêm esses antimicrobianos são insuficientes para promover a sua remoção completa. As eficiências de remoção de sulfonamidas em sistemas biológicos de tratamento são altamente variáveis. Foram observadas eficiências de remoção de 0% a 100% para experimentos em laboratório e estações de tratamento em escala plena (ONESIOS et al., 2009). Verificou-se frequentemente a ocorrência de aumento de concentração de antibiótico após a passagem pelo sistema de

tratamento, que foi atribuída à desconsideração de fenômenos de adsorção e dessorção, e principalmente pela hidrólise de metabólitos acetilados de volta ao composto original (GARCÍA-GALÁN et al., 2008).

Ingerslev e Halling-Sørensen (2000) realizaram trabalho referência acerca da biodegradabilidade de sulfonamidas em sistemas de lodos ativados (em concentrações entre 250 e 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$). Embora os autores tenham constatado que as doze sulfonamidas estudadas podem ser degradadas no sistema aeróbio estudado, existe uma fase de adaptação com duração de 7 a 10 dias (a 20°C) em que nenhuma remoção significativa dos antimicrobianos é observada. Após esse período, os compostos foram eliminados em 5 a 10 dias. Observou-se que as bactérias expostas a quatro sulfonamidas eram capazes de degradar outras quatro sulfonamidas às quais ainda não tinham sofrido exposição. Esse comportamento indica que, durante a fase de adaptação, as bactérias adquiriram propriedades gerais capazes de serem aplicadas na degradação de várias sulfonamidas.

3.3. Sulfametazina

A sulfametazina (ou sulfadimidina) é frequentemente citada como a sulfonamida mais amplamente empregada como antibiótico veterinário (HRUSKA e FRANEK, 2012; BARAN et al., 2011; MOHRING et al., 2009; HUANG et al., 2001). Esse composto é constituído pela estrutura básica das sulfonamidas acrescida de um anel de pirimidina com dois grupamentos metila substituintes, conforme apresentado na Figura 3.3.

Figura 3.3 - Estrutura química da sulfametazina.

A Tabela 3.1 apresenta as principais propriedades físico-químicas da sulfametazina.

Tabela 3.1 - Propriedades físico-químicas da sulfametazina.

Parâmetro	Valor	Referência
Registro CAS	57-68-1	O'Neil et al. (2001)
Fórmula Química	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	O'Neil et al. (2001)
Peso Molecular ($g.mol^{-1}$)	278,33	O'Neil et al. (2001)
Solubilidade em Água (a 29°C, $mg.L^{-1}$)	1500	O'Neil et al. (2001)
$\log K_{ow}$	0,89	Lertpaitoonpan (2008)
$pK_{a,1}$	$2,65 \pm 0,2$	Lertpaitoonpan (2008)
$pK_{a,2}$	$7,4 \pm 0,2$	Lertpaitoonpan (2008)
Constante da Lei de Henry ($atm.m^3.mol^{-1}$)	$8,776 \times 10^{-13}$	Wu et al. (2009)

A presença de sulfametazina (SMZ) em compartimentos ambientais é frequentemente relacionada à contaminação por águas residuárias de criação intensiva de animais. A Figura 3.4 apresenta um levantamento bibliográfico de estudos de monitoramento da presença de fármacos em compartimentos ambientais que quantificaram a presença de sulfametazina em amostras de fase líquida e fase sólida. Foram avaliados 73 trabalhos de 19 países, publicados entre 1999 e 2016, e incluídos os valores médios relatados. Os trabalhos considerados são relacionados no Anexo A.

Figura 3.4 - Presença de sulfametazina em diversos compartimentos ambientais. Os círculos azuis representam SMZ presente na fase líquida, ao passo que os círculos vermelhos representam SMZ presente na fase sólida.

Evidencia-se a associação da presença ambiental de SMZ, em elevadas concentrações, com atividades de criação de suínos. A recalcitrância durante o tratamento de efluentes, a disposição inadequada em cursos d'água e a utilização de esterco animal como fertilizante ocasiona a disseminação do antimicrobiano em solos, águas superficiais e subterrâneas. Nesse contexto, o tratamento adequado dos efluentes contaminados com SMZ constitui uma barreira primária na dispersão desse micropoluinte.

Diversos estudos observaram a resistência da sulfametazina à degradação em sistemas de tratamento anaeróbios e aeróbios, mesmo quando comparada a outras sulfonamidas.

Mohring et al. (2009) estudaram a degradação simultânea de sete sulfonamidas durante a fermentação anaeróbia de esterco de suinocultura em um ensaio em batelada de cinco semanas (concentrações de 2 e 10 mg.kg⁻¹). Enquanto os antimicrobianos sulfadizina, sulfamerazina e sulfametoxazol foram completamente eliminados em até duas semanas, 100% das concentrações iniciais de sulfametazina e sulfatiazol puderam ser detectadas ao final do experimento. Os autores apontam para uma dependência estrutural da degradação dos antimicrobianos. Como um exemplo, em relação às sulfonamidas com anel de pirimidina, enquanto a sulfamerazina (anel mono-substituído) e a sulfadiazina (nenhum substituinte), foram completamente eliminadas, a sulfametazina (anel di-substituído) não apresentou degradação.

Yu et al. (2011) realizaram ensaios em batelada com biomassa aeróbia imobilizada para determinar a biodegradação e a adsorção de quatro antimicrobianos e anti-inflamatórios. Dentre esses, a sulfametazina foi caracterizada como pouco biodegradável e fracamente adsorvida. Da concentração inicial de 100 µg.L⁻¹, 23% foi removida por biodegradação e 20% por adsorção, em um período de 14 dias. No mesmo estudo, o sulfametoxazol e a sulfadimetoxina foram biodegradados em 59% e 52%, e adsorvidos em 31% e 34%, respectivamente.

Wu et al. (2009) avaliaram a adsorção e a biodegradação aeróbia de diversos antimicrobianos (concentração inicial de 100 µg.L⁻¹) em lodo de estação de tratamento de esgoto por meio de um experimento em batelada durante 11 semanas. Ambas as sulfonamidas analisadas, sulfametazina e sulfametoxazol, adsorveram fracamente ao lodo. Entretanto, enquanto o sulfametoxazol foi rapidamente degradado em apenas 2 dias, a sulfametazina exibiu degradação lenta, com uma meia vida calculada de 173 dias. Esses resultados apontam

para o fato de que mecanismos distintos de degradação estão envolvidos na remoção das duas sulfonamidas.

Dolliver et al. (2008) relataram que, durante a compostagem aeróbia de esterco de aves por 35 dias, embora os antimicrobianos monensina e tilosina tenham sido degradados entre 54% e 76% e a clorotetraciclina tenha apresentado remoção superior a 99%, a sulfametazina (a uma concentração inicial de $10,8 \mu\text{g.kg}^{-1}$) não apresentou degradação.

Alguns trabalhos, entretanto, indicam a biodegradabilidade desse antibiótico. García-Galán et al. (2011) demonstraram a tratabilidade de sulfametazina pelo fungo *Trametes versicolor* tanto em meios de cultura como na fração sólida de lodo de estação de tratamento de esgoto. O ensaio proposto resultou em remoção de 95% de SMZ (a uma concentração inicial de 9 mg.L^{-1}) em 20 horas, em meio de cultura, e a remoção de 100% de SMZ (concentração inicial de $19,1 \text{ ng.g}^{-1}$) da fase sólida de lodo em 42 dias.

3.4. Mecanismos de remoção de antimicrobianos em sistemas biológicos de tratamento de efluentes.

A maioria das águas residuárias contaminadas com antimicrobianos, sejam elas de origem doméstica, hospitalar ou agroindustrial, é submetida a sistemas biológicos de tratamento para a remoção de carga orgânica e, em alguns casos, de nutrientes. Esforços têm sido despendidos pela comunidade científica para avaliar o potencial de remoção de antimicrobianos nesses sistemas de tratamento, além de caracterizar as transformações observadas e identificar fatores interferentes nessa transformação.

Diversos trabalhos de revisão bibliográfica sintetizaram os resultados de estudos de monitoramento de antimicrobianos na entrada e saída de estações de tratamento biológico de efluentes. Invariavelmente, os autores concluíram que as eficiências observadas de remoção de antimicrobianos são altamente inconsistentes, sendo frequentemente observadas eficiências de remoção de 0% a 100% para um mesmo fármaco em sistemas que utilizam a mesma tecnologia de tratamento (ONESIOS et al., 2009; LE-MINH et al., 2010; BARAN et al., 2011; HOMEM e SANTOS, 2011; FATTA-KASSINOS et al., 2011; VERLICCHI et al., 2012). A ampla dispersão das observações é atribuída ao grande número de variáveis envolvidas nesses estudos, tais como as propriedades físico-químicas dos diversos princípios ativos avaliados; as condições ambientais nas estações, como temperatura e incidência solar; as tecnologias de tratamento avaliadas; os parâmetros de operação das estações de tratamento;

a representatividade das campanhas de amostragem realizadas; a consideração da formação de produtos de degradação; e a consideração de fenômenos secundários na remoção dos fármacos. A falta de controle das variáveis experimentais dificulta a comparação das observações e impede a identificação de fatores intervenientes na remoção biológica de antimicrobianos em estações de tratamento de efluentes.

Assim, mostra-se mais interessante a caracterização dos mecanismos pelos quais os antimicrobianos são removidos em sistemas biológicos de tratamento. Essa abordagem fundamental permitiria explicar as eficiências de remoção observadas nos estudos de monitoramento e então propor alternativas para favorecer a remoção desses produtos farmacêuticos em estações de tratamento de efluentes. Espera-se que a remoção de antimicrobianos em sistemas biológicos de tratamento de efluentes ocorra por uma combinação de fatores bióticos e abióticos, sendo os mais frequentemente apontados: oxidação química, volatilização, hidrólise, fotólise, adsorção no lodo e biodegradação. Uma vez que os antimicrobianos não são um grupo homogêneo de compostos, a contribuição de cada um dos mecanismos varia de acordo com o princípio ativo.

De maneira geral, não se observa grande influência de processos abióticos físico-químicos na remoção de antimicrobianos persistentes em sistemas biológicos de tratamento. Ensaio de estabilidade abiótica foram conduzidos para antimicrobianos dos grupos sulfonamidas (AL-AHMAD et al., 1999; PÉREZ et al., 2005), fluoroquinolonas (AL-AHMAD et al., 1999) e tetraciclina (ALEXY et al., 2004) e não foi observada remoção significativa por esses mecanismos. A ubiquidade desses compostos em compartimentos ambientais é um indicativo da sua estabilidade e resistência à degradação.

A adsorção de antimicrobianos no lodo biológico pode ocorrer devido a interações hidrofóbicas entre os grupos alifáticos e aromáticos dos compostos químicos e as frações lipídicas das células e sólidos em suspensão, assim como por interações de ordem eletrostática entre grupos funcionais carregados dos fármacos e as cargas de superfície dos microrganismos (VERLICCHI et al., 2012). Dessa maneira, esse mecanismo de remoção depende das propriedades físico-químicas dos antimicrobianos, além do pH e potencial de oxi-redução do meio, bem como a concentração e tipo de biomassa presente no sistema de tratamento. Muitos autores utilizam o coeficiente de partição octanol/água dos produtos farmacêuticos como um indicador da tendência de adsorção do composto na biomassa,

embora tal parâmetro deva ser utilizado com cautela devido à ocorrência de ionização em grande número de antimicrobianos (FATTA-KASSINOS et al., 2011).

Wu et al. (2009) avaliaram a adsorção de antimicrobianos de diferentes classes (sulfonamidas, fluoroquinolonas, lincosaminas e tetraciclinas) em lodo aerobiamente digerido e observaram forte adsorção para as fluoroquinolonas, tetraciclinas e lincosaminas, ao passo que a adsorção foi desprezível para as sulfonamidas. Esse resultado ilustra a grande dependência da adsorção ao lodo com a classe de antimicrobiano avaliada. As sulfonamidas, devido às suas características hidrofílicas, geralmente apresentam reduzida adsorção em lodos biológicos, como observado por Ingerslev e Halling-Sørensen (2000), Göbel et al. (2005), Pérez et al. (2005), Yang et al. (2011) e Vasiliadou et al. (2013). Todos esses estudos avaliaram a adsorção em lodo biológico de sistemas de lodos ativados.

As baixas concentrações em que os antimicrobianos estão presentes em águas residuárias afetam o tipo de biotransformação que eles podem sofrer. Mesmo que esses compostos sejam biodegradáveis em concentrações elevadas, quando presentes na faixa de concentração de ng.L^{-1} a poucos $\mu\text{g.L}^{-1}$ eles são insuficientes para fornecer o mínimo de energia necessário para a manutenção da atividade microbiológica e induzir as enzimas relevantes para sua biodegradação. Nessa situação, a transformação do micropoluentes é dependente da presença de enzimas e cofatores induzidos pela presença de um substrato que de fato sustenta o crescimento microbiano. Esse processo é conhecido por cometabolismo (TRAN et al., 2013).

Formalmente, o cometabolismo é definido como a transformação de um substrato que não sustenta o crescimento microbiano na presença obrigatória de um substrato de crescimento ou outro composto transformável (DALTON e STIRLING, 1982). O cometabolismo resulta de uma falta de especificidade das enzimas e cofatores que, ao serem induzidos por um substrato metabólico, degradam fortuitamente o cometabólito. Em culturas puras o produto da degradação cometabólica não é inserido nas cadeias metabólicas da cultura e, portanto, tende a se acumular no meio. Em consórcios microbianos, contudo, é possível que o cometabolismo inicie a conversão de um composto persistente para um intermediário participante de rotas metabólicas de outros microrganismos, continuando a sua biotransformação (TRAN et al., 2013).

A identificação da ocorrência de cometabolismo na biodegradação de antimicrobianos em estações de tratamento de efluentes tem implicações diretas na racionalização da remoção

desses compostos e na otimização das condições de operação das estações para esse fim (FISCHER e MAJEWSKI, 2014). Diversos autores atribuíram ao cometabolismo a transformação de produtos farmacêuticos em sistemas biológicos de tratamento (QUINTANA et al., 2005; TRAN et al., 2009; GAUTHIER et al., 2010; OTTMAR et al., 2012). Essas observações indicam que a biodegradação dos antimicrobianos nessas águas residuárias encontra-se acoplada à conversão dos macropoluentes, e assim eles precisam ser avaliados conjuntamente.

3.5. Comportamento de sulfonamidas em sistemas anaeróbios de tratamento

A maioria dos estudos que avaliaram a biodegradabilidade de antimicrobianos em sistemas de tratamento de efluentes baseou-se em comunidades bacterianas de sistemas de lodos ativados, que são amplamente empregados em estações de tratamento de efluentes (PÉREZ et al., 2005). Embora a tecnologia anaeróbia tenha ganhado espaço no tratamento de águas residuárias de origem agropecuária, o estudo da eficiência desses sistemas de tratamento na remoção de antimicrobianos é ainda incipiente.

Inicialmente, os estudos voltaram-se à avaliação do impacto negativo da presença de antimicrobianos na digestão anaeróbia de lodos ativados e de resíduos sólidos agroindustriais. Massé et al. (2000) analisaram a influência de seis antimicrobianos veterinários, entre eles a sulfametazina, na digestão anaeróbia de esterco suíno em reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais. Com o objetivo de quantificar o potencial efeito de metabólitos no sistema anaeróbio, os autores administraram os fármacos aos suínos ao invés de contaminar o esterco com os analitos de interesse. Embora os autores não tenham quantificado a concentração final dos antimicrobianos no esterco, não foi observada qualquer influência da sulfametazina na estabilidade do processo e na produção de biogás para a máxima dosagem de antimicrobianos recomendada no tratamento terapêutico dos animais.

De maneira similar, Mitchell et al. (2013) avaliaram a biodegradabilidade e o potencial de inibição da sulfametazina na digestão anaeróbia de esterco bovino. Não foi observado qualquer impacto na produção de biogás para concentrações de sulfametazina de até 280 mg.L⁻¹ e também não se verificou degradação do antimicrobiano. Spielmeier et al. (2015) avaliaram a eliminação de sulfametazina e sulfadiazina durante a fermentação anaeróbia de esterco animal para a produção de biogás. A produção de biogás e rendimento de metano não foram afetados por concentrações de até 38 mg.kg⁻¹ dos fármacos. Eficiências de remoção de

até 48% das sulfonamidas foram observadas. Mohring et al. (2009) realizaram ensaios preliminares de digestão anaeróbia de lodo de sistema de lodos ativados, sob diferentes concentrações de sulfonamidas e apontaram o valor de 500 mg.kg^{-1} como inibitório ao processo biológico.

Fountoulakis et al. (2004) avaliaram a ecotoxicidade da sulfonamida sulfametoxazol à digestão anaeróbia por meio de ensaios de atividade metanogênica específica. Os autores não observaram efeitos inibitórios na produção de metano para concentrações de até 400 mg.L^{-1} de sulfametoxazol em até 120 horas de ensaio, para uma concentração de biomassa de 1 g SSV.L^{-1} . Gartiser et al. (2007) também realizaram testes padrão de biodegradabilidade anaeróbia e inibição da metanogênese para o sulfametoxazol e não observaram nenhuma inibição para concentrações do fármaco de 6 a 100 mg.L^{-1} , assim como não foi verificada degradação do princípio ativo.

Resultados distintos, contudo, foram observados por Loftin et al. (2005), que investigaram o efeito de oito antimicrobianos veterinários, entre eles as sulfonamidas sulfatiazol, sulfametazina e sulfadimetoxina, no metabolismo microbiano de amostras de lagoas anaeróbias tratando efluente de suinocultura. Foram observadas reduções de até 54% da produção de metano para concentrações das sulfonamidas de 1 a 25 mg.L^{-1} . Como não foi verificado acúmulo de hidrogênio ou ácidos graxos voláteis nos ensaios, os autores sugeriram a ocorrência de inibição nos passos fermentativos iniciais da digestão anaeróbia.

Aydin et al. (2015) avaliaram o efeito inibitório de diferentes associações de antimicrobianos sobre comunidades microbianas anaeróbias durante o consumo de ácidos orgânicos voláteis. A sulfonamida sulfametoxazol foi avaliada quando aplicada conjuntamente com tetraciclina e eritromicina em concentrações de 1 a 250 mg.L^{-1} . Os autores observaram redução na produção de metano em todas as combinações de antimicrobianos mesmo para a menor concentração ensaiada. Diferentemente do relatado por Loftin et al. (2005), a adição de antimicrobianos no meio alterou a utilização dos ácidos graxos voláteis acético, propiônico e butírico, afetando subsequentemente a produção de biogás.

Carballa et al. (2006 e 2007) avaliaram a remoção de sulfametoxazol durante a digestão anaeróbia de lodos ativados em digestores em escala de bancada. Para concentrações iniciais de $40 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, foi observada remoção de 99% da sulfonamida, independentemente da temperatura da digestão, do tempo de retenção celular e do emprego de pré-tratamentos

térmicos e químicos do lodo. Os autores não relataram qualquer alteração da estabilidade do sistema decorrente da presença dos produtos farmacêuticos.

De maneira similar, Martín et al. (2015) avaliaram o comportamento de sulfametoxazol em diferentes tecnologias de estabilização de lodo de estação de tratamento de esgoto. O antimicrobiano foi observado em uma concentração máxima de $24,7 \mu\text{g.kg}^{-1}$ em lodo de decantador secundário. Os autores observaram uma tendência de maior concentração de antimicrobianos em lodo primário e secundário do que o observado para lodos digeridos. Sulfametoxazol estava abaixo dos limites de quantificação no lodo anaerobiamente digerido e desidratado, indicando a sua degradação durante o processo de estabilização.

Alvarino et al (2016) avaliaram a degradação de sulfametoxazol em diferentes condições de potencial redox, incluindo a digestão anaeróbia, na concentração de $272 \mu\text{g.L}^{-1}$. Foram observadas eficiências de remoção entre 25% e 52% da sulfonamida, com dependência da remoção de matéria orgânica facilmente degradável nos ensaios.

Para águas residuárias da indústria farmacêutica, Cetecioglu et al. (2015) avaliaram a degradação de sulfametoxazol em reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais. Foram ensaiadas concentrações crescentes do fármaco, de 1 a 45 mg.L^{-1} . Embora as concentrações iniciais de 1 a 10 mg.L^{-1} não tenham afetado a remoção de DQO solúvel e a produção de biogás, a concentração de 45 mg.L^{-1} acarretou total desestabilização do processo anaeróbio. A eficiência de remoção do fármaco decaiu de 99,9% durante a alimentação com 10 mg.L^{-1} para 8% com a alimentação de 45 mg.L^{-1} . Em trabalho similar, Sponza e Dermiden (2007) estudaram o comportamento da sulfonamida sulfamerazina durante o tratamento anaeróbio desse efluente em reator UASB seguido por reator aeróbio. Foram avaliadas concentrações de 10 a 90 mg.L^{-1} do antimicrobiano. Foram observadas eficiências de remoção de sulfamerazina de até 80% no reator UASB para a concentração máxima do fármaco. A eficiência de remoção de DQO total no reator anaeróbio decresceu de 80% a 68% quando foi aplicada a concentração máxima de 90 mg.L^{-1} de sulfamerazina. Os autores estabeleceram como 33 mg.L^{-1} a concentração de sulfamerazina que inibe a produção de biogás em 50%, quando comparada a um controle sem adição do antimicrobiano.

A remoção de sulfametoxazol durante o tratamento anaeróbio de esgoto sanitário foi avaliada por Queiroz et al. (2012) e Brandt et al. (2013) em reatores UASB em escala piloto. O antimicrobiano foi quantificado em concentração média 35 ng.L^{-1} no esgoto sanitário, e não foi observada remoção estatisticamente significativa durante a digestão anaeróbia.

Os trabalhos avaliados demonstram eficiências de remoção altamente variáveis de sulfonamidas durante a digestão anaeróbia, sem esclarecimento dos fatores que promovem essa remoção. Embora os trabalhos revisados sejam divergentes quanto à faixa de concentrações de sulfonamidas capaz de afetar negativamente a digestão anaeróbia, não foi observada influência sobre as comunidades microbianas em concentrações inferiores a 1 mg.L⁻¹ em nenhum dos estudos. Assim, como as concentrações de sulfonamidas usualmente encontradas em águas residuárias são da faixa de ng.L⁻¹ a µg.L⁻¹, não se espera inibição da metanogênese no tratamento anaeróbio de correntes líquidas. Estudos mais cuidadosos, contudo, se mostram necessários para o tratamento anaeróbio de resíduos sólidos contaminados com sulfonamidas.

3.6. Considerações finais

A revisão da literatura científica acerca da presença ambiental de antimicrobianos e o seu comportamento em sistemas de tratamento de efluentes revela a presença de incertezas características de um campo ainda em desenvolvimento. Faz-se necessário o prosseguimento dos estudos que avaliam os impactos dos antimicrobianos no ambiente e a caracterização de suas transformações.

Apesar do grande número de estudos diagnósticos da eficiência de remoção de antimicrobianos em estações de tratamento de efluentes, é frequente o reduzido controle de condições experimentais e grande número de variáveis, o que limita a interpretação e comparação das observações. Fica evidenciada uma lacuna de conhecimento de estudos fundamentais que permitam a identificação dos fatores que levam à degradação de antimicrobianos em sistemas biológicos de tratamento de efluentes.

O estabelecimento de bases racionais possibilita a avaliação da possibilidade de alteração do projeto e operação de sistemas de tratamento para atingir a remoção simultânea dos macroconstituintes orgânicos e antimicrobianos. De maneira secundária, tais estudos podem também apontar para a necessidade de aplicação de pós-tratamentos direcionados especificamente para a remoção de antimicrobianos, para que as estações de tratamento de efluentes constituam barreiras efetivas na dispersão de micropoluentes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento experimental

A pesquisa foi estruturada em três fases experimentais segundo o delineamento geral apresentado na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Delineamento experimental da pesquisa.

A primeira fase experimental objetivou uma avaliação preliminar da biodegradabilidade anaeróbia da sulfametazina e da extensão de outros fenômenos que podem remover o fármaco da fase líquida. Os experimentos da Fase 1 consistiram em ensaios em batelada simples utilizando lodo anaeróbio granular e água residuária sintética. Optou-se pelo emprego de uma água residuária sintética de composição determinada para evitar efeitos de interferentes que possam estar presentes na água residuária real, bem como garantir a ausência de concentrações residuais de sulfametazina e de seus produtos de degradação.

Experimentos controle foram realizados para a quantificação da contribuição de fenômenos físico-químicos e adsorptivos na remoção de SMZ. Os ensaios realizados na Fase 1

possibilitaram a caracterização cinética da remoção de SMZ da fase líquida, e embasaram o desenvolvimento e a aplicação de um modelo matemático simples que auxiliou na interpretação dos perfis temporais obtidos.

Levando em consideração a lacuna de conhecimento existente em relação à degradação anaeróbia de sulfonamidas em concentrações ambientalmente relevantes, a Fase 1 fundamentou as condições de operação aplicadas aos reatores contínuos nas fases experimentais subsequentes.

Na Fase 2 foram operados três reatores anaeróbios contínuos em escalada de bancada, o reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF), o reator anaeróbio de mistura e biomassa imobilizada (RAMBI) e o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB). O padrão de escoamento nos reatores foi avaliado previamente à sua operação por meio de ensaios hidrodinâmicos. Os reatores foram inoculados segundo concentrações iniciais de biomassa equivalentes e foram operados em paralelo, alimentados com água residuária sintética em etapas experimentais que envolveram a variação da DQO afluente e a variação do tempo de detenção hidráulica. Essa fase teve como propósito avaliar possíveis diferenças de desempenho entre os reatores, atribuídas às diferenças de tipo de padrão escoamento (existentes entre o RAHLF e o RAMBI) e entre o tipo de imobilização da biomassa (existentes entre o RAHLF e o UASB). Objetivou-se também a investigação de condições operacionais que pudessem favorecer a biodegradação anaeróbia de sulfametazina.

Durante a Fase 3 o RAHLF foi alimentado com água residuária de suinocultura real pré-sedimentada em duas etapas operacionais. Essa fase teve como objetivo principal avaliar o desempenho do reator frente a um aumento de complexidade do afluente, em situação próxima à de uma aplicação real. Foi também avaliado efeito da suplementação do afluente do reator com sacarose exógena na remoção de sulfametazina da fase líquida.

4.2. Fase 1

4.2.1. Ensaios em batelada

Os ensaios em batelada simples foram conduzidos em frascos de polietileno de 500 mL, preenchidos com 400 mL de meio reacional. Os reatores foram mantidos, na ausência de luz, em mesa agitadora recíprocante a 145 rpm e temperatura constante de 30°C por meio de

câmara de controle de temperatura. Estudos preliminares foram realizados e descartaram a possibilidade de adsorção de sulfametazina na parede dos recipientes de polietileno.

Os reatores foram inoculados com lodo anaeróbio granular não exposto previamente ao antimicrobiano sulfametazina, em uma concentração de 5 g STV.L⁻¹, mantida constante em todos os ensaios. O lodo foi previamente analisado para a presença de SMZ, de maneira a garantir que essa não seria uma fonte de contaminação do fármaco.

Os reatores foram purgados com nitrogênio gasoso por 15 minutos antes do início dos experimentos, com o objetivo de eliminar o oxigênio dissolvido.

Devido ao método analítico laborioso empregado para a quantificação de SMZ na Fase 1 e a impossibilidade de processar grande volume de amostras, a maioria das condições experimentais testadas foi ensaiada sem replicatas. Avaliou-se, em um passo preliminar, a precisão de perfis temporais de SMZ obtidos em ensaios bateladas realizados em triplicata na faixa de concentração de SMZ de 100 µg.L⁻¹. Foram obtidos coeficientes de variação médios de 6%, atingindo valores máximos de 19% ao longo de uma batelada de 72 horas. Assim, a avaliação dos perfis temporais obtidos durante essa fase operacional foi efetuada levando em consideração essa precisão observada, adequada para replicatas de ensaios biológicos.

4.2.2. Ensaios abióticos

Trabalhando-se com concentrações ambientalmente relevantes de antimicrobianos quimioterápicos em águas residuárias, na ordem de ng.L⁻¹ a µg.L⁻¹, a influência de fenômenos físico-químicos como hidrólise, fotólise, volatilização e adsorção na remoção do fármaco pode ser significativa e resultar em estimativas errôneas da capacidade de biodegradação de um sistema de tratamento. Assim, torna-se imprescindível a determinação da contribuição individual desses fenômenos no cômputo do total removido.

A influência dos fenômenos de hidrólise química, volatilização e adsorção nas paredes do frasco reacional foi avaliada por meio de um ensaio de estabilidade de uma solução de sulfametazina a 200 µg.L⁻¹, mantida sob as mesmas condições dos ensaios bióticos por 12 dias.

Com o objetivo de quantificar separadamente a contribuição da adsorção na biomassa na remoção de sulfametazina da fase líquida, ensaios em batelada foram conduzidos com lodo anaeróbio granular inativado. Todos os ensaios de adsorção foram realizados com pH ajustado

em 7,0. Optou-se por um método de inativação da biomassa que preservasse as características estruturais celulares e do biofilme, de maneira que fosse possível assumir que a adsorção no lodo inativado fosse equivalente à ocorrente no lodo ativo.

O lodo granular anaeróbio foi inativado por exposição a uma solução aquosa de etanol 50% por tempo superior a uma semana. Após esse período, os grânulos foram coletados com o auxílio de uma peneira e lavados em água corrente para a remoção do etanol antes dos ensaios de adsorção. Esse procedimento, inicialmente desenvolvido para a inativação de leveduras com preservação de sua integridade fisiológica, foi empregado com sucesso por Vela et al. (1999), na inativação completa de lodo anaeróbio.

4.2.3. *Água residuária sintética*

Formulou-se uma água residuária sintética complexa com o intuito de simular efluente de suinocultura pré-tratado. O emprego de um meio sintético se fez necessário pela necessidade de obtenção de uma matriz aquosa de composição conhecida, isenta do fármaco em estudo e de seus produtos de degradação. Isso permitiu o desenvolvimento dos métodos analíticos de quantificação de sulfametazina e também de detecção dos produtos de degradação. Adicionalmente, a realização dos ensaios de biodegradação em um meio de reduzida complexidade se mostrou interessante para caracterizar os mecanismos de remoção de SMZ sem a interferência de variabilidade sazonal da composição e da presença de compostos desconhecidos, potencialmente presentes em uma água residuária real.

Os constituintes inorgânicos da água residuária sintética foram baseados na proposta de Bergmann et al. (2000). Os autores analisaram a composição química de 715 amostras de efluente de suinocultura pré-tratado e desenvolveram uma água residuária sintética que simula o perfil de nutrientes, a força iônica total, o pH e a capacidade de tamponamento do efluente real.

De fato, o meio artificial apresentado por Bergmann et al. (2000) se aproxima bastante do observado por Oliveira (2006) que caracterizou o efluente de suinocultura na saída da lagoa de estabilização em uma granja suinícola no estado de São Paulo, demonstrando a representatividade desse meio sintético. A Tabela 4.1 apresenta o perfil nutricional da água residuária sintética proposta e a observada por Oliveira (2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 4.1 - Composição nutricional do meio sintético proposto por Bergmann et al. (2000) e caracterização observada por Oliveira (2006).

Espécie	Concentração (mg.L ⁻¹)		Espécie	Concentração (mg.L ⁻¹)	
	Bergmann et al. (2000)	Oliveira (2006)		Bergmann et al. (2000)	Oliveira (2006)
NO ₃ ⁻	0,93	0,85	Na	175	91
P	98	119	B	0,68	1,02
K	485	344	Mn	0,88	1,07
Ca	122	103	Zn	3,07	2,01
Mg	40	75	Cu	1,21	0,72
Cl	301	-.-	Mo	0,02	<0,05
Fe	7,87	2,09	Co	0,02	0,015
S	34	-.-			

A Tabela 4.2 apresenta os sais utilizados para atingir a composição nutricional desejada e as respectivas concentrações finais na água residuária sintética. Bicarbonato de sódio foi adicionado ao meio como fonte de alcalinidade e o pH final da água residuária sintética foi de 7,5. Cloreto de amônio foi utilizado para atingir uma relação DQO_{filtrada}:N de 4, compatível com as observações de Pereira (2004), Abreu Neto (2007), Oliveira e Duda (2009) e Duda (2010).

Tabela 4.2 - Composição inorgânica da água residuária sintética utilizada.

Sal	Concentração (mg.L ⁻¹)	Sal	Concentração (mg.L ⁻¹)
H ₃ BO ₃	3,89	KH ₂ PO ₄	430,6
MnCl ₂ .4H ₂ O	3,17	CaCl ₂	337,8
ZnSO ₄ .7H ₂ O	13,5	KCl	623,9
CuCl ₂ .2H ₂ O	3,25	MgCl ₂ .6H ₂ O	334,6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,05	K ₂ SO ₄	152,0
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,10	FeSO ₄ .7H ₂ O	39,2
NaNO ₃	1,27	NaHCO ₃	1512
		NH ₄ Cl	1500

A composição orgânica da água residuária sintética foi estabelecida para apresentar uma DQO filtrada de 2000 mg O₂.L⁻¹. De acordo com a caracterização apresentada por Oliveira (1997), os resíduos de suinocultura possuem grande quantidade de polissacarídeos complexos (contemplando 35% dos sólidos voláteis) e menores quantidades de proteínas

(20%) e lipídios (15%). Dessa maneira, estabeleceu-se que a DQO filtrada do meio sintético fosse constituída por carboidratos, proteínas e lipídios, na proporção de 1,75:1:0,75.

Extrato de carne em pó foi utilizado como fonte de proteínas, uma solução de sacarose, amido solúvel e celulose microcristalina (na proporção mássica de 1:3:1) foi utilizada para compor a fração de carboidratos e óleo de soja emulsificado com detergente comercial foi adicionado como fonte de lipídeos. Foi empregada uma proporção de 1 gota de detergente para cada 25 mg de óleo de soja. Os dois componentes foram misturados em um béquer e gradualmente diluídos em água de abastecimento antes de serem adicionados ao meio sintético. A Tabela 4.3 apresenta as concentrações finais dos constituintes orgânicos na água residuária sintética.

Tabela 4.3 - Composição orgânica da água residuária sintética utilizada.

Constituinte Orgânico	Concentração
Extrato de Carne (mg.L ⁻¹)	876
Sacarose (mg.L ⁻¹)	306
Amido Solúvel (mg.L ⁻¹)	920
Celulose (mg.L ⁻¹)	306
Óleo de Soja (µL.L ⁻¹)	705

4.2.4. Inóculo

A biomassa utilizada como inóculo para os reatores biológicos foi proveniente de um reator UASB em operação tratando água residuária de abatedouro de aves (Avícola Dacar S.A.), localizado na cidade de Tietê, SP. O lodo anaeróbio granular apresentou concentração média de sólidos totais voláteis de $42,50 \pm 0,91$ g STV.L⁻¹.

Esse lodo foi selecionado por apresentar grande diversidade microbiológica, conforme caracterizado por Hirasawa (2007) e já foi empregado com sucesso para o tratamento de compostos recalcitrantes, como BTEX (SOUZA et al., 2009), efluente de branqueamento de papel (CHAPARRO et al., 2010) e produtos de higiene pessoal (RODRIGUES et al., 2011).

4.2.5. *Análise cinética*

Um modelo matemático de dois compartimentos foi desenvolvido e ajustado aos perfis temporais experimentais com o objetivo de estimar quantitativamente a contribuição da adsorção ao lodo e da biodegradação na remoção de sulfametazina da fase líquida durante os ensaios em batelada, assim como para determinar o compartimento (fase aquosa ou adsorvida) em que a SMZ está disponível para a biodegradação.

O desenvolvimento do modelo matemático derivou diretamente das observações experimentais efetuadas durante a Fase 1. Dessa maneira, as equações e considerações utilizadas são apresentadas na seção de Resultados e Discussão, juntamente com os demais resultados.

4.2.6. *Condições experimentais*

A Tabela 4.4 apresenta as condições experimentais ensaiadas durante a Fase 1, bem como os valores nominais de concentração inicial de SMZ e da DQO solúvel inicial utilizadas nos ensaios.

Tabela 4.4 - Condições experimentais das bateladas operadas durante a Fase 1.

Reator	Biomassa	Água Residuária Sintética	SMZ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	DQO _{solúvel} ($\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$)
R0	NÃO	NÃO	200	.-
R1	ATIVA	NÃO	100	.-
R2	ATIVA	SIM	100	1600
R3	INATIVA	SIM	100	1800
R4	INATIVA	NÃO	100	.-
R5	ATIVA	SIM	100	475
R6	ATIVA	SIM	100	870
R7	ATIVA	SIM	100	1420
R8	ATIVA	SIM	100	1600
R9	INATIVA	NÃO	5	.-
R10	INATIVA	NÃO	90	.-
R11	INATIVA	NÃO	800	.-
R12	INATIVA	NÃO	1000	.-
R13	ATIVA	SIM	7	1500
R14	ATIVA	SIM	100	1500
R15	ATIVA	SIM	500	1500

4.3. Fase 2

A Fase 2 envolveu a operação de três reatores anaeróbios contínuos em escala de bancada, o reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF), o reator anaeróbio de mistura e biomassa imobilizada (RAMBI) e o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), com o intuito de investigar as condições operacionais que favorecessem a biodegradação anaeróbia de sulfametazina.

4.3.1. Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF)

O reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) foi confeccionado em um tubo de acrílico flangeado, com diâmetro interno de 5 cm e 100 cm de comprimento, resultando em uma relação comprimento por diâmetro (L/D) de 20. O reator apresentava quatro pontos

intermediários de amostragem da fase líquida, localizados no inferior do corpo do reator, igualmente espaçados por 20 cm. O escoamento dos gases era realizado por meio de três pontos de coleta localizados na parte superior do reator, posicionados em intervalos regulares de 25 cm.

O reator foi completamente preenchido por espuma de poliuretano comercialmente disponível cortada em matrizes cúbicas de 0,5 cm de aresta, correspondendo a um peso seco total de 20,52 g de espuma. A Figura 4.2 apresenta o RAHLF montado, previamente à sua inoculação.

Figura 4.2 - Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) previamente à inoculação.

O RAHLF apresentou volume total de 1805 mL. Após o seu preenchimento com o material suporte, o volume útil foi medido por drenagens do leito preenchido com água e totalizou 1115 mL, resultando em uma porosidade de leito de 62%.

Foi previsto um volume interior ao reator destinado à separação gás-líquido e ao escoamento dos gases formados para o exterior do sistema. Dessa forma, o reator não trabalharia com sua seção completamente preenchida, mas apresentaria uma superfície livre. A mensuração do volume destinado à separação de gás foi realizada medindo o volume de água necessário para completar o restante do reator, depois de estabelecido o nível d'água de operação do reator. O volume de headspace obtido foi de 87 mL, resultando em um volume útil efetivo de 1028 mL.

4.3.2. Reator Anaeróbio de Mistura e Biomassa Imobilizada (RAMBI)

O reator anaeróbio de mistura e biomassa imobilizada (RAMBI) foi confeccionado em um tubo de acrílico de 15 cm de diâmetro interno e 15 cm de comprimento, resultando em uma relação L/D de 1. Ao reator foi acoplado um cesto interno contendo um *draft tube*,

destinado ao confinamento do material suporte e ao estabelecimento de uma zona inferior para alocar uma barra de agitação magnética, conforme apresentado no esquema da Figura 4.3.

Figura 4.3 - Esquema construtivo do RAMBI.

O cesto do RAMBI foi preenchido com 20,52 g de espuma de poliuretano cortada em cubos de 0,5 cm de aresta. O reator foi operado sobre um agitador magnético, com o intuito de promover mistura longitudinal. A alimentação do reator foi efetuada pelo topo, enquanto a saída foi realizada pela zona inferior de agitação.

O controle do nível do reator foi obtido variando-se o comprimento da tubulação de saída, de forma a se obter um volume útil efetivo próximo ao observado para o RAHLF. Por meio de drenagens do leito reacional preenchido obteve-se um volume útil efetivo de 1112,5 mL, descontado o volume da câmara de agitação. A Figura 4.4 apresenta uma imagem do RAMBI previamente à sua inoculação.

Figura 4.4 - Reator anaeróbio de mistura e biomassa imobilizada (RAMBI) previamente à inoculação.

4.3.3. Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (UASB)

O reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) foi confeccionado em um tubo acrílico flangeado de 6 cm de diâmetro interno. O reator dispunha de base cônica, de forma a facilitar a distribuição do afluente. No topo do reator foi alocado o separador trifásico, contando com um aumento no diâmetro interno para 8 cm, com o intuito de reduzir a velocidade ascensional e facilitar a separação sólido-líquido-gás. O reator UASB apresentou volume total de 1513 mL, e o volume útil efetivo obtido após a adição do lodo anaeróbio granular foi de 1170 mL. O reator possuía cinco amostradores intermediários, dispostos segundo as dimensões apresentadas na Figura 4.5.

Figura 4.5 - Esquema construtivo do reator UASB.

A Figura 4.6 apresenta os reatores anaeróbios em escala de bancada alocados na câmara de controle de temperatura.

Figura 4.6 - Reatores anaeróbios acondicionados em câmara de controle de temperatura.

4.3.4. Ensaios hidrodinâmicos

Ensaios hidrodinâmicos foram realizados para a determinação do padrão de escoamento dos reatores anaeróbios contínuos antes do início de sua operação. Os reatores RAHLF e RAMBI encontravam-se preenchidos com o material suporte não inoculado, ao passo que o reator UASB foi ensaiado com a adição da biomassa granular. Foram realizados experimentos do tipo degrau (Levenspiel, 2000) com o tempo de detenção hidráulica nominal de 24 horas.

Os reatores foram alimentados com água de abastecimento até o ajuste da vazão segundo o TDH almejado. O ensaio teve início com a substituição da alimentação por uma solução de cloreto de sódio a 10 g.L^{-1} em água de abastecimento, que foi mantida por um tempo equivalente a três vezes o TDH nominal (72 horas).

A concentração de cloreto de sódio na corrente efluente aos reatores foi medida em intervalos regulares de 3 minutos por meio de uma sonda de condutividade Vernier CON-BTA, acoplada a uma interface USB Go!Link (Vernier Software & Technology) conectada a um computador. Toda a aquisição de dados foi realizada pelo software Logger Lite 1.6.1 (Vernier Software & Technology).

Os dados coletados permitiram a obtenção das curvas de distribuição do tempo de residência dos reatores, a determinação do tempo de detenção hidráulica médio real e o ajuste ao modelo uniparamétrico de escoamento de N reatores de mistura completa em série.

Todo o tratamento dos dados foi realizado em planilhas de dados do Microsoft Excel 2010, segundo Levenspiel (2000). O perfil temporal de concentração de cloreto de sódio (curva C) foi normalizado, obtendo-se a curva F, de acordo com a Equação 4.1.

$$F(t) = \frac{C(t)}{C^*} \quad \text{Equação 4.1}$$

Em que $C(t)$ é a concentração de traçador no tempo, e C^* é a concentração máxima de traçador alcançada durante o ensaio, referente à concentração de cloreto de sódio na alimentação.

O tempo de detenção hidráulica médio foi obtido por meio da integral discretizada apresentada na Equação 4.2.

$$\bar{\theta}_h = \frac{\int_0^\infty t \cdot C(t) \cdot dt}{\int_0^\infty C(t) \cdot dt} \cong \frac{\sum_0^n t \cdot C(t) \cdot \Delta t}{\sum_0^n C(t) \cdot \Delta t} \quad \text{Equação 4.2}$$

Em que $\bar{\theta}_h$ é o tempo de detenção hidráulica real médio, n é o número de observações realizadas durante o ensaio hidrodinâmico.

O número de reatores de mistura completa em série equivalente ao escoamento observado (N) foi calculado segundo a Equação 4.3.

$$N = \frac{\bar{\theta}_h^2}{\sigma^2} \cong \bar{\theta}_h^2 \cdot \frac{\sum_0^n C(t) \cdot \Delta t}{\sum_0^n (t - \bar{\theta}_h)^2 \cdot C(t) \cdot \Delta t} \quad \text{Equação 4.3}$$

Em que σ^2 é a variância da curva de distribuição do tempo de residência.

4.3.5. Inóculo

A biomassa utilizada como inóculo para os reatores biológicos contínuos foi mesma empregada nos ensaios em batelada realizados na Fase 1.

A imobilização do lodo nas matrizes de poliuretano foi efetuada baseando-se na metodologia descrita por Zaiat et al. (1994). As espumas de poliuretano foram imersas no lodo granular mecanicamente rompido em liquidificador, e mantidas à temperatura ambiente durante 24 horas. Após esse período, as matrizes cúbicas foram transferidas para os reatores RAHLF e RAMBI.

4.3.6. Operação e monitoramento

Os três reatores anaeróbios contínuos foram operados em paralelo ao longo de etapas experimentais que compreenderam a variação da DQO total afluenta e a aplicação de diferentes tempos de detenção hidráulica. A variação da DQO afluenta foi examinada com o intuito de avaliar a ocorrência de cometabolismo na degradação anaeróbia da SMZ. A DQO afluenta foi alterada em cada etapa por meio da variação da concentração dos constituintes orgânicos da água residuária sintética, sem mudança da proporção relativa entre os constituintes. A aplicação de diferentes TDH, por sua vez, teve como objetivo a determinação de parâmetros operacionais dos reatores que resultem em melhor eficiência de remoção da SMZ.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A Tabela 4.5 apresenta a divisão das etapas experimentais durante a Fase 2, detalhando os valores nominais de SMZ e DQO total afluentes em cada etapa. Os reatores RAMBI e UASB foram operados até a Etapa X, ao passo que o RAHLF foi operado até a Etapa XI.

Tabela 4.5 - Condições operacionais aplicadas aos reatores anaeróbios contínuos durante a Fase 2.

Etapa	Duração (dias)	Água Residuária	TDH (h)	DQO _{total} (mg O ₂ .L ⁻¹)	SMZ (µg.L ⁻¹)
0	Variável	Sintética	24	Variável	.-
I	35	Sintética	24	3000	.-
II	42	Sintética	24	3000	10
III	66	Sintética	24	2000	10
IV	29	Sintética	24	1000	10
V	35	Sintética	24	2500	10
VI	38	Sintética	24	3000	10
VII	25	Sintética	24	6000	10
VIII	19	Sintética	24	3000	10
IX	26	Sintética	16	3000	10
X	18	Sintética	8	3000	10
XI	95	Sintética	24	3000	10

As Etapas II, VI, VIII e XI apresentaram as mesmas condições experimentais, referentes à alimentação dos reatores com a água residuária sintética sem alteração de concentração e TDH de 24 h. Essas etapas permitiram um retorno à linha de base operacional dos reatores antes de um aumento significativo de concentração de matéria orgânica afluente (na Etapa VII), antes da redução do TDH (na Etapa IX) e antes da alimentação com água residuária de suinocultura real (na Etapa XII).

Os três reatores anaeróbios foram alimentados individualmente durante a etapa de adaptação (Etapa 0) de forma a possibilitar um aumento de carga gradual de acordo com a resposta de cada reator. A partir da Etapa I, os reatores compartilharam o mesmo reservatório de alimentação. A água residuária sintética foi preparada três vezes por semana e foi mantida em geladeira a 4°C. O reservatório de alimentação foi mantido em agitação por meio de uma bomba submersa para garantir a sua homogeneidade.

A temperatura de operação de 30°C foi mantida em todas as etapas experimentais por meio de acomodação dos reatores em câmara de controle de temperatura. A vazão dos reatores foi aferida três vezes por semana e ajustada, quando necessário, para manter o TDH desejado para cada etapa experimental.

As amostragens de monitoramento de afluente e efluente dos reatores foram efetuadas com a mesma frequência da troca de alimentação, de modo a garantir a quantificação adequada das entradas e saídas dos reatores. As amostras de monitoramento foram analisadas para pH, alcalinidade, DQO total e filtrada, ácidos graxos voláteis e concentração de sulfametazina.

Os reatores foram monitorados em cada etapa experimental até a verificação de um regime permanente, denotado por um patamar de estabilidade das amostras efluentes aos reatores. Uma vez alcançado o estado estacionário, foram obtidos os perfis espaciais para o reator RAHLF, antes do prosseguimento para a etapa subsequente. Os perfis espaciais foram obtidos sem réplicas para as Etapas I a IX, e em duplicata para as Etapas X a XIII, realizados com um intervalo mínimo de seis tempos de detenção hidráulica entre as replicatas. Avaliou-se a precisão entre as replicatas de perfil espacial no RAHLF e foram observados coeficientes de variação médios de 9,7% para as amostras de DQO filtrada e 6,0% para as amostras de SMZ, demonstrando a elevada repetitividade do ensaio.

4.3.7. Análise cinética

Os perfis espaciais obtidos para o RAHLF para os parâmetros DQO filtrada, SMZ e concentração de biomassa foram ajustados a um modelo cinético de primeira ordem com residual, considerando o reator com escoamento pistonado, descrito na Equação 4.4.

$$C(\theta_h) = C_{res} + (C_0 - C_{res}) \cdot e^{-k \cdot \theta_h} \quad \text{Equação 4.4}$$

Em que $C(\theta_h)$ é a concentração do parâmetro avaliado na posição do reator referente ao tempo de detenção hidráulica θ_h ; C_0 é a concentração afluente do parâmetro avaliado; C_{res} é a concentração residual do parâmetro avaliado e k é a constante cinética de primeira ordem.

A presença de um residual de DQO é frequentemente observada em efluentes de reatores anaeróbios, usualmente atribuído à presença de intermediários da digestão anaeróbia não convertidos, compostos recalcitrantes, arraste de biomassa, ou à excreção de polímeros

microbianos extracelulares. Dessa maneira, os modelos cinéticos com residual foram desenvolvidos com o intuito de incorporar essas observações na descrição matemática da cinética, resultando em melhores ajustes aos dados experimentais (PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ, 1991).

O modelo de primeira ordem é usualmente utilizado na modelação de processos biológicos de tratamento de águas residuárias quando se observa reduzida concentração de substrato nesses efluentes, representando, assim, um caso particular do modelo cinético de Monod. Adicionalmente, o modelo de primeira ordem também representa adequadamente os processos limitados por transferência de massa na fase líquida, como esperado para reatores de leito fixo em escala de bancada (ZAIAT et al., 2000).

4.3.8. *Quantificação de sulfametazina adsorvida no leito do RAHLF*

A concentração de SMZ adsorvida no leito reacional do RAHLF foi quantificada ao final da operação do reator, após o término da Etapa XIII. Foram coletados dois cubos de espuma colonizada de cada ponto de amostragem do reator. As espumas foram misturadas para formar uma amostra composta do leito reacional.

Retirou-se da amostra composta duas alíquotas de 1 g (massa fresca) das espumas colonizadas, que foram submetidas ao procedimento de extração. A biomassa foi removida do material suporte por maceração por meio de um almofariz e pistilo. A espuma limpa foi seca em estufa a 60°C por 24 h e então pesada para a quantificação da massa de material suporte. A biomassa removida foi submetida a um procedimento de extração sequencial por solventes.

Adicionou-se 8 mL de acetonitrila à biomassa removida, que foi mantida sob agitação em *shaker* por 24 h. Após esse período a amostra foi centrifugada e o sobrenadante foi separado. O material centrifugado foi resuspendido em 8 mL de metanol e mantido sob agitação por 24 h. Centrifugou-se novamente a amostra e coletou-se o sobrenadante. A acetonitrila e o metanol foram misturados e evaporados sob fluxo de N₂. O precipitado formado foi resuspendido em 1 mL de uma solução de acetonitrila e água (60:40) e então quantificado por extração em fase sólida *on-line* (SPE-HPLC-ESI-MS/MS).

4.4. Fase 3

A Fase 3 envolveu a operação do reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) alimentado com água residuária de suinocultura real pré-sedimentada em duas etapas operacionais.

4.4.1. Condições experimentais

Avaliou-se a operação do RAHLF alimentado com água residuária de suinocultura pré-sedimentada em duas etapas experimentais durante a Fase 3, as Etapas XII e XIII. Durante a Etapa XII, o RAHLF foi inicialmente alimentado com água residuária diluída com água de abastecimento na razão 1:1. Uma vez verificada a estabilidade do reator, interrompeu-se a diluição do afluente. Na Etapa XIII avaliou-se o efeito da adição de sacarose exógena ao afluente na remoção de SMZ. A sacarose foi adicionada em uma concentração correspondente a um acréscimo nominal de DQO total de 1000 mg O₂.L⁻¹. A Tabela 4.6 apresenta as condições operacionais empregadas na Fase 3, detalhando os valores nominais de SMZ e DQO total afluentes.

Tabela 4.6 - Condições operacionais aplicadas ao RAHLF durante a Fase 3.

Etapa	Duração (dias)	Água Residuária	TDH (h)	DQO _{total} (mg O ₂ .L ⁻¹)	SMZ (µg.L ⁻¹)
XII	29	Suinocultura	24	4000	10
XIII	22	Suinocultura	24	5000	10

4.4.2. Água residuária de suinocultura

A água residuária de suinocultura real foi coletada em uma granja de produção de suínos em regime de confinamento localizada em São Carlos, SP. A água residuária foi coletada por bombeamento da entrada da lagoa que recebe os rejeitos líquidos da granja. As coletas foram realizadas em duas ocasiões, antes das Etapas XII e XIII. A água residuária foi armazenada em galões de 5 L que foram congelados logo após a coleta. Com o intuito de reduzir a variabilidade do afluente dentro de uma mesma etapa operacional, a alimentação do RAHLF na Etapa XII foi efetuada com somente com a água residuária da primeira coleta, ao passo que a Etapa XIII foi conduzida com o efluente da segunda coleta.

A água residuária de suinocultura foi submetida à sedimentação em cone Imhoff por uma hora com o objetivo de eliminar os sólidos suspensos presentes no efluente que poderiam ocasionar a colmatção do leito do reator. A Tabela 4.7 apresenta a caracterização média da água residuária de suinocultura nas duas coletas realizadas.

Tabela 4.7 - Caracterização da água residuária de suinocultura.

Parâmetro	Concentração
pH	7,54 ± 0,06
Alcalinidade a bicarbonato (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	1980 ± 273
Alcalinidade intermediária (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	903 ± 61
DQO bruta (mg O ₂ .L ⁻¹)	10533 ± 144
DQO sedimentada (mg O ₂ .L ⁻¹)	3836 ± 296
DQO filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹)	2635 ± 261
Sólidos sedimentáveis (mL.mL ⁻¹)	0,045 ± 0,031
Sólidos suspensos totais (g.L ⁻¹)	5,59 ± 0,22
Sólidos suspensos fixos (g.L ⁻¹)	0,97 ± 0,47
Sólidos suspensos voláteis (g.L ⁻¹)	4,61 ± 0,29
Ácido acético (mg.L ⁻¹)	332,0 ± 96,3
Ácido propiônico (mg.L ⁻¹)	199,8 ± 45,6
Ácido butírico (mg.L ⁻¹)	22,9 ± 5,7
Ácido isobutírico (mg.L ⁻¹)	51,2 ± 14,1
Ácido isovalérico (mg.L ⁻¹)	30,6 ± 7,9
Ácido capróico (mg.L ⁻¹)	10,6 ± 2,0

4.5. Métodos analíticos

4.5.1. Análises físico-químicas de monitoramento

As análises físico-químicas de monitoramento dos reatores anaeróbios foram conduzidas segundo o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2005) para as análises de demanda química de oxigênio (DQO), pH; sólidos totais e suspensos, voláteis e fixos.

As análises de DQO total foram realizadas para amostras brutas, as amostras de DQO filtrada foram filtradas em membrana de fibra de vidro com diâmetro de poro de 1,2 µm, e as amostras de DQO solúvel foram filtradas em membrana de polietileno tereftalato com diâmetro de poro de 0,2 µm.

As análises de alcalinidade parcial e intermediária foram realizadas pelo método desenvolvido por Ripley et al. (1986).

4.5.2. *Quantificação de ácidos graxos voláteis por cromatografia líquida*

A quantificação dos ácidos graxos voláteis (cítrico, málico, succínico, láctico, fórmico acético, propiônico isobutírico, butírico, isovalérico, valérico e capríco) nas amostras aquosas obtidas durante as Fases 1 e 2 foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência e detecção em ultravioleta (HPLC-UV), segundo o método descrito anteriormente por Penteado et al. (2013).

Foi empregado um sistema Shimadzu composto por uma bomba LC-10ADVP, um injetor automático SIL-20A HT, um forno CTO-20A e um detector UV-DAD SDP-M10 AVP. A separação cromatográfica foi obtida por meio de uma coluna Aminex HPX-87H (300 mm x 7,8 mm) mantida a 43°C. A fase móvel utilizada foi uma solução de ácido sulfúrico 0,005 mol.L⁻¹, a uma vazão de 0,5 mL.min⁻¹. Foi utilizado um volume de injeção de 100 µL.

Amostras aquosas de 1,0 mL filtradas em membrana de polietileno tereftalato de 0,2 µm de diâmetro de poro foram adicionadas de 40 µL de uma solução de ácido sulfúrico 2 mol.L⁻¹ previamente à injeção.

As curvas de calibração foram preparadas na faixa de concentração de 5 mg.L⁻¹ a 600 mg.L⁻¹ em nove níveis de concentração. O limite de quantificação (LQ) do método foi avaliado a partir dos coeficientes de regressão da curva de calibração e, como o valor encontrado foi muito baixo, tomou-se o ponto inferior da curva, 5 mg.L⁻¹, como LQ, uma vez que a curva analítica deve conter a concentração correspondente ao limite de quantificação (RIBANI et al., 2004).

4.5.3. *Quantificação de ácidos graxos voláteis por cromatografia gasosa*

A quantificação de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico e capríco) nas amostras aquosas obtidas durante a Fase 3 foi realizada segundo o método de cromatografia gasosa com análise de *headspace* desenvolvido e validado por Adorno et al. (2014).

Utilizou-se um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010 com um detector de ionização em chama (FID), acoplado a um amostrador automático de *headspace* (COMBI-PAL)

equipado com uma seringa *gas-tight* Hamilton de 2,5 mL. O amostrador foi programado para um tempo de aquecimento da amostra (100°C) de 13 minutos, volume de injeção de 400 µL e 3 min de lavagem da seringa com N₂ após cada injeção.

A separação cromatográfica foi obtida em uma coluna capilar *Agilent Technologies* HP-INNOWAX (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm) em uma corrida cromatográfica com duração de 14,5 minutos, segundo a seguinte rampa de temperatura do forno: 35°C (0 min), 2°C.min⁻¹, 38°C (0 min), 10°C.min⁻¹, 75°C (0 min), 35°C.min⁻¹, 120°C (1 min), 10°C.min⁻¹, 170°C (2 min). A temperatura do injetor e do detector foram mantidas a 250°C e 280°C, respectivamente.

Hidrogênio ultrapuro foi utilizado como gás de arraste, segundo uma vazão de 1,5 mL.min⁻¹. Para o detector, foi empregado gás hidrogênio a 30 mL.min⁻¹ e ar sintético a 300 mL.min⁻¹. Nitrogênio gasoso foi utilizado como gás de make-up (30 mL.min⁻¹).

Amostras de 2 mL foram pipetadas em um vial de análise headspace de 10 mL. Adicionou-se ao vial 1 g de NaCl previamente seco em estufa a 100°C, juntamente com 70 µL de solução de isobutanol (1 g.L⁻¹) e 100 µL de solução de ácido crotônico (700 mg.L⁻¹), utilizados como padrões internos, e 200 µL de solução de ácido sulfúrico (2 mol.L⁻¹).

O método analítico foi validado (ADORNO et al., 2014) e apresentou linearidade na faixa de concentração de 1 mg.L⁻¹ a 800 mg.L⁻¹. Os coeficientes de variação de amostras em injetadas em replicata permaneceram inferiores a 1% em toda a faixa linear. Os limites de quantificação foram determinados a partir dos coeficientes da curva de calibração e variaram de 5,8 a 28,6 mg.L⁻¹, dependendo do analito avaliado.

4.5.4. Quantificação de sulfametazina por extração líquido-líquido (LLE-HPLC-ESI-MS/MS)

A concentração de SMZ aquosa nas amostras obtidas durante a Fase 1 foi quantificada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) seguida por espectrometria de massas sequencial (MS/MS), acoplados por meio de uma interface electrospray (ESI).

Um procedimento miniaturizado de extração líquido-líquido com “*salting-out*” foi adotado como forma de preparo de amostra previamente à sua análise por HPLC-MS/MS, objetivando o *clean-up* e pré-concentração da amostra. O procedimento empregado foi

adaptado do método previamente desenvolvido por Liu et al. (2010a), aplicado com sucesso na detecção e quantificação de sulfonamidas em amostras ambientais.

Após a coleta, as amostras aquosas foram filtradas em membrana de polietileno tereftalato com diâmetro de poro de 0,2 μm e tiveram o pH ajustado até 6,5, por meio da adição de ácido sulfúrico 0,005 mol.L⁻¹. Uma solução do padrão interno (sulfametazina-fenil-¹³C₆) foi adicionada à amostra para a obtenção de uma concentração final de 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Um volume de 700 μL da amostra foi então adicionado a um tubo Eppendorf (1,5 mL) contendo 210 mg de cloreto de sódio previamente seco em estufa. A solução foi submetida a agitação em vortex até a completa dissolução do sal.

Em seguida, adicionou-se 210 μL de acetonitrila ao tubo Eppendorf, que foi novamente submetido a agitação por um minuto. Finalizado o tempo de agitação, toda a solução foi coletada em uma seringa de vidro para HPLC (SGE[®]) com capacidade de 1 mL, e então mantida em repouso por 5 minutos para a separação de fases. Ao fim desse período, o pistão da seringa foi cuidadosamente empurrado, movendo a fase sobrenadante para a região de constrição da seringa, possibilitando a coleta de 20 μL do sobrenadante por meio de um pipetador automático. O volume coletado foi transferido para um vial com insert de 250 μL (Agilent Technologies) e posteriormente diluído pela adição de 20 μL de água ultrapurificada (MilliQ) acidificada (0,1% (v/v) de ácido fórmico) para posterior análise.

A seringa foi cuidadosamente lavada entre extrações por meio de cinco sucessivos preenchimentos e descarte com água ultrapurificada, seguido por um preenchimento e descarte de acetonitrila.

Um cromatógrafo HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity foi utilizado com uma coluna analítica Agilent Technologies Poroshell 120 EC-C18 (50 mm x 3,0 mm; 2,7 μm). Acetonitrila e água ultrapura acidificados com 0,1% (v/v) de ácido fórmico foram utilizadas como solvente orgânico (B) e aquoso (A) de eluição, respectivamente. A vazão de eluição foi mantida em 0,6 mL.min⁻¹, a temperatura do forno foi mantida em 30 $\pm$ 1°C e o volume de injeção empregado foi de 5 μL . A eluição foi efetuada em gradiente (Inicial 10% B; 0,5 min 10% B; 2,7 min 65% B; 4,0 min 65% B; 4,2 min 10% B; 5,0 min 10% B). Um tempo de reequilíbrio de 4 minutos foi mantido entre as corridas cromatográficas.

A análise por espectrometria de massas foi efetuada em um espectrômetro ABSciex QTRAP[®] 5500 equipado com uma fonte de íons TurboVTM, operada no modo *electrospray*

positivo (ESI+). Os parâmetros de operação da fonte de íons foram otimizados por meio de *flow injection analysis* (FIA) e são apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Parâmetros de operação da fonte de íons para o método LLE-HPLC-ESI-MS/MS.

Parâmetro	Valor
Cortina de gás (CUR)	20 psi
Gás de colisão (CAD)	Médio
Temperatura (TEM)	650°C
Voltagem do spray (IS)	5500 V
Gás de aquecimento (GS1)	50 psi
Gás de nebulização (GS2)	50 psi

O espectrômetro de massas foi operado no modo SRM (*selected reaction monitoring*) com resolução unitária em ambos os analisadores de massa. Foram analisadas três transições para a sulfametazina e uma transição para o seu padrão interno, a sulfametazina-fenil- $^{13}\text{C}_6$ (SMZ- ^{13}C). Apenas a primeira transição do analito e do padrão interno foram utilizadas para a quantificação. As demais transições desempenharam papel confirmatório. Manteve-se um dwell time de 75 ms para cada transição.

Os parâmetros de operação do espectrômetro de massas foram otimizados individualmente para cada transição por meio de infusão direta de padrões analíticos e são apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 - Parâmetros de operação do espectrômetro de massas para o método LLE-HPLC-ESI-MS/MS.

Transição	Íon Precursor (m/z)	Íon produto (m/z)	DP (V)	EP (V)	CE (eV)	CXP (V)
SMZ1	279	186	56	10	25	10
SMZ2	279	92	56	10	41	16
SMZ3	279	108	56	10	37	16
SMZ- ^{13}C	285	98	96	10	39	14

DP: potencial de desagregação; EP: potencial de entrada; CE: energia de colisão; CXP: potencial de saída.

O método analítico foi validado por meio da avaliação das seguintes figuras de mérito: faixa linear, exatidão, precisão intra-dia, precisão inter-dias, recuperação absoluta, limite de

detecção (LD) e limite de quantificação (LQ). O procedimento de validação foi conduzido para amostras de água residuária sintética complexa fortificadas com o antimicrobiano sulfametazina e o respectivo padrão interno (SMZ- ^{13}C).

A faixa linear de trabalho foi avaliada por meio de uma curva analítica em cinco níveis de concentração (0,05, 0,5, 1, 5 e 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$), elaborada com extrações em quintuplicata para o ponto médio (1 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e triplicata para os demais pontos. A regressão linear com a ponderação $1/x^2$ forneceu o melhor ajuste aos pontos experimentais, resultando em um coeficiente de determinação de 0,9997. A qualidade do ajuste foi avaliada por meio de uma análise de variância (ANOVA) para testar a significância da regressão. Ao nível de significância de 5% não foi verificada falta de ajuste significativa para o modelo.

A exatidão do método foi avaliada como o desvio relativo (*bias*) entre a concentração nominal das amostras fortificadas e a concentração experimental, para cada nível ensaiado na curva analítica. Valores mínimos de 98% de exatidão foram verificados em toda a faixa de concentração avaliada, demonstrando a exatidão do método.

A precisão intra-dia do método analítico foi avaliada por meio do desvio padrão relativo (RSD) do fator de resposta (razão entre a área do pico do analito de interesse e a área do pico do padrão interno) de cinco extrações realizadas em um mesmo dia, em uma amostra para o nível de concentração de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$, e três extrações realizadas em um mesmo dia para os demais níveis de concentração. A precisão inter-dias foi avaliada pelo RSD do fator de resposta de catorze extrações realizadas em três dias consecutivos, em amostras para o nível de concentração de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Observou-se desvios padrão relativos máximos de 5,27% para a precisão intra-dia e 2,73% para a precisão inter-dias.

A recuperação absoluta do método foi avaliada comparando-se o sinal analítico gerado por cada amostra extraída da curva analítica com o sinal gerado por uma amostra padrão de sulfametazina preparada em solvente (não extraída) em concentração tal que proporcione, na entrada do analisador de massas, a mesma massa de analito contida na amostra previamente à extração. Obteve-se uma média de 15,7% de recuperação absoluta do método nos diferentes níveis de concentração avaliados. O reduzido valor obtido era esperado em função do método de extração empregado, que é não exaustivo, baseado no particionamento do analito entre as fases orgânica e aquosa. Embora valores elevados de recuperação sejam desejados como forma de maximizar a sensibilidade do método, não é necessário que se atinja 100% e sim que a recuperação seja consistente, precisa e reprodutiva.

O limite de quantificação (LQ) do método foi adotado como o ponto inferior da curva analítica ($0,05 \mu\text{g.L}^{-1}$), desde que esse nível de concentração possibilitasse a quantificação com exatidão e precisão ($\text{RSD} < 20\%$), apresentando relação sinal ruído (S/N) superior a 10. O limite de detecção (LD) do método foi adotado como um terço do LQ, desde que uma relação S/N superior a 3 fosse respeitada.

4.5.5. Quantificação de sulfametazina por extração em fase sólida online (SPE-HPLC-ESI-MS/MS)

A quantificação de SMZ nas amostras aquosas obtidas durante as Fases 2 e 3 foi realizada de acordo com o método desenvolvido e validado por Gomes et al. (2015). Trata-se de um método cromatográfico multidimensional, de *column switching*, com o objetivo de promover a preparação de amostras por extração em fase sólida em modo *online*. A coluna analítica Agilent Technologies Poroshell 120 EC-C18 (50 mm x 3,0 mm; $2,7 \mu\text{m}$) foi conectada a uma coluna extratora Waters contendo a fase Oasis HLB (20 mm x 2,1 mm, $25 \mu\text{m}$) por meio de uma válvula seletora de colunas, conforme o arranjo apresentado na Figura 4.7.

Figura 4.7 - Arranjo de *column switching* em modo *backflush*. Adaptado de Santos-Neto et al. (2008).

Um cromatógrafo HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity, dotado de uma bomba Agilent 1260 Infinity Binary Pump (Bomba B) e uma bomba Shimadzu LC-10AD (Bomba A) foram utilizados na montagem do sistema multidimensional.

A eluição dos analitos retidos na fase extratora foi efetuada em *backflush*, com inversão do sentido do fluxo na coluna extratora. Com a válvula seletora na posição A, a Bomba A bombeia água ultrapurificada pelo injetor automático do HPLC, ao passo que a fase móvel é bombeada pela Bomba B para a coluna analítica, e em seguida para o espectrômetro de massas. Com o giro da válvula (Posição B), a fase móvel é direcionada para a coluna extratora em fluxo reverso, eluindo os analitos em direção à coluna analítica.

Acetonitrila e água ultrapura acidificados com 0,1% (v/v) de ácido fórmico foram utilizados como solvente orgânico (B) e aquoso (A) de eluição, respectivamente. A vazão de eluição foi mantida em $0,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, a temperatura do forno foi mantida em $20 \pm 1^\circ\text{C}$ e o volume de injeção empregado foi de $100 \mu\text{L}$. A eluição foi efetuada em gradiente (Inicial 5% B; 3,1 min 5% B; 3,5 min 65% B; 9 min 65% B; 10 min 90% B; 13 min 95% B; 13,3 min 5% B; 14,3 min 5% B). Um tempo de reequilíbrio de 1 minuto foi mantido entre as corridas cromatográficas. Água ultrapurificada foi empregada como fase móvel na Bomba A, com uma vazão de $1,0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

A válvula seletora de colunas foi programada para alterar a posição de A para B aos 3,0 min da corrida cromatográfica, retornando à posição A após 11,4 min. A válvula de desvio do espectrômetro de massas foi utilizada para levar fase móvel à fonte de íons apenas após 3,0 min da injeção, e mantida assim por 10 min, reduzindo o aporte de compostos não desejados ao detector.

O espectrômetro de massas híbrido ABSciex QTRAP[®] 5500 foi equipado com uma fonte de íons TurboVTM, operada no modo *electrospray* positivo (ESI+). Os parâmetros de operação da fonte foram os mesmos apresentados na otimizados por meio de *flow injection analysis* (FIA) e são apresentados na Tabela 4.8.

O espectrômetro de massas foi operado no modo SRM com resolução unitária em ambos os analisadores de massa. Foram analisadas três transições para a sulfametazina e três transições para o seu padrão interno, a sulfametazina-fenil-¹³C₆ (SMZ-¹³C). Apenas a primeira transição do analito e do padrão interno foram utilizadas para a quantificação. As demais transições desempenharam papel confirmatório. Manteve-se um dwell time de 20 ms para cada transição.

Os parâmetros de operação do espectrômetro de massas são apresentados na Tabela 4.10.

Tabela 4.10 - Parâmetros de operação do espectrômetro de massas para o método SPE-HPLC-ESI-MS/MS.

Transição	Íon Precursor (<i>m/z</i>)	Íon produto (<i>m/z</i>)	DP (V)	EP (V)	CE (eV)	CXP (V)
SMZ1	279	186	56	10	25	10
SMZ2	279	92	56	10	41	16
SMZ3	279	108	56	10	37	16
SMZ- ¹³ C1	285	98	96	10	39	14
SMZ-13C2	285	114	96	10	39	9
SMZ-13C3	285	186	96	10	39	9

DP: potencial de desagregação; EP: potencial de entrada; CE: energia de colisão; CXP: potencial de saída.

As amostras foram acidificadas até pH 3,0 e filtradas em membrana de polietileno tereftalato de diâmetro de poro de 0,2 µm. O padrão interno (sulfametazina-fenil-¹³C₆) foi adicionado às amostras em uma concentração final de 5 µg.L⁻¹.

As curvas de calibração para o afluentes foram preparadas em água residuária sintética, ao passo que as curvas para os efluentes dos reatores foram preparadas em efluente do RAHLF isento de SMZ. Utilizou-se a faixa de concentração de 0,1 µg.L⁻¹ a 15 µg.L⁻¹ em sete níveis de concentração. A validação realizada por Gomes et al. (2015) demonstrou que esse método apresenta limite de quantificação para a SMZ da ordem de ng.L⁻¹, diversas ordens de grandeza inferior à menor concentração observada no presente estudo.

4.5.6. Identificação de produtos de biodegradação anaeróbia da sulfametazina

A identificação de produtos de biodegradação anaeróbia de SMZ foi realizada em colaboração com a doutora Tanare Cambraia Ribeiro Ferreira do Instituto de Química de São Carlos, em um trabalho orientado pelo Prof. Dr. Álvaro José dos Santos-Neto. Uma descrição minuciosa do procedimento experimental aplicado pode ser encontrada em sua tese (FERREIRA, 2014).

Uma vez que os produtos da biodegradação anaeróbia da SMZ são formados em uma matriz de elevada complexidade e em reduzidas concentrações, foi desenvolvida uma estratégia refinada para sua identificação, que demandou o emprego de técnicas de preparo de amostra com elevado fator de pré-concentração, separação cromatográfica de alta

eficiência e detecção por espectrometria de massas em diferentes analisadores, de alta resolução e também de alta sensibilidade e resolução unitária.

Inicialmente, identificou-se os produtos de degradação anaeróbia da SMZ formados em um ensaio em batelada realizado com elevada concentração inicial do fármaco. O emprego de um espectrômetro de massas de alta resolução permitiu a identificação e a confirmação das estruturas moleculares dos compostos formados. A caracterização dos espectros de MS^2 permitiu a elaboração de um método analítico para ser utilizado em um espectrômetro de massas de elevada sensibilidade para detectar os produtos de degradação em concentrações ambientalmente relevantes.

Ensaio em batelada com e sem a adição de sulfametazina foram conduzidos segundo as condições experimentais descritas na Seção 4.2.1. Utilizou-se uma concentração inicial de 5 mg.L^{-1} de sulfametazina nos ensaios com adição do fármaco. O emprego de uma concentração elevada do antimicrobiano foi adotado para aumentar a probabilidade de identificação dos produtos de degradação, que podem ser formados em reduzidas concentrações.

Os reatores foram alimentados com a água residuária sintética apresentando DQO solúvel de $1500 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$. Após 48 h de reação, sacarose em estado sólido foi adicionada aos reatores em concentração correspondente a um incremento de DQO de $1000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, para manter a atividade microbiana e aumentar a conversão de SMZ, visto que após esse tempo reacional a maioria dos constituintes orgânicos presentes inicialmente já haviam sido degradados. Os ensaios tiveram duração total de 72 h.

As amostras de 100 mL do meio reacional, obtidas ao final do ensaio, foram filtradas a vácuo em membrana de fibra de vidro de $1,2 \text{ }\mu\text{m}$ de poro e então submetidas a pré-concentração por extração em fase sólida (SPE) com a fase extratora Oasis HLB (Waters). Um procedimento de extração sequencial por solventes (acetonitrila e metanol) foi conduzido no lodo granular para avaliar a presença de produtos de degradação adsorvidos na fase sólida.

A identificação dos produtos de degradação foi realizada em um sistema LC-ESI-QqToF, composto por um HPLC Shimadzu 20A Prominence e um espectrômetro de massas Bruker Daltonics micrOTOF-Q II, operado no modo *full MS*. Comparou-se os resultados obtidos nos ensaios com e sem a adição de SMZ, com o objetivo de descartar os compostos característicos da matriz, oriundos da degradação dos constituintes do meio sintético. Assim,

os ensaios controle (sem adição de SMZ) serviram para fornecer uma linha de base dos espectros de massa da matriz aquosa.

Utilizou-se o software MZmine para a deconvolução dos picos cromatográficos e para o alinhamento dos picos presentes na amostra contaminada com SMZ e na amostra controle. Identificou-se então os picos presentes apenas na amostra contaminada, cujas estruturas correspondentes foram identificadas com base nos espectros de MS e MS² de alta resolução, com o auxílio dos softwares Data Analysis (*Bruker*) e Mass Frontier 7.0 (*Thermo Scientific*).

Caracterizou-se os espectros de MS² dos compostos encontrados em um analisador de massas híbrido, de resolução unitária e alta sensibilidade (*ABSciex QTRAP*[®] 5500) por meio de um experimento de EPI (*enhanced product ion*). Os fragmentos apresentando a maior intensidade de sinal analítico foram então selecionados para o desenvolvimento de um método SRM (*selected reaction monitoring*) para aplicação nas amostras do perfil espacial do RAHLF, que é descrito em detalhe a seguir.

A detecção dos produtos da biodegradação anaeróbia de SMZ no RAHLF foi realizada por meio de um perfil espacial realizado durante a Etapa VI da Fase 2. As amostras aquosas retiradas dos pontos de amostragem intermediários do reator foram submetidas ao mesmo procedimento de preparação de amostra por SPE *off-line* realizado para os experimentos em batelada com alta concentração de SMZ.

A separação cromatográfica foi obtida em um HPLC *Agilent Technologies 1260 Infinity*, equipado com uma coluna *Agilent Technologies Poroshell 120 EC-C18* (50 mm x 3,0 mm; 2,7 µm). Acetonitrila e água ultrapura acidificados com 0,1% (v/v) de ácido fórmico foram utilizadas como solvente orgânico (B) e aquoso (A) de eluição, respectivamente. A eluição foi realizada segundo a seguinte programação: Inicial 5% B, 3 min 5% B, 12 min 60% B, 14 min 95% B, 15 min 95% B, 17 min 5% B, 20 min 5% B. A vazão de eluição utilizada foi de 0,25 mL.min⁻¹ e a temperatura do forno de 40 ± 1°C. Empregou-se um volume de injeção de 25 µL. Um tempo de reequilíbrio de 10 min foi mantido entre as corridas cromatográficas.

A fonte de íons foi operada no modo *electrospray* positivo (ESI+) segundo os parâmetros apresentados anteriormente na Tabela 4.8. O espectrômetro de massas *ABSciex QTRAP*[®] 5500 foi operado no modo SRM com resolução unitária em ambos os analisadores

de massa, segundo os parâmetros apresentados na Tabela 4.11. Manteve-se um dwell time de 10 ms para todas as transições avaliadas.

Tabela 4.11 - Parâmetros de operação do espectrômetro de massas para o método de detecção de produtos de biodegradação anaeróbia da SMZ.

Transição	Íon Precursor (<i>m/z</i>)	Íon produto (<i>m/z</i>)	DP (V)	EP (V)	CE (eV)	CXP (V)
N ¹ -OH-SMZ1	295	202	56	10	25	10
N ¹ -OH-SMZ2	295	156	56	10	25	10
N ¹ -OH-SMZ3	295	229	56	10	25	10
N ⁴ -OH-SMZ1	295	124	56	10	25	10
N ⁴ -OH-SMZ2	295	186	56	10	25	10
N ⁴ -OH-SMZ3	295	172	56	10	25	10
N ⁴ -Form-SMZ1	307	186	56	10	25	10
N ⁴ -Form-SMZ2	307	124	56	10	25	10
N ⁴ -Form-SMZ3	307	184	56	10	25	10
N ⁴ -Form-SMZ4	307	241	56	10	25	10
N ⁴ -Form-SMZ5	307	136	56	10	25	10
N ⁴ -Form-SMZ6	307	204	56	10	25	10
N ⁴ -Form-SMZ7	307	148	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ1	227,5	124	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ2	227,5	176	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ3	227,5	186	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ4	227,5	96	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ5	227,5	108	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ6	227,5	142	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ7	227,5	134	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ8	227,5	163	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ9	227,5	222	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ10	227,5	279	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ11	454	279	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ12	454	124	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ13	454	176	56	10	25	10
N ¹ -G-SMZ14	454	1186	56	10	25	10

DP: potencial de desagregação; EP: potencial de entrada; CE: energia de colisão; CXP: potencial de saída; N¹-OH-SMZ: N¹-Hidroxi-Sulfametazina; N⁴-OH-SMZ: N⁴-Hidroxi-Sulfametazina; N⁴-Form-SMZ: N⁴-Formil-Sulfametazina; N¹-G-SMZ: N¹-Glucoronamida-Sulfametazina.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Fase 1: Ensaios em batelada

São apresentados nesta seção os resultados obtidos por meio dos ensaios em batelada realizados durante a Fase 1 deste trabalho.

5.1.1. Avaliação da influência de fenômenos físico-químicos, adsortivos e bioquímicos na remoção de sulfametazina

Com o objetivo de se verificar a influência de hidrólise química, volatilização e adsorção nas paredes do frasco reacional, uma batelada simples foi realizada (denominada R0), em um frasco fechado contendo apenas uma solução aquosa de sulfametazina a $200 \mu\text{g.L}^{-1}$. O sistema foi mantido sob agitação a 30°C por 12 dias. O perfil temporal de concentração do antimicrobiano é apresentado na Figura 5.1.

Figura 5.1 - Fase 1: Ensaio de estabilidade química de SMZ realizado em batelada (R0), contendo apenas solução aquosa de SMZ a $200 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Não foram observadas alterações significativas na concentração de sulfametazina ao longo do ensaio. O perfil plano de concentração indica a estabilidade do antimicrobiano, além de possibilitar a desconsideração dos fenômenos de hidrólise química, volatilização e adsorção nas paredes do frasco nos ensaios subsequentes. Como os frascos reacionais foram

mantidos no escuro durante os experimentos, a ocorrência de degradação por fotólise também foi desprezada.

Não se esperava que fosse considerável a remoção de sulfametazina por esses processos, tendo em vista a recalcitrância desse composto e também a sua presença em diversos compartimentos ambientais. De maneira geral, os antimicrobianos da classe das sulfonamidas, devido à presença de grupos polares em sua estrutura química, a massa molecular relativamente elevada (>200 Da), e as reduzidas constantes da Lei de Henry (para a SMZ, $8,776 \times 10^{-13} \text{ atm.m}^3.\text{mol}^{-1}$; WU et al., 2009), são pouco propensos a serem removidos da fase aquosa por volatilização. De fato, diversos autores observaram que as sulfonamidas não são removidas por hidrólise e volatilização quando presentes em águas residuárias (PÉREZ et al., 2005, LI e ZHANG, 2010, YU et al., 2011, YANG et al., 2012).

Os fenômenos restantes que podem atuar na remoção de sulfametazina da fase aquosa são a adsorção no lodo granular e a biodegradação. Para a quantificação da contribuição individual desses fenômenos, dois ensaios em batelada foram realizados, um com biomassa ativa (R2) e outro com biomassa inativa (R3). Os meios reacionais dos frascos foram constituídos por água residuária sintética contaminada com o antimicrobiano sulfametazina na concentração de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$.

O perfil temporal de demanda química de oxigênio (DQO) solúvel para os dois frascos é apresentado na Figura 5.2.

Figura 5.2 - Fase 1: Perfil temporal de DQO solúvel para os ensaios em batelada realizados com lodo ativo (R2) e lodo inativo (R3).

Enquanto a DQO no frasco com lodo ativo (R2) foi removida até a sua concentração residual em 24 horas, não foi verificada remoção significativa no frasco com lodo inativo (R3) após 96 horas de experimento, demonstrando a efetividade do procedimento de inativação da biomassa. A eficiência dessa técnica de inativação de biomassa para grânulos anaeróbios foi previamente demonstrada por Vela et al. (1999), em que o lodo exposto à solução de etanol por uma semana foi completamente inativado e não produziu metano ou gás carbônico nos ensaios posteriores.

Os perfis temporais de concentração de SMZ na fase aquosa para esses ensaios são apresentados na Figura 5.3.

Figura 5.3 - Fase 1: Perfil temporal de SMZ para os ensaios em batelada realizados com lodo ativo (R2) e lodo inativo (R3).

O frasco com biomassa inativada (R3) apresentou contínuo decréscimo na concentração de sulfametazina na fase aquosa durante as 96 horas do ensaio, porém com significativa redução da velocidade de remoção após 24 horas. Nas primeiras 24 horas, a concentração de SMZ foi reduzida a 70,2% da concentração inicial, chegando a 58,4% ao fim do experimento. Uma vez que R3 continha apenas biomassa inativada, toda a remoção observada foi atribuída à adsorção. Esse resultado demonstra a expressividade desse fenômeno na remoção do antimicrobiano.

Trabalhos anteriores que tentaram mensurar a adsorção de sulfonamidas em lodos biológicos concentraram-se em lodos aeróbios. Adicionalmente, os resultados encontrados são frequentemente divergentes. Li e Zhang (2010) avaliaram a adsorção e biodegradação de

sulfadiazina e sulfametoxazol em lodos ativados por meio de ensaios em batelada. Para uma concentração inicial de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ dos antimicrobianos, os autores não observaram remoção por adsorção. A concentração de sólidos suspensos empregada nesses ensaios, contudo, não foi relatada. De maneira similar, Pérez et al. (2005) avaliaram a remoção de sulfametazina, sulfametoxazol e sulfatiazol em ensaios em batelada com inóculos provenientes de diversas etapas de uma estação de tratamento de efluentes. Para concentrações iniciais de sulfonamidas de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ e concentração de sólidos suspensos totais variando entre 7,9 e $4730 \text{ mg SST.L}^{-1}$, os autores também não observaram a ocorrência de adsorção.

Por outro lado, Yang et al. (2011) avaliaram a adsorção de três sulfonamidas (sulfametoxazol, sulfamonometoxina e sulfadimetoxina) em lodos ativados e verificaram que uma concentração de sólidos suspensos totais de $2,56 \text{ g SST.L}^{-1}$ foi responsável pela remoção adsorptiva de até 19% da concentração inicial do antimicrobiano ($100 \mu\text{g.L}^{-1}$). Contudo, os autores notaram que a adsorção ocorria rapidamente, alcançando a concentração de equilíbrio em apenas 2 horas, um comportamento bastante distinto do observado no presente trabalho, mas esperado, ante os diferentes tipos de lodo biológico analisados. Sahar et al. (2011) avaliaram a adsorção de sulfametazina e sulfametoxazol em lodo aeróbio proveniente de um sistema MBR, em um ensaio de apenas 1 hora, para concentrações iniciais de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ dos antimicrobianos. Os autores encontraram remoções superiores a 90% para sulfametazina e superiores a 64% para sulfametoxazol para concentrações de sólidos suspensos de 4, 6, 8, e 10 g SST.L^{-1} , atribuindo principalmente à adsorção a remoção desses fármacos no sistema de tratamento.

O frasco com lodo ativo (R2) também apresentou contínuo decréscimo da concentração de SMZ ao longo do ensaio. A velocidade de remoção foi superior nas primeiras 24 horas, com pouca remoção sendo observada após esse período. Em 24 horas de ensaio, a concentração do antimicrobiano foi reduzida a 43,0% do valor inicial e terminou em 34,3% ao fim das 96 horas. Comparando-se os dois frascos, é clara a influência positiva da atividade biológica na remoção de sulfametazina da fase aquosa. Considerando que a adsorção ocorre na mesma extensão nos dois frascos, é possível concluir que, de toda remoção de SMZ observada em R2, apenas 11,2% pode ser atribuída à biodegradação e 88,8% à adsorção.

Avaliando em conjunto o comportamento dos perfis de DQO (Figura 5.2) e SMZ (Figura 5.3) do frasco R2, verifica-se que o período em que a remoção de SMZ é mais acentuada, durante as primeiras 24 horas de ensaio, é também o período em que ocorre

praticamente toda a remoção de DQO, indicando uma possível influência da presença de matéria orgânica facilmente assimilável na biodegradação de sulfametazina.

Um ensaio em batelada contendo biomassa ativa e SMZ na concentração de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ porém sem adição da água residuária sintética foi realizado (R1). O perfil temporal de SMZ obtido é apresentado na Figura 5.4, em conjunto com o resultado da batelada R2.

Figura 5.4 - Fase 1: Perfil temporal de SMZ para os ensaios em batelada realizados com presença de matéria orgânica (R2) e ausência de matéria orgânica (R1).

Observou-se que a presença de água residuária sintética exerceu influência positiva na remoção de SMZ. No frasco sem adição do meio sintético 52,9% da concentração inicial restava na fase aquosa após 96 horas de experimento. De fato, os frascos R1 e R3 apresentaram comportamento muito semelhante, conforme pode ser observado na Figura 5.5.

Figura 5.5 - Fase 1: Perfil temporal de SMZ para os ensaios em batelada realizados com lodo inativo (R3) e com ausência de matéria orgânica (R1).

Na ausência da água residuária sintética, a remoção de sulfametazina da fase aquosa se aproxima muito daquela atribuída à adsorção somente (R3). Pode-se inferir que praticamente toda a remoção de SMZ observada no frasco R1 pode ser atribuída à adsorção no lodo granular. Novamente, sugere-se forte influência da presença de matéria orgânica de fácil degradação para a biodegradação de sulfametazina.

5.1.2. Influência da presença de matéria orgânica na remoção de sulfametazina

Com o objetivo de se verificar a influência da DQO na remoção de sulfametazina da fase aquosa, quatro ensaios em bateladas foram realizados. Os frascos foram adicionados do lodo granular anaeróbico, sulfametazina a $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ e água residuária sintética em diluições correspondentes a DQO solúveis iniciais de 0 (R4), 475 (R5), 870 (R6) e $1420 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ (R7).

O perfil temporal de remoção de DQO para os frascos R5, R6 e R7 para um ensaio de 72 horas é apresentado na Figura 5.6. A Tabela 5.1 apresenta os parâmetros do ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis temporais dos reatores R5, R6 e R7.

Figura 5.6 - Fase 1: Perfis temporais de DQO solúvel para os ensaios em batelada realizados com diferentes DQO iniciais. As linhas representam um ajuste de uma cinética de primeira ordem com residual.

Tabela 5.1 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para o perfil temporal de DQO solúvel dos reatores em batelada R5, R6 e R7.

Modelo Ajustado				
$DQO_{sol}(t) = DQO_{sol}^{res} + (DQO_{sol}^0 - DQO_{sol}^{res}) \cdot e^{-k_{DQO} \cdot t}$				
Parâmetro		R5	R6	R7
k_{DQO}	(h ⁻¹)	0,16	0,11	0,10
DQO_{sol}^0	(mg O ₂ .L ⁻¹)	475	870	1420
DQO_{sol}^{res}	(mg O ₂ .L ⁻¹)	45	51	94
R^2	(-.)	0,9333	0,9743	0,9729

O comportamento da remoção de matéria orgânica (medida como DQO) pode ser adequadamente representado por uma cinética de primeira ordem com residual. Como observado para o reator R2, quase a totalidade da matéria orgânica é removida com 24 horas de experimento, restando menos de 15,5% da concentração inicial, para as três condições ensaiadas. A concentração residual de DQO, não degradada até o fim do experimento corresponde a 4,2%, 4,0% e 5,0% das concentrações iniciais, para os reatores R5, R6 e R7, respectivamente.

O perfil temporal de concentração de SMZ para os reatores R4, R5, R6 e R7 é apresentado na Figura 5.7.

Figura 5.7 - Fase 1: Perfis temporais de SMZ para os ensaios em batelada realizados com diferentes DQO iniciais (R5 a R7), acompanhados do controle sem adição de meio sintético (R4).

A concentração de SMZ remanescente no meio líquido após 72 horas de reação foi de 52,5% da concentração inicial para o reator sem adição de meio sintético (R4). Ao passo que R5 apresentou 37,6% (DQO inicial de 475 mg O₂.L⁻¹), R6 apresentou 21,8% (DQO inicial de 870 mg O₂.L⁻¹) e R7 apresentou 29,4% da concentração inicial (DQO inicial de 1420 mg O₂.L⁻¹). Embora os reatores R6 e R7 tenham apresentado comportamento muito similar ao longo de todo experimento, verifica-se uma tendência de aumento de remoção de SMZ da fase líquida com o aumento da DQO.

Um novo experimento foi então realizado (R8), prevendo a adição de matéria orgânica após 72 horas de reação, com o objetivo de se verificar se a velocidade de remoção de sulfametazina poderia ser acelerada após atingir-se o platô característico após as primeiras 24 horas de reação, como foi observado na Figura 5.3 e na Figura 5.7.

Uma vez que a adição de novo volume de meio sintético ao decorrer da batelada acarretaria na diluição do meio reacional e consequente variação da concentração de SMZ, optou-se por adicionar matéria orgânica em fase sólida, provocando uma alteração de volume

desprezível. Para tanto, após 72 horas de experimento, uma massa de sacarose sólida foi adicionada ao meio reacional, correspondendo a um rápido incremento de DQO de 1000 mg $O_2.L^{-1}$. Após a sua adição, o frasco reacional foi vigorosamente agitado, a fim de garantir a completa dissolução do sólido.

O experimento teve uma duração total de 144 horas, sendo mantidas a concentração de biomassa, a concentração inicial de meio sintético e a faixa de trabalho de 100 $\mu g.L^{-1}$ de sulfametazina. A Figura 5.8 apresenta os perfis temporais de DQO e de SMZ.

Figura 5.8 - Fase 1: Perfis temporais de DQO solúvel e SMZ em ensaio em batelada com adição de DQO exógena após 72h de reação (R8).

Observou-se mais uma vez clara correlação entre o consumo de DQO e a remoção de sulfametazina. O consumo de DQO proveniente da água residuária sintética ocorreu nas primeiras 24 horas, atingindo um residual de cerca de 200 mg $O_2.L^{-1}$ que se manteve até a adição de sacarose, na marca de 72 horas. Nesse mesmo período, a concentração de sulfametazina apresentou o mesmo perfil característico observado anteriormente, com decréscimo contínuo, porém expressivamente mais intenso nas 24 primeiras horas de reação. Ao fim desse período restavam 47,9% da concentração inicial do antimicrobiano, que chegou a 32,3% ao fim de 72 horas.

Com a adição de sacarose, a DQO foi elevada até 1208 mg $O_2.L^{-1}$ e rapidamente degradada até o residual anterior de 200 mg $O_2.L^{-1}$ em 12 horas. Nesse período, a concentração de sulfametazina foi reduzida a 16,3% da concentração inicial, mantendo-se nesse valor até o fim do experimento.

Os resultados obtidos apontam para a ocorrência de processos cometabólicos na remoção de sulfametazina. O cometabolismo pode ser definido como a transformação de um substrato que sozinho não permitiria o crescimento da comunidade microbiana, na presença obrigatória de um substrato de crescimento ou outro composto transformável. Esse processo metabólico atraiu inicialmente a atenção da comunidade científica devido à crescente preocupação com a poluição ambiental por micropoluentes, muitos dos quais sofrem transformações no meio ambiente por microrganismos que não os utilizam como meio de crescimento (DALTON e STIRLING, 1982).

Devido à presença dos contaminantes farmacêuticos em águas residuárias ocorrer usualmente na faixa de poucos $\mu\text{g.L}^{-1}$ ou menos, esses compostos, sozinhos, não são capazes de sustentar o crescimento celular dos organismos capazes de realizar a sua degradação. Assim, a biodegradação desses compostos em águas residuárias é provavelmente conduzida por cometabolismo (TERNES e JOSS, 2006³ *apud* ONESIOS et al., 2009). Embora esse mecanismo seja extensivamente estudado para diversos contaminantes ambientais, as publicações a respeito do cometabolismo de fármacos são limitadas (TRAN et al., 2009).

Para sistemas aeróbios, a ocorrência de cometabolismo de fármacos já foi observada na degradação de sinvastatina e atorvastatina por Ottmar et al. (2012); na remoção de bezafibrato, naproxeno e ibuprofeno por Quintana et al. (2005); na degradação de sulfametizol, sulfametoxazol e cabamazebina em experimentos com culturas puras por Gauthier et al. (2010); e na degradação de tetraciclina por grânulos aeróbios nitrificantes por Shi et al. (2011). A literatura científica ainda é limitada em relação à ocorrência de cometabolismo na remoção de fármacos em sistemas anaeróbios.

Em estudos que não empregaram concentrações ambientalmente relevantes de sulfonamidas, a biodegradação desses fármacos seguiu outro mecanismo. Drillia et al. (2005) investigaram a degradação de sulfametoxazol em sistemas de lodos ativados na ausência de outras fontes de carbono de fácil degradação e constataram a degradação do antimicrobiano quando presente em concentrações de 20 mg.L^{-1} a 320 mg.L^{-1} . Ainda no mesmo trabalho, verificou-se que a degradação do antimicrobiano não ocorre na presença de fontes de carbono e nitrogênio de fácil assimilação, caso a biomassa não tiver sido exposta anteriormente ao

³ TERNES, T.A.; JOSS, A. (2006) Human pharmaceuticals, hormones and fragrances. IWA Publishing, New York.

antimicrobiano na ausência dos outros substratos. Essa observação claramente contradiz a hipótese de cometabolismo como mecanismo de biodegradação dessa sulfonamida. Resultados similares foram encontrados por Müller et al. (2013), em que um sistema de lodos ativados em escala de bancada foi capaz de degradar sulfametoxazol na concentração de 50 mg.L⁻¹ como única fonte de carbono e nitrogênio. Os autores concluem que a biodegradação dessa sulfonamida, nesse estudo, poderia ser melhor atribuída a um metabolismo diáuxico do que à ocorrência de cometabolismo. No entanto, é forçoso ressaltar que ambos os estudos trabalharam com concentrações do antimicrobiano muito superiores às concentrações ambientalmente relevantes desse composto. Demonstra-se, assim, que o mecanismo de biodegradação das sulfonamidas é dependente da concentração em que o fármaco está presente no meio.

5.1.3. Adsorção de SMZ no lodo granular anaeróbio

A investigação da natureza dos fenômenos adsortivos que ocorrem nos reatores em batelada é interessante para uma formulação matemática adequada do fenômeno. A sua descrição acurada e a estimativa de parâmetros cinéticos e de equilíbrio permitem a previsão da extensão da ocorrência da adsorção em situações além daquelas ensaiadas experimentalmente.

Ensaio em batelada sob diferentes concentrações iniciais de sulfametazina, realizados com biomassa inativada e na ausência de fontes de carbono (exceto para o reator R3) forneceram os perfis temporais de concentração de SMZ apresentados na Figura 5.9.

Figura 5.9 - Fase 1: Perfis temporais de SMZ para os ensaios em batelada conduzidos com biomassa inativa para diferentes concentrações iniciais de SMZ. As linhas contínuas representam o ajuste obtido utilizando-se do modelo de adsorção de pseudo-segunda ordem de Ho e McKay (1999).

Observou-se que o tempo de reação de 72 horas foi suficiente para atingir o equilíbrio adsorptivo, exceto para a menor concentração inicial de SMZ ensaiada, na batelada R9. O tempo necessário para atingir o equilíbrio adsorptivo foi comparável ao observado por Yu et al.

(2011), que relataram que a adsorção de SMZ em biomassa aeróbia imobilizada demorou cerca de dois dias para alcançar o equilíbrio. No caso de biomassa suspensa, contudo, a adsorção de sulfonamidas pode ocorrer mais rapidamente, alcançando o equilíbrio em cerca de duas horas, como observado por Yang et al. (2011). É importante ressaltar que esses estudos investigaram lodo aeróbio. Não foram encontradas na literatura científica pesquisas que caracterizaram a cinética de adsorção de sulfonamidas em lodos anaeróbios.

O modelo cinético de adsorção de pseudo-segunda ordem de Ho e McKay (1999) foi ajustado aos dados experimentais obtidos. Os parâmetros cinéticos do ajuste são apresentados na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Parâmetros do ajuste do modelo cinético de adsorção de pseudo-segunda ordem.

Modelo Ajustado				
$\frac{dC_s}{dt} = k' \cdot (C_s^{eq} - C_s)^2$				
Reator	SMZ inicial ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Modelo de adsorção de pseudo-segunda ordem C_s^{eq} ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	k' ($\text{L} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	R^2 (- -)
R3	97,37	46,63	0,00143	0,9752
R4	101,02	53,18	0,00177	0,9795
R9	5,60	4,27	0,00587	0,8165
R10	88,56	26,70	0,00211	0,8095
R11	800,06	215,90	0,00103	0,9559
R12	1050,80	295,83	0,00051	0,9658

Observou-se uma significativa adequação do modelo ajustado, como denotado pelos elevados coeficientes de determinação obtidos. O modelo cinético de adsorção de pseudo-segunda ordem já foi empregado com sucesso para descrever a adsorção de SMZ em um adsorvente sintético (Grimmet, 2007).

Adicionalmente, foi verificada uma dependência do valor da constante cinética de adsorção (k') com a concentração inicial de sulfametazina no meio. Azizian (2004) desenvolveu uma análise fundamental de modelos cinéticos de adsorção e demonstrou que o modelo cinético de pseudo-segunda ordem pode ser atribuído a um fenômeno adsorptivo que ocorre em concentrações bem inferiores à capacidade adsorptiva do adsorvente. Nessa situação,

a constante de adsorção observada é uma função complexa da concentração inicial de adsorbato, o que está em concordância com as observações experimentais deste trabalho.

É esperado que o mecanismo de adsorção da SMZ ao lodo biológico envolva forças eletrostáticas entre os grupos ionizáveis da molécula de SMZ (Teixidó et al., 2011) e os diferentes grupos funcionais presentes nas proteínas, polissacarídeos e polímeros extracelulares que compõem os grânulos (Liu et al., 2010b). Forças de van der Waals, como forças de dispersão de London e interações π - π também podem contribuir para o processo adsorptivo, particularmente para as formas neutras da SMZ. Como diversos tipos de reações podem ocorrer simultaneamente, definir um mecanismo de adsorção acurado representa um grande desafio (Grimmet, 2007).

Com os valores ajustados de concentração de sulfametazina adsorvida no equilíbrio, foi possível a elaboração de uma isoterma de adsorção, que é apresentada na Figura 5.10.

Figura 5.10 - Fase 1: Isotherma de adsorção de SMZ ao lodo granular anaeróbico. A linha contínua representa uma regressão linear dos dados experimentais. A equação da isoterma resultante é apresentada juntamente com o coeficiente de determinação.

Observa-se que o equilíbrio de sulfametazina entre as fases líquida e sólida segue uma isoterma linear. Esse tipo de isoterma é comum para sistemas em que a concentração de adsorbato é muito inferior à capacidade adsorptiva dos sólidos no sistema, trabalhando-se, portanto, longe das condições de saturação do adsorvente. Diversos autores já relataram esse comportamento para a adsorção de fármacos em lodos biológicos (YANG et al., 2011, WU et al., 2009, URASE e KIKUTA, 2005).

Devido ao comportamento linear da isoterma de adsorção, o sistema abiótico, quando em equilíbrio, pode ser adequadamente descrito pelo coeficiente de partição, K_p , obtido por meio do coeficiente angular da reta de ajuste da isoterma, apresentada na Equação 5.1. Obteve-se, portanto, um K_p de 0,0717 L.g STV⁻¹.

$$q_{eq} = 0,0717 \cdot C_w^{eq} + 3,4705 \quad \text{Equação 5.1}$$

Podem ser encontrados na literatura valores de coeficiente de partição para a sulfametazina em lodos de diferentes sistemas de tratamento, embora não para a adsorção em grânulos anaeróbios. Abegglen et al. (2009) estimaram o coeficiente de partição de sulfametazina em lodo biológico aeróbio em um sistema MBR e obtiveram valores variando de 0,02 a 0,11 L.g SST⁻¹. Wu et al. (2009) avaliaram o valor de K_p para a adsorção de sulfametazina em biossólidos aerobiamente digeridos e obtiveram o valor de 0,0075 L.g ST⁻¹. Ben et al. (2013) avaliaram a distribuição de SMZ entre as fases líquida e sólida de águas residuárias de suinocultura e obtiveram valores de K_p entre 0,021 e 0,026 L.g ST⁻¹. Yu et al. (2011) estimaram como 0,013 L.g ST⁻¹ o coeficiente de partição de SMZ em lodo biológico aeróbio imobilizado.

De maneira geral, a sulfametazina, assim como as demais sulfonamidas, apresenta coeficiente de partição bem inferior ao de outros grupos farmacológicos recalcitrantes encontrados em águas residuárias domésticas. No entanto, isso levou alguns autores a concluir precipitadamente baseando-se apenas no K_p , que a adsorção pode ser desprezada em sistemas de tratamento quando comparada à biodegradação, como observado nos trabalhos de Joss et al. (2005) e Müller et al. (2013). Embora essa afirmação seja geralmente válida para sistemas contínuos, pode-se observar na Figura 5.9 que a adsorção pode ter uma influência significativa na remoção de SMZ do meio líquido para sistemas que operam em regime transiente e com biomassa previamente não exposta a esses fármacos. Portanto, corre-se o risco de superestimar a capacidade de biodegradação desses sistemas ao se desprezar a influência da adsorção.

5.1.4. Modelação matemática

O estabelecimento de modelos matemáticos confiáveis é de grande valia no entendimento do comportamento de poluentes em sistemas de tratamento de águas residuárias. Com o objetivo de se estimar quantitativamente e separadamente as contribuições

de fenômenos adsorptivos e biológicos na remoção de sulfametazina da fase aquosa, um modelo matemático simples foi desenvolvido e ajustado aos dados experimentais.

O modelo considerou a adsorção da SMZ ao lodo como um processo reversível limitado por interações de superfície, que segue uma isoterma linear quando em equilíbrio. Os resultados experimentais foram adequadamente descritos pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem de Ho e McKay (1999), apresentado na Equação 5.2.

$$\frac{dq_t}{dt} = k \cdot (q_e - q)^2 \quad \text{Equação 5.2}$$

Em que k é a constante cinética de adsorção ($\text{g STV} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), q_e é a concentração de SMZ adsorvida no equilíbrio ($\mu\text{g} \cdot \text{g STV}^{-1}$) e q é a concentração de SMZ adsorvida ($\mu\text{g} \cdot \text{g STV}^{-1}$) no tempo t (h). A velocidade de adsorção pode ser escrita em termos da concentração em solução, como apresentado na Equação 5.3.

$$\frac{dC_s}{dt} = k' \cdot (C_s^{\text{eq}} - C_s)^2 \quad \text{Equação 5.3}$$

Em que k' é a constante cinética de adsorção relativa à concentração em solução ($\text{L} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), C_s^{eq} é a concentração de SMZ adsorvida em equilíbrio ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), e C_s é a concentração de SMZ adsorvida ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) no tempo t (h).

Apenas a concentração de SMZ na fase aquosa foi mensurada em todos os ensaios em batelada. Dessa maneira, empregou-se um balanço de massa para quantificar indiretamente a concentração de SMZ adsorvida na fase sólida, como apresentado na Equação 5.4.

$$C_s(t) = C_{\text{NC}}(t) - C_w(t) \quad \text{Equação 5.4}$$

Em que $C_s(t)$ é a concentração de SMZ adsorvida ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) no tempo t (h); $C_w(t)$ é a concentração de SMZ aquosa ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) no tempo t e $C_{\text{NC}}(t)$ é a concentração de SMZ não convertida ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) no tempo t . Para os ensaios de adsorção realizados com biomassa inativada, $C_{\text{NC}}(t)$ é equivalente à concentração inicial de SMZ na fase aquosa.

A consideração de uma isoterma de adsorção linear implica que, uma vez atingido o equilíbrio adsorptivo, as concentrações de sulfametazina na fase líquida e na fase sólida podem ser relacionadas pelo coeficiente de partição, K_p , e pela concentração de biomassa, X , como descrito pela Equação 5.5.

$$K_p = \frac{C_s^{eq}}{C_w^{eq} \cdot X} \quad \text{Equação 5.5}$$

Em que K_p é o coeficiente de partição (L.g STV⁻¹), C_s^{eq} é a concentração de SMZ adsorvida em equilíbrio (µg.L⁻¹), C_w^{eq} é a concentração de SMZ na fase líquida em equilíbrio (µg.L⁻¹) e X é a concentração de biomassa no reator, medida como sólidos totais voláteis (g STV.L⁻¹).

Observou-se que a velocidade de degradação de DQO pode ser adequadamente descrita pelo modelo cinético de primeira ordem com uma concentração residual, que pode ser escrito na forma diferencial como apresentado na Equação 5.6.

$$r_{DQO} = k_{DQO} \cdot (DQO_{(t)} - DQO_{res}) \quad \text{Equação 5.6}$$

Em que r_{DQO} é a velocidade de remoção de DQO solúvel (mg O₂.L⁻¹.h⁻¹), k_{DQO} é a constante cinética (h⁻¹), $DQO_{(t)}$ é a DQO dissolvida (mg O₂.L⁻¹) no tempo t (h) e DQO_{res} é a DQO dissolvida residual.

A velocidade de biodegradação de SMZ foi descrita pelo modelo cinético de cometabolismo desenvolvido por Criddle (1993), que associa a velocidade de degradação do substrato cometabólico (SMZ) à velocidade de degradação do substrato de crescimento (quantificado como DQO). Os efeitos do decaimento endógeno e da inibição competitiva na degradação do substrato cometabólico, presentes no modelo original, não foram considerados no presente trabalho. Nessas condições, a velocidade de biodegradação da SMZ pode ser expressa pela Equação 5.7.

$$r_{SMZ} = (T_{SMZ}^{DQO} \cdot r_{DQO} + k_{SMZ}) \left(\frac{C}{K_{SMZ} + C} \right) \quad \text{Equação 5.7}$$

Em que r_{SMZ} é velocidade de biodegradação de sulfametazina (µg.L⁻¹.h⁻¹); T_{SMZ}^{DQO} é a capacidade de transformação do substrato de crescimento, definido como a massa de SMZ transformada por unidade de DQO removida (µg.mg O₂⁻¹); r_{DQO} é a velocidade de remoção de DQO solúvel (mg O₂.L⁻¹.h⁻¹); k_{SMZ} é a velocidade máxima de remoção de SMZ na ausência de substrato de crescimento (µg.L⁻¹.h⁻¹); C é a concentração de SMZ no compartimento biodisponível (µg.L⁻¹) e K_{SMZ} é a constante de meia saturação (µg.L⁻¹).

As observações experimentais demonstraram que a degradação de SMZ na ausência de DQO prontamente biodegradável é desprezível. Adicionalmente, assumiu-se que a faixa de concentrações empregada nesse trabalho é muito inferior à constante de meia saturação para a SMZ. Portanto, atribuiu-se à velocidade de biodegradação de SMZ uma dependência de primeira ordem em relação à concentração de SMZ. Dessa maneira, a Equação 5.7 foi modificada, resultando na Equação 5.8.

$$r_{SMZ} = T' \cdot r_{DQO} \cdot C \quad \text{Equação 5.8}$$

Em que r_{SMZ} é velocidade de biodegradação de sulfametazina ($\mu\text{g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), r_{DQO} é a velocidade de remoção de DQO solúvel ($\text{mg O}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), T' é um parâmetro cinético equivalente à razão $T^{DQO}_{SMZ}/K_{S_{SMZ}}$ (L.mg O_2^{-1}) e C é a concentração de SMZ no compartimento biodisponível ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

As equações do modelo foram empregadas para testar duas hipóteses: (1) uma vez adsorvida, a SMZ fica indisponível para a biodegradação, e apenas a SMZ na fase líquida sofre transformação. Essa é a hipótese mais amplamente aceita nos estudos de modelação da degradação de micropoluentes (POMIÈS et al., 2013); (2) a adsorção desempenha o papel de um passo inicial na série de reações que leva à biodegradação da SMZ, hipótese apresentada por Urase e Kikuta (2005) para a degradação de produtos farmacêuticos em sistema de lodos ativados. A Figura 5.11 apresenta os modelos conceituais das duas hipóteses testadas.

Figura 5.11 - Modelos conceituais para a remoção de SMZ. Hipótese 1: a adsorção e a biodegradação ocorrem em paralelo; Hipótese 2: adsorção e a biodegradação ocorrem em série.

A Hipótese 1 prevê a adsorção e a biodegradação ocorrendo como reações paralelas levando ao consumo de SMZ da fase aquosa. Nessa situação, apenas a SMZ aquosa é biodisponível. Essa hipótese pode ser descrita utilizando-se o par de equações diferenciais apresentados na Equação 5.9 e na Equação 5.10.

$$\frac{dC_w}{dt} = -k' \cdot (C_s^{eq} - C_s)^2 - r_{SMZ} \quad \text{Equação 5.9}$$

$$\frac{dC_s}{dt} = k' \cdot (C_s^{eq} - C_s)^2 \quad \text{Equação 5.10}$$

A ocorrência de transformação da SMZ ao longo da batelada resulta em um deslocamento do equilíbrio adsorptivo, alterando a força motriz da cinética de adsorção. Dessa maneira, a concentração de SMZ adsorvida a ser atingida no equilíbrio, C_s^{eq} , é alterada com a remoção de SMZ do sistema, e a sua dependência temporal pode ser escrita em função das concentrações instantâneas de SMZ aquosa e adsorvida, do coeficiente de partição e da concentração de sólidos, como apresentado na Equação 5.11. Essa expressão é obtida calculando-se a concentração de SMZ adsorvida no equilíbrio que seria alcançada pelo sistema para o total de SMZ não convertida presente no sistema em cada intervalo de tempo.

$$C_s^{eq} = \frac{C_w + C_s}{\left(\frac{1}{K_P \cdot X} + 1\right)} \quad \text{Equação 5.11}$$

Assim, as equações diferenciais que descrevem a Hipótese 1 podem ser reescritas em função das concentrações instantâneas de SMZ aquosa e adsorvida, resultando na Equação 5.12 e na Equação 5.13.

$$\frac{dC_w}{dt} = -k' \cdot \left[\frac{C_w + C_s}{\left(\frac{1}{K_P \cdot X} + 1\right)} - C_s \right]^2 - r_{SMZ} \quad \text{Equação 5.12}$$

$$\frac{dC_s}{dt} = k' \cdot \left[\frac{C_w + C_s}{\left(\frac{1}{K_P \cdot X} + 1\right)} - C_s \right]^2 \quad \text{Equação 5.13}$$

De maneira similar, a Hipótese 2 prevê a adsorção e a biodegradação ocorrendo em série, sendo a SMZ adsorvida biologicamente disponível. Essa hipótese pode ser descrita pela Equação 5.14 e pela Equação 5.15.

$$\frac{dC_w}{dt} = -k' \cdot \left[\frac{C_w + C_s}{\left(\frac{1}{K_p \cdot X} + 1 \right)} - C_s \right]^2 \quad \text{Equação 5.14}$$

$$\frac{dC_s}{dt} = k' \cdot \left[\frac{C_w + C_s}{\left(\frac{1}{K_p \cdot X} + 1 \right)} - C_s \right]^2 - r_{SMZ} \quad \text{Equação 5.15}$$

As equações diferenciais ordinárias foram numericamente integradas utilizando-se de um método de Runge-Kutta de quarta ordem e ajustadas aos perfis temporais de concentração de SMZ aquosa. Para tanto, os parâmetros do modelo foram inicialmente estimados e utilizou-se a ferramenta Solver do Microsoft Excel para encontrar o conjunto de parâmetros que minimizasse a soma dos quadrados dos desvios entre os resultados experimentais e os valores preditos pelo modelo para cada ponto (método dos mínimos quadrados). Foram empregados os parâmetros do Solver: Tempo Máximo: 100 s; Máximo de Iterações: 100; Precisão: 0,000001; Tolerância: 5%; Convergência: 0,0001.

Utilizou-se, para essa análise, os perfis de concentração de SMZ aquosa de seis ensaios em batelada (R5, R6, R7, R13, R14, R15), conduzidos com diferentes concentrações iniciais de SMZ e DQO.

O coeficiente de partição K_p do modelo foi fixado no valor obtido experimentalmente de 0,0717 L.g STV⁻¹. A concentração de sólidos em todos os ensaios foi de 5 g STV.L⁻¹. A velocidade de remoção de DQO foi determinada individualmente para cada batelada por meio do acompanhamento do perfil de DQO. Permitiu-se a variação do valor da constante de adsorção k' dentro do intervalo encontrado durante a caracterização do processo adsorativo, apresentado na Tabela 5.2. Não foram impostas restrições ao parâmetro T' .

A Figura 5.12 apresenta os resultados da modelação matemática. As linhas contínuas e descontínuas representam os melhores ajustes obtidos por meio do método dos mínimos quadrados para os modelos cinéticos representando as Hipóteses 1 e 2, respectivamente. A Tabela 5.3 apresenta os parâmetros de ajuste obtidos.

Figura 5.12 - Fase 1: Perfis temporais de concentração de SMZ obtidos para diferentes concentrações iniciais de SMZ e DQO ajustados aos modelos matemáticos desenvolvidos. As linhas contínuas representam o melhor ajuste obtido para a Hipótese 1, e as linhas descontínuas representam o melhor ajuste para a Hipótese 2.

Tabela 5.3 - Parâmetros de ajuste dos modelos matemáticos representando as Hipóteses 1 e 2.

Reator	Condições Iniciais		Hipótese 1			Hipótese 2		
	DQO ₀ (mg O ₂ .L ⁻¹)	SMZ ₀ (μg.L ⁻¹)	k' (L.μg ⁻¹ .h ⁻¹)	T' (L.mg O ₂ ⁻¹)	R ² (-.-)	k' (L.μg ⁻¹ .h ⁻¹)	T' (L.mg O ₂ ⁻¹)	R ² (-.-)
R5	475	104,2	0,00149	0,00144	0,9686	0,00404	0,382	0,5693
R6	870	102,8	0,00103	0,00107	0,9808	0,00404	0,266	0,2471
R7	1420	103,5	0,00259	0,00074	0,9839	0,00404	0,212	0,3094
R13	1542	7,45	0,00212	0,00085	0,9396	0,00404	0,198	-.-
R14	1542	110,9	0,00404	0,00032	0,8158	0,00404	0,028	0,0268
R15	1542	533,4	0,00321	0,00013	0,8841	0,00404	0,0008	0,8766

Os resultados experimentais foram mais adequadamente explicados pelo modelo cinético representando a Hipótese 1, como pode ser verificado pela aderência dos pontos à curva ajustada e também pelos coeficientes de determinação superiores. Sob as condições experimentais ensaiadas, o modelo cinético representando a Hipótese 2 subestimou as velocidades de remoção de SMZ da fase líquida para as concentrações iniciais inferiores a 500 μg.L⁻¹. Uma vez que as velocidades de adsorção foram determinadas experimentalmente neste trabalho, os resultados da modelação matemática indicam que a remoção de SMZ da fase líquida não deve ocorrer como um sistema de reações em série, tendo a adsorção como primeiro passo. Dessa maneira, o comportamento descrito pela Hipótese 1 deve constituir o mecanismo predominante para a remoção de sulfametazina da fase líquida. Assim, a fase aquosa constitui o compartimento biodisponível para a degradação de SMZ. Delgadillo-Mirquez et al. (2011) também modelaram a degradação de micropoluentes durante a digestão anaeróbia e chegaram a conclusão similar.

Embora tenham sido verificadas limitações na calibração do modelo, como a impossibilidade de determinar com exatidão o parâmetro T', o modelo matemático mostrou-se importante para esclarecer o compartimento biodisponível para a degradação de SMZ. A ocorrência de biodegradação e adsorção como mecanismos em paralelo tem implicações diretas para o projeto de reatores com o objetivo de remover SMZ. Uma vez que a adsorção segue uma cinética de segunda ordem, ao passo que a biodegradação apresenta uma dependência de primeira ordem da concentração de SMZ, concentrações iniciais elevadas de SMZ favorecem a sua adsorção em detrimento à biodegradação.

A Figura 5.13 apresenta as previsões do modelo cinético em relação à contribuição relativa da adsorção e da biodegradação na remoção de SMZ da fase líquida, de acordo com a concentração inicial de SMZ. As simulações foram conduzidas para um reator em batelada com duração de ciclo de 80 horas e concentração de biomassa de 5 g STV.L⁻¹. Os demais parâmetros do modelo foram $K_p = 0,0717 \text{ L.g STV}^{-1}$, $k' = 2 \times 10^{-3} \text{ L.}\mu\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$, $T' = 1 \times 10^{-4} \text{ L.mg O}_2^{-1}$, $k_{DQO} = 0,1 \text{ h}^{-1}$, $DQO_{\text{REM}} = 150 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ e $DQO_0 = 1500 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$.

Figura 5.13 - Fase 1: Previsão do modelo cinético para a contribuição relativa da adsorção e da biodegradação na remoção de SMZ segundo a concentração inicial de SMZ. A simulação foi conduzida utilizando $X=5 \text{ g STV}^{-1}$, $K_p=0,0717 \text{ L.g STV}^{-1}$, $k'=2 \times 10^{-3} \text{ L.}\mu\text{g}^{-1}.\text{h}^{-1}$, $T'=1 \times 10^{-4} \text{ L.mg O}_2^{-1}$, $k_{DQO}=0,1 \text{ h}^{-1}$, $DQO_{\text{rem}}=150 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ e $DQO_0=1500 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$.

Como pode ser observado, a remoção de SMZ por biodegradação é consideravelmente favorecida ao se reduzir a concentração inicial de SMZ. Dessa maneira, a promoção de diluição da água residuária afluenta pode constituir uma alternativa para a promoção de maior conversão de SMZ, em detrimento à adsorção.

5.2. Fase 2: Monitoramento dos reatores contínuos

Esta seção destina-se à apresentação e discussão de aspectos gerais relacionados ao monitoramento e à operação dos reatores anaeróbios contínuos. A discussão dos resultados referentes aos tratamentos experimentais aplicados aos reatores e a sua influência na remoção de sulfametazina durante a Fases 2 será abordada nas seções subsequentes.

5.2.1. Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF)

Realizou-se a caracterização hidrodinâmica do RAHLF previamente à sua inoculação por meio de ensaio estímulo-resposta. A curva F obtida para o ensaio hidrodinâmico em degrau é apresentada na Figura 5.14.

Figura 5.14 - Fase 2: Curva F obtida por meio do ensaio hidrodinâmico em degrau para o RAHLF, com TDH teórico de 24 horas.

Verificou-se o formato típico de um ensaio em degrau para um reator que apresenta baixa dispersão longitudinal, com o aumento de sinal do traçador ocorrendo em um curto intervalo de tempo, atingindo rapidamente a concentração da alimentação.

O tempo de detenção hidráulica real, obtido pela curva de distribuição dos tempos de residência, foi de 31,9 h para um TDH nominal de 24 h. O aumento do TDH real pode ser atribuído a uma possível retenção do traçador no material suporte por adsorção ou por difusão molecular para macroporos não conectados (*dead-end*) da matriz de poliuretano, o que acarretaria em um atraso da frente de traçador. Desvios obtidos durante a medição do volume útil do reator também são frequentemente apontados como fontes de aumento do TDH real em ensaios hidrodinâmicos (Levenspiel, 2000). Uma vez que a medição do volume útil foi realizada por meio de repetidas drenagens do leito preenchido por espumas de poliuretano, é possível que a água intersticial que permaneceu no leito contribua efetivamente para o escoamento no reator, e tenha sido então aferido um volume útil inferior ao real. De qualquer forma, o desvio encontrado aponta para deficiências na metodologia de determinação do padrão de escoamento do reator e não para anomalias de escoamento em si.

Os dados obtidos por meio do ensaio hidrodinâmico foram ajustados ao modelo uniparamétrico de N reatores de mistura completa em série. O resultado obtido indicou que o escoamento no RAHLF pode ser adequadamente representado por 1008 reatores de mistura completa em série. Dessa maneira, conclui-se que o escoamento hidrodinâmico do RAHLF pode ser modelado, para fins práticos, como um reator pistonado ideal. Levenspiel (2000) indica que, para ajustes com N superior a 30, o reator pode ser considerado como um reator pistonado ideal sem grandes desvios. Os resultados encontrados são coerentes com o previamente apresentado por Nardi et al. (1999), que avaliaram a hidrodinâmica de um RAHLF com material suporte cerâmico e, para um TDH de 7,4 h, obtiveram um valor de N de 54, demonstrando a baixa dispersão longitudinal desse reator.

O RAHLF foi preenchido com as matrizes cúbicas de espuma de poliuretano homogeneamente inoculadas, apresentando uma concentração média de sólidos de $0,52 \pm 0,09$ g SSV.g espuma⁻¹. Esse valor corresponde a uma concentração inicial de biomassa no reator de 10,46 g SSV.L⁻¹ de volume útil do reator.

O RAHLF foi operado por um total de 527 dias, que compreenderam uma etapa de adaptação (Etapa 0), onze etapas experimentais com alimentação de água residuária sintética (Etapas I a XI) e duas etapas com alimentação com água residuária de suinocultura pré-sedimentada (Etapas XII e XIII). A Figura 5.15 apresenta o monitoramento de DQO filtrada do RAHLF ao longo de todas as etapas experimentais. A Tabela 5.4 apresenta os valores médios de DQO filtrada afluyente e efluente ao RAHLF em todas as etapas experimentais, assim como as médias de eficiência de remoção observadas.

Figura 5.15 - Fase 2: Monitoramento de DQO filtrada do RAHLF durante todas as etapas experimentais.

Tabela 5.4 - Valores médios do monitoramento de DQO filtrada no RAHLF em todas as etapas experimentais.

Etapa	Duração (dias)	TDH (h)	Água Residuária	DQO Filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹)		Eficiência de Remoção (%)
				Afluente	Efluente	
0	48	24	Sintética	1565 ± 691	88 ± 26	93 ± 4
I	35	24	Sintética	2091 ± 128	213 ± 42	90 ± 2
II	42	24	Sintética	2084 ± 61	231 ± 80	89 ± 4
III	66	24	Sintética	1048 ± 48	109 ± 25	90 ± 2
IV	29	24	Sintética	531 ± 14	89 ± 23	83 ± 4
V	35	24	Sintética	1536 ± 61	134 ± 37	91 ± 3
VI	38	24	Sintética	2085 ± 103	154 ± 38	93 ± 2
VII	25	24	Sintética	3957 ± 333	325 ± 117	92 ± 3
VIII	19	24	Sintética	2114 ± 213	240 ± 89	89 ± 3
IX	26	16	Sintética	2084 ± 87	236 ± 61	89 ± 3
X	18	8	Sintética	2155 ± 183	326 ± 157	84 ± 7
XI	95	24	Sintética	1536 ± 318	145 ± 33	90 ± 3
XII	29	24	Real	2417 ± 600	946 ± 305	61 ± 6
XIII	22	24	Real	4040 ± 412	1004 ± 195	75 ± 4

Durante a etapa de adaptação (Etapa 0), o reator foi alimentado com concentrações crescentes de água residuária sintética e respondeu rapidamente às variações de carga afluente. Foi mantida uma eficiência média de remoção de DQO filtrada de 93 ± 4% durante toda essa etapa, mesmo com a ampla variação da DQO solúvel afluente. Esse comportamento indica a aptidão do lodo de inóculo para a degradação anaeróbia da água residuária sintética, bem como a aplicação de um tempo de detenção hidráulica suficiente para essa degradação.

A Etapa 0 foi mantida por 48 dias, tempo suficiente para a estabilização do processo anaeróbio. Um rápido período de partida para o RAHLF foi observado por Sarti et al. (2001), que observaram o equilíbrio operacional com apenas 10 dias, para um reator alimentado com água residuária sintética de baixa carga orgânica (DQO total de 500 mg O₂.L⁻¹).

A Etapa I durou 35 dias e permitiu o estabelecimento de uma linha de base do comportamento do RAHLF previamente à contaminação da alimentação com o

antimicrobiano sulfametazina. A eficiência de remoção de DQO filtrada observada durante a Etapa I, $90 \pm 2\%$, demonstrou que o reator manteve o comportamento estável observado na etapa anterior, atingindo elevada remoção de DQO filtrada e reduzido coeficiente de variação. Com o início da adição de sulfametazina ao afluyente do reator, na Etapa II, a eficiência de remoção de DQO filtrada não apresentou variação significativa, mantendo-se em $89 \pm 4\%$. Assim, não foi possível verificar alterações de desempenho do reator em relação à etapa anterior, o que sugere que o antimicrobiano não exerceu efeito danoso à comunidade microbiana do reator responsável pela remoção de matéria orgânica (medida como DQO). A Figura 5.16 apresenta os perfis espaciais de DQO filtrada realizados no RAHLF durante o regime permanente atingido nas Etapas I e II. A Tabela 5.5 apresenta os parâmetros de ajuste de um modelo cinético de primeira ordem com residual, assim como os coeficientes de determinação obtidos.

Figura 5.16 - Fase 2: Perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas I e II. As linhas representam um ajuste de um modelo cinético de primeira ordem com residual.

Tabela 5.5 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada do RAHLF nas Etapas I e II.

Modelo Ajustado			
$DQO_{fil}(\theta_h) = DQO_{fil}^{res} + (DQO_{fil}^0 - DQO_{fil}^{res}) \cdot e^{-k_{DQO} \cdot \theta_h}$			
Parâmetro		Etapas I	Etapas II
k_{DQO}	(h ⁻¹)	0,21	0,22
DQO_{fil}^0	(mg O ₂ .L ⁻¹)	2149	2034
DQO_{fil}^{res}	(mg O ₂ .L ⁻¹)	237	93
R^2	(-.-)	0,9900	0,9987

Os perfis espaciais de remoção de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas I e II foram realizados com um intervalo de 51 dias. Não se observou variação significativa no comportamento do reator entre as etapas, como pode ser verificado pelo parâmetro cinético de ajuste do modelo matemático. Esse resultado corrobora a ausência de efeito do antimicrobiano no processo de digestão anaeróbia, assim como demonstra a estabilidade operacional do reator durante esse período.

A manutenção do desempenho do RAHLF entre as Etapas I e II era esperada, uma vez que as concentrações de antimicrobianos usualmente encontradas em águas residuárias (e reproduzidas no presente estudo) são muito inferiores às concentrações terapêuticas desses medicamentos. Diversos estudos apontam que os antimicrobianos da classe das sulfonamidas apenas exercem influência sobre a atividade de comunidades microbianas anaeróbias na faixa de concentração de dezenas a centenas de miligramas por litro (FONTOULAKIS et al., 2004, SPONZA e DERMIDEN, 2007, MOHRING et al., 2009).

O desempenho estável do RAHLF foi reproduzido em todas as etapas em que foi alimentado com água residuária sintética (Etapas 0 a XI), mantendo uma remoção média de DQO filtrada de $90 \pm 4\%$ em todo esse período. O reator respondeu rapidamente às mudanças de condições operacionais impostas entre as etapas, como pode ser observado na Figura 5.15.

O emprego de água residuária sintética na alimentação do reator possibilitou o controle estrito das condições afluentes, resultando em etapas experimentais bem definidas ao longo de quase toda a operação. Durante a Etapa XI, contudo, uma mudança de lote do amido solúvel utilizado na formulação da água residuária sintética dificultou esse controle experimental. O novo lote de amido apresentou solubilidade distinta da observada até então,

alterando significativamente a relação entre a DQO total e a DQO filtrada da água residuária sintética. Na tentativa de solucionar esse obstáculo, foram testadas outras três marcas de amido solúvel e isso ocasionou certa instabilidade na DQO afluyente ao reator, além de prolongar a duração dessa etapa experimental, como pode ser observado na Figura 5.15. Essa variação da composição da água residuária sintética, entretanto, não afetou o desempenho do reator, que se manteve estável durante o período.

Observou-se uma queda significativa na eficiência de remoção de DQO filtrada nas Etapas XII e XIII, em que o reator foi alimentado com água residuária de suinocultura pré-sedimentada. Nessas etapas, foram observadas eficiências médias de remoção de DQO filtrada de $61 \pm 6\%$ e $75 \pm 4\%$, respectivamente. A queda no desempenho do reator é justificada pela maior complexidade dessa água residuária, quando comparada à água residuária sintética, constituída por compostos orgânicos de fácil degradação.

A Tabela 5.6 apresenta os valores médios de pH e alcalinidade afluentes e efluentes ao RAHLF ao longo de todas as etapas experimentais.

Tabela 5.6 - Monitoramento de pH e alcalinidade no RAHLF ao longo de todas as etapas experimentais.

Etapa	Duração (dias)	pH		Alcalinidade a Bicarbonato (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)		Alcalinidade Intermediária (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	
		Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
0	48	7,46 ± 0,18	7,40 ± 0,12	606 ± 187	823 ± 230	190 ± 58	237 ± 65
I	35	7,36 ± 0,17	7,40 ± 0,08	711 ± 107	1028 ± 131	254 ± 32	303 ± 45
II	42	7,24 ± 0,12	7,46 ± 0,14	741 ± 31	1001 ± 80	237 ± 28	321 ± 55
III	66	7,26 ± 0,17	7,46 ± 0,09	711 ± 38	864 ± 61	232 ± 27	259 ± 35
IV	29	7,31 ± 0,19	7,64 ± 0,09	693 ± 35	742 ± 31	224 ± 23	229 ± 26
V	35	7,29 ± 0,18	7,49 ± 0,11	703 ± 21	850 ± 33	246 ± 16	262 ± 35
VI	38	7,30 ± 0,12	7,43 ± 0,13	685 ± 53	850 ± 48	239 ± 21	266 ± 23
VII	25	7,47 ± 0,08	7,60 ± 0,17	1256 ± 81	1452 ± 242	428 ± 29	458 ± 72
VIII	19	7,39 ± 0,27	7,37 ± 0,11	649 ± 42	901 ± 83	246 ± 27	284 ± 38
IX	26	7,24 ± 0,05	7,37 ± 0,18	668 ± 46	926 ± 96	237 ± 25	271 ± 79
X	18	7,24 ± 0,10	7,21 ± 0,11	651 ± 35	874 ± 125	237 ± 7	313 ± 25
XI	95	7,33 ± 0,16	7,44 ± 0,10	682 ± 32	957 ± 48	232 ± 20	308 ± 34
XII	29	7,57 ± 0,10	7,81 ± 0,13	1867 ± 467	2172 ± 540	864 ± 162	662 ± 150
XIII	22	7,54 ± 0,07	7,72 ± 0,11	1746 ± 103	2172 ± 158	851 ± 36	653 ± 49

Os resultados de monitoramento de pH e alcalinidade demonstram que os tratamentos experimentais aplicados ao RAHLF ao longo de todas as etapas experimentais não afetaram a estabilidade do consórcio metanogênico estabelecido no reator. O pH efluente ao reator apresentou-se estável em toda a operação, como denotado pelos baixos desvios padrão observados. O pH manteve-se dentro da faixa usualmente preconizada como ideal para um processo metanogênico estável, entre 6,5 e 8,2 (Speece, 1996). Observou-se geração de alcalinidade a bicarbonato no RAHLF durante todo o período operacional, ao passo que a variação de alcalinidade intermediária não foi pronunciada. A geração de alcalinidade a bicarbonato em reatores anaeróbios é um indicativo do estabelecimento de um processo metanogênico equilibrado, uma vez que indica o consumo dos ácidos graxos voláteis gerados durante a etapa de acidogênese. Essa observação é corroborada pelo monitoramento de ácidos graxos voláteis efluentes ao RAHLF, apresentado na Figura 5.17.

Figura 5.17 - Fase 2: Valores médios de ácidos graxos voláteis efluentes ao RAHLF durante as etapas experimentais I a XIII. As barras de erros representam um desvio padrão do conjunto dados experimentais.

Observou-se reduzida concentração de ácidos graxos voláteis no efluente do RAHLF ao longo de todo o período experimental, mesmo nas etapas em que o reator foi alimentado com água residuária de suinocultura. Os valores médios de AGV efluentes ao reator não ultrapassaram 80 mg CH₃COOH.L⁻¹ em nenhuma das etapas. Frequentemente, as concentrações de AGV no efluente do reator encontraram-se inferiores ao limite de quantificação do método analítico.

A reduzida presença de AGV no efluente do RAHLF é condizente com as elevadas eficiências de remoção de DQO filtrada observadas nas etapas experimentais e indicam o estabelecimento equilibrado do processo de degradação anaeróbia.

Operações de longo prazo de reatores anaeróbios de leito fixo em escala de bancada estão frequentemente sujeitas a problemas de colmatção do leito. O crescimento da biomassa e a formação de polímeros extracelulares pode reduzir gradualmente o volume útil do reator, ocasionando obstruções parciais ou totais de fluxo e a geração de caminhos preferenciais. Esses fenômenos, por sua vez, acarretam a redução do desempenho do reator ou mesmo a total impossibilidade de operação. Tais problemas foram anteriormente observados no RAHLF por Sarti et al. (2001), Lima (2001) e Rodriguez (2010). Damianovic (1997), contudo, avaliou a remoção de pentaclorofenol em um RAHLF de bancada por longo período e não observou tais desvios hidrodinâmicos.

No presente trabalho, a despeito da operação de longo prazo (572 dias) sem realização de descartes de biomassa, e a alimentação do RAHLF predominantemente com água residuária sintética de composição simples, não foi observada nenhuma obstrução do leito reacional. Embora não tenham sido realizados estudos hidrodinâmicos ao final da operação que possibilitassem inferir sobre a redução do volume útil, não foi verificada queda de desempenho do RAHLF que pudesse ser atribuída a esse efeito.

5.2.2. Reator Anaeróbio de Mistura e Biomassa Imobilizada (RAMBI)

A caracterização hidrodinâmica do RAMBI, realizada em condições abióticas previamente à inoculação do reator, forneceu a curva F apresentada na Figura 5.18.

Figura 5.18 - Fase 2: Curva F obtida por meio do ensaio hidrodinâmico em degrau para o RAMBI, com TDH teórico de 24 horas.

O ensaio hidrodinâmico realizado para o reator RAMBI resultou em um formato de curva típico de reatores com elevada mistura longitudinal, apresentando um aumento de sinal do traçador na corrente efluente praticamente desde o início do ensaio. Esse resultado mostra que a agitação magnética inserida no reator, associada com a pequena razão L/D, contribuíram para atingir o elevado grau de mistura almejado para esse reator, servindo de contraponto hidrodinâmico ao RAHLF.

O tempo de detenção hidráulica real obtido pelo ensaio hidrodinâmico foi de 7,8 h, para um TDH nominal de 24 h, demonstrando que grande parte do volume do reator não contribuiu para o escoamento, constituindo zonas mortas. Esse resultado é provavelmente

resultado de uma distribuição ineficiente do afluente no RAMBI durante o ensaio hidrodinâmico. A corrente de entrada do reator foi introduzida diretamente sobre a câmara de agitação, onde fica localizada a saída do efluente. Desta maneira, como o fluido se desloca mais facilmente na câmara de agitação do que no leito empacotado, o afluente pode ter sido conduzido em curto-circuito até a saída do reator, não tendo contato com a totalidade do leito reacional. Uma vez identificada essa falha de projeto, a entrada do reator foi realocada para sobre o leito reacional antes do início da operação. Embora não tenha sido realizado um ensaio hidrodinâmico após a mudança do posicionamento da entrada do reator para confirmar a efetividade dessa medida, não foram observadas quedas de desempenho do RAMBI ao longo de sua operação que pudessem ser atribuídas à presença de curto-circuito e consequente redução de seu volume útil.

O ajuste ao modelo de N reatores de mistura perfeita em série forneceu um parâmetro N de 1,9 reator, indicando que elevado grau de agitação foi atingido dentro do RAMBI. Atingiu-se, dessa maneira, o objetivo de avaliar um reator que apresente condições operacionais comparáveis às do RAHLF (volume útil, tipo e massa de meio suporte, inóculo, TDH e afluente), mas com padrões de escoamento fundamentalmente diferentes.

O RAMBI foi inoculado com as matrizes cúbicas de espuma de poliuretano apresentando uma concentração média de sólidos de $0,52 \pm 0,09$ g SSV.g espuma⁻¹. Esse valor representa uma concentração inicial de biomassa no reator de 9,67 g SSV.L⁻¹ de volume útil do reator. A condução da inoculação dos reatores RAHLF e RAMBI em paralelo, a partir do mesmo lodo anaeróbico, segundo o mesmo procedimento de inoculação e mesma massa de material suporte permitiu atingir uma concentração inicial de biomassa comparável nos dois reatores. A diferença observada entre a concentração inicial de biomassa nos dois reatores é resultado do maior volume útil medido no RAMBI.

O RAMBI foi operado por 367 dias, relativos a uma etapa de adaptação (Etapa 0) e dez etapas experimentais com alimentação de água residuária sintética (Etapas I a X). Não foram realizadas limpezas do leito reacional ou descarte de excesso de biomassa durante toda a operação do reator. A Figura 5.19 apresenta o monitoramento de DQO filtrada no RAMBI ao longo das etapas experimentais.

Figura 5.19 - Fase 2: Monitoramento de DQO filtrada do RAMBI.

Tabela 5.7 - Valores médios do monitoramento de DQO filtrada no RAMBI em todas as etapas experimentais.

Etapa	Duração (dias)	TDH (h)	DQO Filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹)		Eficiência de Remoção (%)
			Afluentes	Efluentes	
0	34	24	1028 ± 702	126 ± 77	86 ± 12
I	35	24	2091 ± 128	323 ± 39	84 ± 2
II	42	24	2084 ± 61	239 ± 63	88 ± 3
III	66	24	1048 ± 48	109 ± 19	90 ± 2
IV	29	24	531 ± 14	73 ± 13	86 ± 3
V	35	24	1536 ± 61	145 ± 30	91 ± 2
VI	38	24	2085 ± 103	154 ± 36	93 ± 2
VII	25	24	3957 ± 333	473 ± 194	88 ± 5
VIII	19	24	2114 ± 213	245 ± 78	89 ± 3
IX	26	16	2084 ± 87	252 ± 54	88 ± 3
X	18	8	2155 ± 183	379 ± 122	82 ± 6

Observou-se que a etapa de adaptação possibilitou um aumento progressivo da carga orgânica afluentes sem prejudicar a eficiência de remoção de DQO filtrada do reator. O RAMBI apresentou uma eficiência média de remoção de DQO filtrada de $86 \pm 12\%$ durante a Etapa 0, correspondente a uma DQO filtrada efluente média de 126 ± 77 mg O₂.L⁻¹.

Durante a Etapa I, o reator anaeróbio apresentou-se estável, permitindo caracterizar o comportamento do RAMBI antes da introdução de SMZ. A eficiência média de remoção de DQO filtrada nesse período foi de $84 \pm 2\%$. Com a contaminação do afluentes com SMZ na Etapa II a eficiência média observada foi de $88 \pm 3\%$. Assim como observado para o RAHLF, não foi verificada qualquer alteração significativa nos parâmetros de monitoramento do RAMBI entre as Etapas I e II, reforçando que as concentrações de SMZ utilizadas no presente trabalho são inferiores ao necessário para prejudicar a atividade da comunidade microbiana anaeróbia.

O RAMBI apresentou uma eficiência média de remoção de DQO filtrada de $88 \pm 4\%$ durante as Etapas I a X. O baixo desvio padrão apresentado demonstra que o reator manteve-

se estável ao longo de toda a operação, a despeito dos diversos tratamentos experimentais aplicados em todo esse período.

A Tabela 5.8 apresenta os valores médios de pH e alcalinidade afluentes e efluentes ao RAMBI ao longo de toda a operação.

Tabela 5.8 - Monitoramento de pH e alcalinidade no RAMBI durante as Etapas 0 a X.

Etapa	Duração (dias)	pH		Alcalinidade a Bicarbonato (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)		Alcalinidade Intermediária (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	
		Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
0	34	7,59 ± 0,20	7,64 ± 0,20	706 ± 130	782 ± 111	202 ± 27	293 ± 91
I	35	7,36 ± 0,17	7,58 ± 0,09	711 ± 107	906 ± 70	254 ± 32	308 ± 24
II	42	7,24 ± 0,12	7,63 ± 0,13	741 ± 31	987 ± 68	237 ± 28	292 ± 59
III	66	7,26 ± 0,17	7,69 ± 0,13	711 ± 38	852 ± 64	232 ± 27	244 ± 43
IV	29	7,31 ± 0,19	7,79 ± 0,06	693 ± 35	719 ± 54	224 ± 23	222 ± 20
V	35	7,29 ± 0,18	7,58 ± 0,10	703 ± 21	846 ± 37	246 ± 16	248 ± 29
VI	38	7,30 ± 0,12	7,53 ± 0,12	685 ± 53	897 ± 94	239 ± 21	263 ± 39
VII	25	7,47 ± 0,08	7,63 ± 0,05	1256 ± 81	1371 ± 210	428 ± 29	461 ± 88
VIII	19	7,39 ± 0,27	7,62 ± 0,11	649 ± 42	1070 ± 296	246 ± 27	330 ± 94
IX	26	7,24 ± 0,05	7,42 ± 0,07	668 ± 46	904 ± 121	237 ± 25	283 ± 51
X	18	7,24 ± 0,10	7,27 ± 0,10	651 ± 35	827 ± 94	237 ± 7	320 ± 12

De maneira similar ao encontrado para o RAHLF, o monitoramento de pH e alcalinidade no RAMBI corroboram a estabilidade do reator ao longo de toda a operação. O pH efluente não flutuou significativamente ao longo das etapas, mantendo-se na faixa adequada para a metanogênese. Observou-se a produção de alcalinidade a bicarbonato em todas as etapas experimentais, acompanhada de reduzida flutuação nas concentrações de alcalinidade intermediária, indicativos do estabelecimento de um processo metanogênico equilibrado. O monitoramento de ácidos graxos voláteis no RAMBI é apresentado na Figura 5.20.

Figura 5.20 - Fase 2: Valores médios de ácidos graxos voláteis efluentes ao RAHLF durante as etapas experimentais I a X. As barras de erros representam um desvio padrão do conjunto de dados experimentais.

De maneira similar ao observado para o RAHLF, os valores médios de ácidos graxos voláteis efluentes ao RAMBI foram baixos para todas as etapas experimentais. Mesmo com a elevação da DQO afluente realizada nas Etapas V, VI e VII e a redução do TDH nas Etapas IX e X, as concentrações efluentes médias permaneceram abaixo de 100 mg CH₃COOH.L⁻¹. Esse comportamento é compatível com as elevadas eficiências de remoção de DQO filtrada apresentadas pelo RAMBI ao longo da operação.

5.2.3. Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (UASB)

A curva F obtida para o ensaio hidrodinâmico no reator UASB é apresentada na Figura 5.21.

Figura 5.21 - Fase 2: Curva F obtida por meio do ensaio hidrodinâmico em degrau para o UASB, com TDH teórico de 24 horas.

O ensaio realizado para o reator UASB resultou em um formato de curva F esperado para um reator com pouca mistura longitudinal. O tempo de detenção hidráulica real obtido foi de 26,5 h, demonstrando reduzido desvio do TDH nominal esperado (24 h). Não é esperado, dessa maneira, que existam anomalias de escoamento significativas nesse reator.

O ajuste do modelo uniparamétrico de N reatores de mistura perfeita em série resultou em um valor de N igual a 46,5, indicando comportamento próximo ao de pistonado ideal, conforme as observações de Levenspiel (2000), discutidas anteriormente. Entretanto, é preciso levar em consideração que este ensaio foi conduzido sem a atividade biológica do lodo granular. A degradação anaeróbia, e consequente produção de biogás, resulta em considerável movimentação da manta de lodo, o que acarreta em significativa mistura longitudinal no interior do reator. Esse efeito não foi mensurado pelo ensaio. Dessa maneira, espera-se que o reator UASB apresente, durante a operação, maior grau de mistura do que o que foi mensurado no ensaio hidrodinâmico.

O reator UASB foi inoculado com 312 mL de lodo granular. O volume útil do reator após a inoculação foi de 1170 mL, resultando em uma concentração inicial de biomassa de 11,33 g SSV.L⁻¹ de volume útil do reator. Obteve-se, dessa forma, uma concentração inicial de sólidos no UASB semelhante à do RAHLF e do RAMBI.

O UASB foi operado por 357 dias entre as Etapas 0 a X. Não foram realizados descartes de excesso de biomassa ao longo da operação do reator. A Figura 5.22 apresenta o

monitoramento de DQO filtrada no UASB ao longo de todo o período de operação. A Tabela 5.9 apresenta os valores médios de DQO filtrada afluente e efluente, bem como as médias de eficiência de remoção observados para o UASB em todas as etapas experimentais.

Figura 5.22 - Fase 2: Monitoramento de DQO filtrada do UASB.

Tabela 5.9 - Valores médios do monitoramento de DQO filtrada no UASB em todas as etapas experimentais.

Etapa	Duração (dias)	TDH (h)	DQO Filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹)		Eficiência de Remoção (%)
			Afluente	Efluente	
0	24	24	1357 ± 667	152 ± 110	88 ± 4
I	35	24	2091 ± 128	391 ± 76	81 ± 4
II	42	24	2084 ± 61	229 ± 71	89 ± 4
III	66	24	1048 ± 48	123 ± 19	88 ± 2
IV	29	24	531 ± 14	90 ± 22	83 ± 4
V	35	24	1536 ± 61	193 ± 48	87 ± 3
VI	38	24	2085 ± 103	172 ± 36	92 ± 2
VII	25	24	3957 ± 333	615 ± 341	84 ± 9
VIII	19	24	2114 ± 213	309 ± 105	85 ± 5
IX	26	16	2084 ± 87	281 ± 70	87 ± 3
X	18	8	2155 ± 183	283 ± 88	86 ± 4

Observou-se elevadas eficiências de remoção de DQO filtrada desde o início da operação do UASB. Durante a etapa de adaptação (Etapa 0), o reator apresentou uma eficiência média de remoção de DQO filtrada de $88 \pm 4\%$, que foi ligeiramente superior à da Etapa I, $81 \pm 4\%$. Na Etapa II, contudo, a remoção de DQO filtrada foi superior, apresentando uma média de $89 \pm 4\%$ nesse período. Como observado para o RAHLF e o RAMBI, não foi verificada alteração da eficiência de remoção de DQO solúvel do UASB após a contaminação do afluente com SMZ.

De maneira geral, não se constatou flutuações acentuadas de desempenho no UASB ao longo de toda operação. O reator exibiu uma eficiência média de remoção de DQO filtrada de $87 \pm 5\%$ entre as Etapas 0 a X.

A Tabela 5.10 apresenta as médias de pH e alcalinidade afluentes e efluentes ao UASB ao longo de toda a operação.

Tabela 5.10 - Monitoramento de pH e alcalinidade no UASB durante as Etapas 0 a X.

Etapa	Duração (dias)	pH		Alcalinidade a Bicarbonato (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)		Alcalinidade Intermediária (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	
		Afluente	Efluente	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
0	24	7,68 ± 0,23	7,42 ± 0,17	666 ± 47	795 ± 120	200 ± 20	281 ± 37
I	35	7,36 ± 0,17	7,43 ± 0,07	711 ± 107	929 ± 84	254 ± 32	297 ± 46
II	42	7,24 ± 0,12	7,35 ± 0,74	741 ± 31	1009 ± 62	237 ± 28	301 ± 63
III	66	7,26 ± 0,17	7,63 ± 0,12	711 ± 38	856 ± 59	232 ± 27	247 ± 34
IV	29	7,31 ± 0,19	7,75 ± 0,08	693 ± 35	732 ± 46	224 ± 23	239 ± 31
V	35	7,29 ± 0,18	7,48 ± 0,13	703 ± 21	809 ± 40	246 ± 16	251 ± 24
VI	38	7,30 ± 0,12	7,59 ± 0,16	685 ± 53	888 ± 57	239 ± 21	247 ± 40
VII	25	7,47 ± 0,08	7,62 ± 0,14	1256 ± 81	1339 ± 187	428 ± 29	472 ± 102
VIII	19	7,39 ± 0,27	7,40 ± 0,09	649 ± 42	948 ± 213	246 ± 27	317 ± 78
IX	26	7,24 ± 0,05	7,30 ± 0,18	668 ± 46	881 ± 64	237 ± 25	298 ± 45
X	18	7,24 ± 0,10	7,26 ± 0,22	651 ± 35	833 ± 92	237 ± 7	285 ± 24

As médias de pH exibidas no efluente do UASB mantiveram-se estáveis ao longo das etapas experimentais, dentro da faixa desejada para o estabelecimento de um processo metanogênico equilibrado. De forma similar, foi observada a geração de alcalinidade a bicarbonato em todas as etapas experimentais, acompanhada de reduzida geração de alcalinidade intermediária, esse comportamento constata a ocorrência da digestão anaeróbia equilibrada. O monitoramento de ácidos graxos voláteis efluentes ao reator UASB é apresentado na Figura 5.23.

Figura 5.23 - Fase 2: Valores médios de ácidos graxos voláteis efluentes ao UASB durante as etapas experimentais I a X. As barras de erros representam um desvio padrão do conjunto de dados experimentais.

A concentração efluente de AGV no UASB permaneceu baixa em todas as etapas experimentais, inferior a $120 \text{ mg CH}_3\text{COOH.L}^{-1}$. O aumento da DQO afluente ao reator na Etapa VII resultou em um aumento na concentração efluente média de AGV em mais de 13 vezes em relação à etapa anterior. Em termos absolutos, contudo, a concentração observada na Etapa VII ainda é reduzida e não implicou em queda significativa de desempenho do UASB.

Foram obtidos perfis espaciais de DQO filtrada e SMZ no UASB ao final de cada etapa experimental. Entretanto, devido à grande movimentação do leito reacional promovida pela geração de biogás, não foram verificadas diferenças significativas de concentração entre os amostradores intermediários do reator. Dessa forma, os perfis obtidos não trouxeram informações relevantes e por isso não são apresentados.

5.3. Fase 2: Influência da DQO total afluente na remoção de sulfametazina

Os reatores anaeróbios foram alimentados com água residuária sintética em diferentes níveis de DQO total ao longo das Etapas II a VIII. Durante esse período, o tempo de detenção hidráulica dos reatores permaneceu inalterado em 24 h, assim como a concentração afluente de sulfametazina, mantida em $8,95 \pm 1,00 \mu\text{g.L}^{-1}$. A Figura 5.24 apresenta o monitoramento de DQO total e SMZ nos reatores durante esse período.

Figura 5.24 - Fase 2: Monitoramento de DQO total e SMZ nos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas II a VIII, em que se variou a DQO total af luente.

A DQO total af luente aos reatores foi reduzida de cerca de $3000 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ na Etapa II para $1700 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ na Etapa III e então $900 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ na Etapa IV. A água residuária sintética af luente foi então alterada para DQO totais crescentes de cerca de $2400 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ na Etapa V, $2900 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ na Etapa VI e então 6200 na Etapa VII. Por fim, retornou-se à condição do início desse tratamento experimental, com uma DQO total af luente de cerca de $3000 \text{ mg O}_2.\text{L}^{-1}$ na Etapa VIII.

Durante o início da contaminação do af luente com sulfametazina, efetuado na Etapa II, a concentração de SMZ efluente aos reatores apresentou valores crescentes até atingir um patamar de estabilidade. Vinte e quatro horas após o início da dosagem de SMZ, a concentração efluente do RAHLF era de $1,37 \text{ µg.L}^{-1}$, subindo para $3,02 \text{ µg.L}^{-1}$ após 72 horas e atingindo o patamar de $4,75 \pm 0,79 \text{ µg.L}^{-1}$, em que permaneceu até o fim da etapa. Esse comportamento indica a ocorrência de processos adsorptivos no leito do reator, que são fontes significativas de remoção de SMZ nos primeiros momentos de operação, em um regime transiente. O estabelecimento de uma média estável de remoção (inferior à remoção observada inicialmente) sugere a saturação do leito reacional e o estabelecimento do regime permanente.

A Figura 5.25 apresenta a representação, em *box-plot*, das eficiências de remoção de DQO total dos três reatores anaeróbios ao longo das Etapas II a VIII, juntamente com os valores nominais de DQO total afluyente em cada etapa experimental.

Figura 5.25 - Fase 2: Eficiência de remoção de DQO total dos reatores anaeróbios durante as Etapas II a VIII.

Verificou-se que a variação de DQO total afluyente aos reatores não afetou expressivamente a remoção de DQO total em nenhuma das etapas experimentais. Os reatores RAHLF, RAMBI e UASB mantiveram, por todo o período, eficiências médias de remoção de $91 \pm 3\%$, $90 \pm 2\%$ e $88 \pm 4\%$, respectivamente. Eficiências inferiores de remoção de DQO total foram observadas na Etapa IV, resultado da reduzida DQO total afluyente e da presença de um residual de DQO recalcitrante no efluente dos reatores.

A Tabela 5.11 apresenta os valores médios de DQO total afluyente e efluente aos reatores, bem como as eficiências de remoção médias observadas durante as Etapas II a VIII.

Tabela 5.11 - Valores médios do monitoramento de DQO total afluente e efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas II a VIII.

Etapa	DQO Total (mg O ₂ .L ⁻¹)				Eficiência de Remoção (%)		
	Afluente	RAHLF	RAMBI	UASB	RAHLF	RAMBI	UASB
II	3060 ± 171	312 ± 104	310 ± 67	337 ± 78	90 ± 4	90 ± 2	89 ± 3
III	1757 ± 132	153 ± 30	160 ± 21	211 ± 32	91 ± 1	91 ± 1	88 ± 2
IV	914 ± 79	121 ± 31	98 ± 18	139 ± 25	87 ± 3	89 ± 2	85 ± 3
V	2432 ± 263	194 ± 56	213 ± 40	286 ± 57	92 ± 3	91 ± 2	88 ± 2
VI	2919 ± 327	240 ± 46	243 ± 52	287 ± 56	91 ± 2	92 ± 2	90 ± 2
VII	6246 ± 811	432 ± 138	618 ± 228	807 ± 390	93 ± 2	90 ± 3	87 ± 5
VIII	3075 ± 518	332 ± 90	352 ± 99	472 ± 144	89 ± 2	89 ± 3	84 ± 7

Foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as eficiências de remoção de DQO total do RAHLF e do RAMBI na Etapa VII, e entre as eficiências de remoção do RAHLF e do UASB nas Etapas III, V e VII (teste *U* não-paramétrico de Mann-Whitney, a 5% de significância). Nessas situações o reator RAHLF apresentou desempenho superior aos dos outros reatores. É indicado, dessa forma, que as diferenças de ordem hidrodinâmica ocorrentes entre o RAHLF e o RAMBI tiveram menor influência no desempenho dos reatores do que as diferenças de imobilização da biomassa que existem entre o RAHLF e o UASB, frente às condições aplicadas ao longo das Etapas II a VIII.

A aplicação de DQO totais diferentes aos reatores resultou, contudo, em comportamentos distintos na remoção de sulfametazina ao longo das etapas experimentais. A Figura 5.26 apresenta a representação, em *box-plot*, das eficiências de remoção de SMZ dos três reatores anaeróbios ao longo das Etapas II a VIII, juntamente com os valores nominais de DQO total afluente em cada etapa experimental.

Figura 5.26 - Fase 2: Eficiência de remoção de SMZ dos reatores anaeróbios durante as Etapas II a VIII.

A redução da DQO total afluyente efetuada entre as Etapas II a IV não resultou em alterações expressivas nas eficiências de remoção de SMZ dos três reatores anaeróbios. A elevação da DQO total afluyente efetuada na Etapa V, contudo, acarretou em um aumento significativo da eficiência de remoção de SMZ. Para o RAHLF, a eficiência média de remoção de SMZ subiu de $50 \pm 8\%$ para $74 \pm 9\%$. No entanto, os aumentos subsequentes de DQO total afluyente efetuados nas Etapas VI e VII não tiveram o mesmo efeito, e a remoção de SMZ permaneceu no mesmo patamar. Durante a Etapa VIII, ao retornar as condições de alimentação para àquelas do início do estudo, a eficiência de remoção de SMZ dos reatores apresentou redução estatisticamente significativa (teste *U* não-paramétrico de Mann-Whitney, a 5% de significância) para os reatores RAHLF e UASB, embora não tenha retornado à eficiência de remoção verificada na Etapa II.

A Tabela 5.12 apresenta os valores médios de concentração de SMZ afluyente e efluente aos reatores anaeróbios, assim como a eficiência de remoção do antimicrobiano nas Etapas II a VIII.

Tabela 5.12 - Valores médios do monitoramento de SMZ no afluente e no efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas II a VIII.

Etapa	SMZ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				Eficiência de Remoção (%)		
	Afluente	RAHLF	RAMBI	UASB	RAHLF	RAMBI	UASB
II	$8,86 \pm 0,40$	$4,75 \pm 0,79$	$4,60 \pm 0,75$	$5,69 \pm 0,89$	46 ± 10	48 ± 9	36 ± 11
III	$8,30 \pm 0,99$	$4,13 \pm 1,07$	$4,76 \pm 0,91$	$4,51 \pm 0,96$	50 ± 15	43 ± 14	45 ± 15
IV	$8,31 \pm 1,39$	$4,06 \pm 0,57$	$4,90 \pm 0,74$	$5,12 \pm 0,50$	50 ± 8	40 ± 12	37 ± 8
V	$9,16 \pm 0,43$	$2,38 \pm 0,81$	$2,67 \pm 0,65$	$3,39 \pm 0,75$	74 ± 9	71 ± 7	63 ± 8
VI	$8,95 \pm 0,48$	$2,38 \pm 0,53$	$2,59 \pm 0,62$	$2,65 \pm 0,51$	74 ± 6	71 ± 7	70 ± 7
VII	$9,62 \pm 1,34$	$2,65 \pm 0,75$	$3,22 \pm 0,70$	$3,45 \pm 0,71$	72 ± 6	66 ± 6	64 ± 6
VIII	$10,34 \pm 0,35$	$3,87 \pm 0,47$	$4,05 \pm 0,35$	$4,68 \pm 0,12$	63 ± 5	61 ± 4	55 ± 2

Os resultados apresentados na Tabela 5.11 e na Tabela 5.12 demonstram uma ausência de correlação entre as alterações de eficiência de remoção de sulfametazina ao longo das etapas experimentais e o comportamento da remoção de DQO. Embora a eficiência de remoção de DQO total dos reatores anaeróbios tenha se mantido estável ao longo das Etapas II a VIII, a eficiência de remoção de SMZ aumentou significativamente da Etapa IV para a V, e o mesmo comportamento não foi verificado nos aumentos subsequentes de DQO total afluente, nas Etapas VI e VII.

Micropoluentes presentes em concentrações traço como os produtos farmacêuticos não constituem fonte de carbono ou energia suficiente para as comunidades bacterianas de sistemas de tratamento de efluentes. Nessa situação, a transformação desses compostos geralmente ocorre por cometabolismo (CLARA et al., 2005). Observou-se, nos ensaios em batelada da Fase 1, uma estreita relação entre a remoção de SMZ e a remoção de DQO, permitindo um ajuste adequado do modelo de cometabolismo de Criddle (1993). Esse modelo prevê uma associação entre a velocidade de consumo do cometabólito com a velocidade de consumo da fonte de carbono ou energia. Assim, a velocidade de degradação do cometabólito é acelerada devido à produção de compostos redutores associada à degradação do substrato de crescimento (DELGADILLO-MIRQUEZ et al., 2011). Assim, faz-se necessária uma avaliação da variação das velocidades observadas de remoção de DQO nos reatores e sua influência na velocidade de remoção de SMZ. A Figura 5.27 apresenta os perfis espaciais de

DQO filtrada e SMZ no RAHLF nas Etapas II a VIII. Os parâmetros de ajuste dos modelos cinéticos são apresentados na Tabela 5.13 e na Tabela 5.14.

Figura 5.27 - Fase 2: Perfis espaciais de SMZ e DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas II a VIII. As linhas representam o ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.

Tabela 5.13 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas II a VIII.

Modelo Ajustado								
$DQO_{fil}(\theta_h) = DQO_{fil}^{res} + (DQO_{fil}^0 - DQO_{fil}^{res}) \cdot e^{-k_{DQO} \cdot \theta_h}$								
Parâmetro		II	III	IV	V	VI	VII	VIII
k_{DQO}	(h ⁻¹)	0,22	0,61	0,98	0,60	0,62	0,12	0,20
DQO_{fil}^0	(mg O ₂ .L ⁻¹)	2034	1043	543	1504	2005	4069	2076
DQO_{fil}^{res}	(mg O ₂ .L ⁻¹)	93	95	90	97	119	189	166
R ²	(-.-)	0,9987	0,9979	0,9911	0,9998	0,9999	0,9951	0,9974

Tabela 5.14 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de SMZ do RAHLF nas Etapas II a VIII.

Modelo Ajustado								
$SMZ(\theta_h) = SMZ_{res} + (SMZ_0 - SMZ_{res}) \cdot e^{-k_{SMZ} \cdot \theta_h}$								
Parâmetro		II	III	IV	V	VI	VII	VIII
k_{SMZ}	(h ⁻¹)	0,18	0,26	0,44	0,44	0,40	0,07	0,09
SMZ_0	(µg.L ⁻¹)	9,18	8,53	8,09	8,98	9,57	10,60	10,10
SMZ_{res}	(µg.L ⁻¹)	4,87	3,83	4,07	2,08	2,64	0,89	2,52
R ²	(-.-)	0,9300	0,9168	0,9866	0,9954	0,9970	0,9748	0,9574

De maneira geral, os perfis obtidos de DQO filtrada e SMZ apresentaram-se associados em todas as etapas experimentais. A remoção de SMZ ocorreu nas seções do reator em que foi observada a remoção de DQO. A maior parte da remoção de DQO filtrada ocorreu nas seções iniciais do reator, como esperado tendo em vista o escoamento muito próximo ao pistonado apresentado pelo RAHLF e o elevado TDH empregado. Resultados similares foram obtidos por Amorim et al. (2005), em que até 92% da remoção de DQO observada em um RAHLF tratando água residuária sintética ocorreu na primeira seção do reator, correspondente a um quinto do volume útil total.

Até a Etapa VI, praticamente toda a remoção de DQO filtrada ocorreu antes das 12 horas do tempo de detenção hidráulica, indicando que o TDH de 24 h aplicado ao reator durante essas etapas é superior ao necessário para o tratamento da água residuária sintética. É explicado assim o desempenho semelhante apresentado pelo RAHLF e pelo RAMBI.

Observou-se, portanto, uma subutilização do volume útil do reator, sugerindo que a aplicação de tempos de detenção hidráulica mais curtos poderia ser efetuada sem prejuízo à remoção dos compostos alvo.

O ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual aplicado aos perfis espaciais de DQO filtrada permitiu a avaliação do perfil de velocidades de remoção de DQO filtrada dentro do RAHLF. Esses resultados são apresentados na Figura 5.28.

Figura 5.28 - Fase 2: Perfis de velocidade de remoção de DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas II a VIII.

As velocidades de remoção de DQO filtrada observadas nas Etapas II, III e IV não diferiram muito, a despeito da redução da DQO total afluyente efetuada nessas etapas. Velocidades máximas (iniciais) de 431 mg O₂.L⁻¹.h⁻¹, 581 mg O₂.L⁻¹.h⁻¹ e 443 mg O₂.L⁻¹.h⁻¹ foram observadas nas Etapas II, III e IV, respectivamente. O aumento da DQO total afluyente efetuado na Etapa V ocasionou expressiva elevação da velocidade de remoção de DQO filtrada no interior do reator. Observou-se uma velocidade máxima de 844 mg O₂.L⁻¹.h⁻¹ na Etapa V, que foi elevada para 1167 mg O₂.L⁻¹.h⁻¹ na Etapa VI. Na Etapa VII, contudo, o aumento subsequente de DQO total afluyente resultou em uma queda na velocidade de remoção observada para 474 mg O₂.L⁻¹.h⁻¹, valor similar ao apresentado nas Etapas II, III e

IV. Na Etapa VIII, a velocidade máxima de remoção observada foi ainda menor, 385 mg O₂.L⁻¹.h⁻¹.

Tendo em vista que um aumento de concentração de um substrato tende a aumentar a força motriz de processos de transferência de massa e também a velocidade de consumo para cinéticas sem inibição, não era esperado verificar uma redução na velocidade de consumo de DQO filtrada na Etapa VII. Essa observação leva a supor a ocorrência de inibição da biomassa no RAHLF durante esse período. O perfil espacial de pH do reator revelou todos os pontos de amostragem com pH acima de 7,30. Além disso, o perfil de ácidos graxos voláteis não apresentou concentrações elevadas de nenhum intermediário orgânico, o que leva a descartar a possibilidade de desequilíbrio do processo metanogênico. Dessa forma, durante a Etapa VII o RAHLF provavelmente apresentou inibição por excesso de substrato nas etapas iniciais da digestão anaeróbia.

Amorim et al. (2005) avaliaram o efeito do aumento da DQO afluyente em um RAHLF tratando água residuária sintética constituída de metanol e ácidos orgânicos voláteis, operado com um TDH fixo de 7 h. A DQO afluyente foi elevada gradualmente de 2000 mg O₂.L⁻¹ até 5000 mg O₂.L⁻¹ e não se observou redução na velocidade de remoção de DQO como verificado no presente trabalho. Essa diferença é provavelmente atribuída ao tipo de substrato empregado. As fontes de matéria orgânica empregadas por Amorim et al. (2005) dispensam os passos de hidrólise e acidogênese, nos quais provavelmente se localizou a inibição constatada no presente trabalho.

A melhora de desempenho na remoção de SMZ observada nos reatores na Etapa V está correlacionada com o expressivo aumento de velocidade de remoção de DQO filtrada observado nessa etapa. Essa observação está de acordo com o preconizado no modelo cinético de cometabolismo de Criddle (1993), em que a velocidade de remoção substrato cometabólico está vinculada com a velocidade de consumo do substrato de crescimento.

De acordo com essa hipótese, contudo, é também esperado um acréscimo na eficiência de remoção de SMZ da Etapa V para a Etapa VI, correlacionado com o aumento da velocidade observada de remoção de DQO filtrada. A eficiência de remoção de SMZ, entretanto, permaneceu inalterada entre as duas etapas. Esse resultado pode ser atribuído a dois motivos principais. É possível que o emprego da DQO como um macro indicador da concentração de matéria orgânica mascare o efeito de um intermediário específico da digestão anaeróbia, ao qual a transformação do antimicrobiano está de fato associada. Nessa situação,

enquanto a velocidade observada de remoção de DQO tenha aumentado entre as Etapas V e VI, a velocidade de remoção do composto orgânico associado à transformação de SMZ teria se mantido constante.

Um segundo obstáculo à interpretação dos desempenhos dos reatores anaeróbios frente aos diferentes tratamentos experimentais aplicados é a desconsideração da flutuação da concentração de biomassa ao longo das etapas experimentais. É possível que um aumento na concentração de biomassa no reator, entre as Etapas V e VI tenha resultado em velocidades específicas de remoção de DQO equivalentes nessas duas etapas e, portanto, remoções de SMZ similares.

Espera-se que a elevação da DQO total afluyente aos reatores tenha resultado em uma indução do crescimento microbiano, resultando em maior concentração celular nas etapas experimentais com maior DQO afluyente. Assim, a mensuração das velocidades de remoção de DQO normalizadas pelas concentrações de biomassa (velocidades específicas) permitiria uma análise mais robusta dos resultados experimentais. O acompanhamento da evolução do perfil de concentração de biomassa no RAHLF é apresentado na Figura 5.29. A Tabela 5.15 apresenta os parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual aplicado aos perfis espaciais de concentração de biomassa no RAHLF.

Figura 5.29 - Fase 2: Perfis espaciais de concentração de biomassa no RAHLF realizados ao início da operação (Dia 0), e ao final das Etapas VII (Dia 318), XI (Dia 471) e XIII (Dia 527). As linhas contínuas representam um ajuste de um modelo cinético de primeira ordem com residual.

Tabela 5.15 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de concentração de biomassa no RAHLF nas Etapas VII, XI e XIII.

Modelo Ajustado				
$X(\theta_h) = X^{res} + (X^0 - X^{res}) \cdot e^{-k_x \cdot \theta_h}$				
Parâmetro		VII	XI	XIII
k_x	(h ⁻¹)	0,23	0,33	0,28
X^0	(g SSV.g espuma ⁻¹)	11,60	5,44	8,37
X^{res}	(g SSV.g espuma ⁻¹)	0,33	0,55	0,41
R^2	(-.)	0,9497	0,9908	0,9908

O perfil de concentração de biomassa no RAHLF foi avaliado durante a inoculação e em outras três ocasiões ao longo da operação do reator, ao final das Etapas VII, XI e XIII. Foi observado um significativo aumento na concentração de biomassa no RAHLF após a inoculação, localizado principalmente nas seções iniciais do reator, nas quais ocorreu a maior parte da transformação do substrato afluente, conforme observado nos perfis espaciais da Figura 5.27. De maneira similar, não ocorreu variação significativa na concentração de

biomassa nas seções do reator correspondentes a um TDH superior a 16 h, indicando a reduzida atividade microbiana nessas seções finais.

A Figura 5.29 demonstra, também, que se estabeleceu um regime dinâmico na concentração de biomassa no interior do RAHLF, correlacionado com a DQO total afluyente média de cada etapa. Etapas experimentais com maior carga orgânica afluyente resultaram em maior concentração de biomassa no interior do reator. Por conseguinte, a redução da DQO afluyente acarretou em correspondente redução da concentração de biomassa. A DQO total afluyente média das Etapas VII, XI e XIII foi $6246 \pm 811 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, $3122 \pm 660 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ e $4999 \pm 349 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores resultaram em concentrações médias de biomassa de $2,38 \text{ mg SSV.mg espuma}^{-1}$, $1,17 \text{ mg SSV.mg espuma}^{-1}$ e $1,61 \text{ mg SSV.mg espuma}^{-1}$ ao longo das Etapas VII, XI e XIII, respectivamente.

Valores diferentes de concentração de biomassa no estado estacionário para cada concentração afluyente de substrato são decorrências diretas do equilíbrio dinâmico entre os processos de crescimento celular, decaimento endógeno, cisalhamento e arraste de biofilme. Para uma cinética de Monod, um aumento da concentração afluyente de substrato resulta em um aumento da velocidade específica de crescimento celular. A velocidade de decaimento endógeno, contudo, é independente da concentração de substrato e apresenta, geralmente, uma dependência de primeira ordem da concentração de biomassa (BATSTONE et al., 2002). O cisalhamento e arraste da biomassa, por sua vez, é função da velocidade de escoamento superficial no leito do reator, regulada pelo TDH aplicado e pela porosidade do leito.

Assim, a redução da DQO total afluyente efetuada entre as Etapas VII e XI resultou em uma redução da velocidade de crescimento de biomassa, ao passo que o decaimento endógeno e o cisalhamento permaneceram provavelmente inalterados, resultando em um decréscimo na concentração de biomassa até atingir o valor observado no estado estacionário na Etapa XI. Os resultados encontrados são coerentes com o modelo de biofilme em estado estacionário desenvolvido por Rittmann e McCarty (1980a), cuja representatividade e aplicabilidade em ampla gama de condições foram atestadas por estudos posteriores (RITTMANN e MCCARTY, 1980b; SKOWLUND, 1990). Baseando-se em um balanço energético entre a utilização de substrato e a energia requerida para a manutenção celular, esse modelo prevê que a massa de biofilme ativo em estado estacionário é proporcional à concentração de substrato disponível no meio líquido. Nessa situação, uma redução da concentração de substrato afluyente resulta em uma redução na massa de biofilme ativo no equilíbrio, enquanto

um aumento na concentração de substrato afluyente implica em um aumento da biomassa presente no sistema.

Do ponto de vista microbiológico, a limitação de substrato é um fator indutor do destacamento de biomassa de biofilmes (LANGER et al., 2014). É provável que o estabelecimento desse regime dinâmico de controle da concentração de biomassa no RAHLF seja um dos fatores responsáveis pela ausência de problemas de obstrução de fluxo no leito do reator, durante toda a operação de longa duração.

É possível, também, que a variação de DQO total afluyente efetuada nas Etapas II a VIII tenha influenciado as rotas metabólicas que ocorrem no interior dos reatores anaeróbios. Os perfis espaciais de ácidos graxos voláteis realizados no RAHLF nesse período, entretanto, não indicam uma mudança significativa no comportamento dos intermediários da digestão anaeróbia. Devido à baixa concentração de matéria orgânica afluyente e à elevada eficiência de remoção do reator, quase todas as amostras dos perfis espaciais realizados entre as Etapas II e VIII não apresentaram AGV em concentrações detectáveis. As exceções foram os perfis espaciais das Etapas II, VII e VIII, apresentados na Figura 5.30.

Figura 5.30 - Fase 2: Perfis espaciais de ácido acético e propiônico no RAHLF, durante as Etapas II, VII, e VIII.

Os principais intermediários do processo de digestão anaeróbia encontrados no RAHLF foram os ácidos acético e propiônico. As concentrações mais altas desses ácidos foram observadas no ponto de amostragem correspondente a 4,8 h de TDH, concomitantemente à queda mais expressiva no perfil de DQO. Os ácidos formados foram posteriormente consumidos ao longo do reator, resultando em baixas concentrações efluentes desses compostos. O RAHLF apresentou perfis muito similares de ácido acético e propiônico durante as Etapas II e VIII, em que as condições afluentes foram idênticas. Esse comportamento também foi verificado no perfil espacial de DQO filtrada apresentado na Figura 5.27.

Na Etapa VII, em que foi aplicada a maior concentração de DQO total afluente, as concentrações de ácidos graxos voláteis observadas no interior do reator aumentaram correspondentemente. Somente nessa etapa foram também observados outros AGV no interior do RAHLF, porém em baixas concentrações. Concentrações máximas de 113 mg.L⁻¹ de ácido málico, 41 mg.L⁻¹ de ácido isobutírico, 54 mg.L⁻¹ de ácido butírico, 113 mg.L⁻¹ de ácido isovalérico, 42 mg.L⁻¹ de ácido valérico, 64 mg.L⁻¹ de ácido fórmico e 57 mg.L⁻¹ de ácido láctico foram detectadas no primeiro ponto de amostragem do reator. Todos esses ácidos seguiram o mesmo perfil típico apresentado na Figura 5.30 e foram consumidos ao longo do reator até concentrações inferiores ao limite de detecção do método analítico.

Dessa maneira, o monitoramento do perfil espacial de ácidos graxos voláteis no RAHLF não permitiu inferir sobre a influência do aumento da DQO total afluente na alteração das rotas metabólicas no reator e consequentemente sobre o seu impacto na remoção de SMZ.

De maneira geral, a elevação da DQO total afluente aos reatores anaeróbios apresentou um efeito positivo sobre a remoção de sulfametazina desde que não ocasionasse redução na velocidade de remoção por efeitos inibitórios. Os tratamentos aplicados aos reatores anaeróbios durante as Etapas II a VIII não permitiram identificar diferenças significativas de comportamento entre as três configurações avaliadas. Infere-se, portanto, que a hidrodinâmica dos sistemas e o estado de agregação da biomassa não foram fatores determinantes no desempenho dos reatores anaeróbios, e consequentemente não refletiram na remoção de SMZ.

5.4. Fase 2: Influência do tempo de detenção hidráulica na remoção de sulfametazina

Os reatores anaeróbios foram alimentados segundo uma DQO total fixa (média de $3222 \pm 425 \text{ mg O}_2\text{L}^{-1}$) e tempos de detenção hidráulica decrescentes ao longo das Etapas VIII, IX e X. O TDH foi reduzido de 24 h na Etapa VIII para 16 h na Etapa IX e então 8 h na Etapa X. Durante todo esse período, a concentração afluyente de SMZ permaneceu inalterada, em um valor médio de $9,58 \pm 0,72 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$. A Figura 5.31 apresenta o monitoramento de DQO total e SMZ nos reatores durante esse período.

Figura 5.31 - Fase 2: Monitoramento de DQO total e SMZ nos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas VIII (TDH = 24h), IX (TDH = 16h) e X (TDH = 8h).

Embora a DQO total efluente dos reatores não apresentou grande variação ao longo das Etapas VIII, IX e X, é evidente o aumento da concentração efluente de SMZ dos três reatores. Enquanto a concentração efluente de SMZ encontrava-se estável em cerca de $4 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ na Etapa VII, ela foi elevada até cerca de $7,5 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ na Etapa X. A Figura 5.32 apresenta a representação, em *box-plot*, da eficiência de remoção de DQO total dos reatores anaeróbios durante as Etapas VIII, IX e X.

Figura 5.32 - Fase 2: Eficiência de remoção de DQO total dos reatores anaeróbios durante as Etapas VIII (TDH = 24h), IX (TDH = 16h) e X (TDH = 8h).

De maneira similar ao observado nas Etapas II a VIII, não se verificou uma distinção clara de desempenho entre os reatores anaeróbios em termos de remoção de DQO durante as Etapas VIII a X. A Tabela 5.16 apresenta os valores médios de DQO total afluente e efluente aos reatores, assim como as eficiências de remoção médias observadas durante as Etapas VIII a X.

Tabela 5.16 - Valores médios do monitoramento de DQO total no afluente e no efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas VIII a X.

Etapa	DQO Total (mg O ₂ .L ⁻¹)				Eficiência de Remoção (%)		
	Afluente	RAHLF	RAMBI	UASB	RAHLF	RAMBI	UASB
VIII	3075 ± 518	332 ± 90	352 ± 99	472 ± 144	89 ± 2	89 ± 3	84 ± 7
IX	3313 ± 400	335 ± 87	355 ± 86	420 ± 100	90 ± 3	89 ± 3	87 ± 3
X	3261 ± 352	483 ± 180	521 ± 148	592 ± 162	85 ± 5	84 ± 5	81 ± 5

Embora tenham sido observados valores de DQO total efluente ligeiramente superiores durante a Etapa X, pode-se concluir que a redução do tempo de detenção hidráulica não impactou expressivamente a eficiência de remoção de DQO total dos reatores. Entre os reatores, foram observadas diferenças de desempenho estatisticamente significativas (teste *U* não-paramétrico de Mann-Whitney, a 5% de significância) entre o RAHLF e o UASB nas Etapas VIII e IX, em que o RAHLF apresentou eficiência superior de remoção de DQO total. Para o reator UASB, o aumento de DQO total efluente pode ser explicado pelo aumento do arraste de biomassa causado pela elevação da velocidade ascensional no reator. Avaliou-se o arraste de biomassa dos reatores anaeróbios por meio da DQO particulada efluente ao longo das Etapas VIII a X, conforme apresentado na Tabela 5.17. O acréscimo médio de 172 mg O₂.L⁻¹ de DQO total efluente do UASB observado entre as Etapas IX e X é equivalente ao acréscimo de DQO particulada efluente observada no mesmo período, 170 mg O₂.L⁻¹. Para o RAHLF e o RAMBI, o acréscimo médio de DQO particulada efluente foi menos pronunciado, 29 mg O₂.L⁻¹ e 39 mg O₂.L⁻¹, respectivamente, demonstrando a menor susceptibilidade de reatores de leito fixo ao arraste da biomassa quando comparados a reatores de biomassa autoimobilizada ou suspensa.

Tabela 5.17 - DQO particulada média efluente aos reatores anaeróbios durante as Etapas VIII a X.

Etapa	DQO Particulada Efluente (mg O ₂ .L ⁻¹)		
	RAHLF	RAMBI	UASB
VIII	92 ± 25	107 ± 28	163 ± 52
IX	94 ± 44	103 ± 42	139 ± 48
X	123 ± 40	142 ± 42	309 ± 170

A Figura 5.33 apresenta a representação em *box-plot* da distribuição das eficiências de remoção de SMZ dos três reatores ao longo das Etapas VIII a X.

Figura 5.33 - Fase 2: Eficiência de remoção de SMZ dos reatores anaeróbios durante as Etapas VIII, IX e X.

As eficiências de remoção de SMZ, que se situavam em cerca de 60% na Etapa VIII, caíram para cerca de 30% na Etapa IX e então 20% na Etapa X, demonstrando o claro impacto negativo da redução do TDH nos reatores anaeróbios. A Tabela 5.18 apresenta os valores médios de concentração de SMZ afluente e efluente aos reatores anaeróbios, assim como a eficiência de remoção do antimicrobiano nas Etapas VIII a X.

Tabela 5.18 - Valores médios do monitoramento de SMZ no afluente e efluente dos reatores RAHLF, RAMBI e UASB durante as Etapas VIII a X.

Etapa	SMZ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				Eficiência de Remoção (%)		
	Afluente	RAHLF	RAMBI	UASB	RAHLF	RAMBI	UASB
VIII	$10,34 \pm 0,35$	$3,87 \pm 0,47$	$4,05 \pm 0,35$	$4,68 \pm 0,12$	63 ± 5	61 ± 4	55 ± 2
IX	$9,12 \pm 0,54$	$5,81 \pm 0,75$	$5,90 \pm 0,91$	$6,28 \pm 0,93$	36 ± 11	35 ± 13	31 ± 13
X	$9,35 \pm 0,49$	$7,42 \pm 0,57$	$7,65 \pm 0,52$	$7,65 \pm 0,28$	22 ± 6	18 ± 6	18 ± 5

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as eficiências de remoção de SMZ apresentadas pelos três reatores anaeróbios durante as Etapas IX e X (teste *U* não-paramétrico de Mann-Whitney, a 5% de significância). Durante a Etapa VIII, contudo a eficiência de remoção apresentada pelo UASB foi significativamente inferior às obtidas para o RAHLF e para o RAMBI.

A Figura 5.34 apresenta os perfis espaciais de DQO filtrada e SMZ no RAHLF durante as Etapas VIII a X. Os parâmetros de ajuste obtidos são apresentados na Tabela 5.19.

Figura 5.34 - Fase 2: Perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF submetido a diferentes TDH durante as Etapas VIII (24 h), IX (16 h) e X (8h). As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.

Tabela 5.19 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas VIII a X.

Modelo Ajustado				
$DQO_{fil}(\theta_h) = DQO_{fil}^{res} + (DQO_{fil}^0 - DQO_{fil}^{res}) \cdot e^{-k_{DQO} \cdot \theta_h}$				
Parâmetro		VIII	IX	X
k_{DQO}	(h ⁻¹)	0,20	0,30	0,54
DQO_{fil}^0	(mg O ₂ .L ⁻¹)	2076	2012	2034
DQO_{fil}^{res}	(mg O ₂ .L ⁻¹)	166	150	161
R^2	(-.-)	0,9974	0,9947	0,9995

A inclinação das linhas de ajuste dos perfis espaciais de DQO filtrada na Figura 5.34 demonstra que houve um aumento na velocidade de remoção de DQO filtrada com a redução do TDH no RAHLF. Esse fenômeno é possivelmente um efeito da redução da resistência à transferência de massa na fase líquida devido ao aumento da velocidade intersticial no leito do reator, que reduz a camada de líquido estagnado ao redor das biopartículas. De fato, a resistência à transferência de massa na fase líquida é frequentemente apontada como um fator limitante do desempenho de reatores de leito fixo (ZAIAT et al., 1996; ZAIAT et al., 2000; RAMOS et al., 2003).

Resultado similar foi obtido por Sarti et al. (2001), que avaliaram a transferência de massa em um RAHLF tratando água residuária sintética. Os autores observaram que a DQO efluente do reator operado com uma velocidade intersticial de 10 cm.h^{-1} foi 100% superior àquela observada para 50 cm.h^{-1} com o mesmo TDH. No presente trabalho, as velocidades intersticiais aplicadas ao RAHLF foram elevadas de $3,5 \text{ cm.h}^{-1}$ na Etapa VIII para $5,3 \text{ cm.h}^{-1}$ na Etapa IX e então $10,6 \text{ cm.h}^{-1}$ na Etapa X, velocidades muito inferiores à que resultou no melhor desempenho observado por Sarti et al. (2001). Indica-se, dessa maneira, que provavelmente a resistência à transferência de massa na fase líquida foi um fator limitante na operação do RAHLF no presente trabalho.

As velocidades máximas (iniciais) de remoção de DQO filtrada observadas nos perfis das Etapas VIII, IX e X foram $385 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}\text{.h}^{-1}$, $557 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}\text{.h}^{-1}$ e $1013 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}\text{.h}^{-1}$, respectivamente. Verifica-se, assim, que a velocidade observada de remoção de DQO filtrada alcançada na Etapa X é comparável àquela observada nas Etapas V ($844 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}\text{.h}^{-1}$) e VI ($1167 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}\text{.h}^{-1}$), embora não tenha resultado nas mesmas eficiências de remoção de sulfametazina. Os perfis espaciais de concentração de SMZ no RAHLF são apresentados na Figura 5.35, juntamente com os ajustes dos perfis espaciais de DQO filtrada.

Figura 5.35 - Fase 2: Perfis espaciais de SMZ no RAHLF, quando submetido a diferentes TDH durante as Etapas VIII (24 h), IX (16 h) e X (8 h).

Diferentemente do observado para os perfis espaciais de SMZ no RAHLF nas Etapas II a VIII (Figura 5.27), durante as Etapas IX e X, não foi verificada remoção de sulfametazina na seção do reator referente ao primeiro ponto de amostragem, justamente a seção em que ocorrem as maiores velocidades de remoção de DQO filtrada. Esse resultado demonstra uma desvinculação dos perfis de DQO filtrada e SMZ, diferentemente do apresentado pelo reator até então.

O comportamento das espécies intermediárias do processo de digestão anaeróbia não parece ter sido afetado significativamente pela alteração do TDH, conforme apresentado na Figura 5.36.

Figura 5.36 - Fase 2: Perfis espaciais de ácido acético e propiônico no RAHLF, quando submetido a diferentes TDH durante as Etapas VIII (24 h), IX (16 h) e X (8 h).

Novamente, os ácidos acético e propiônico foram os principais AGV observados no interior do RAHLF. A proporção relativa de formação dos dois ácidos manteve-se similar durante as três etapas e se observou uma redução na concentração dos AGV no interior do reator com a redução do TDH. Esse resultado está de acordo com o aumento da velocidade de conversão de DQO observado anteriormente nos perfis da Figura 5.34.

A Tabela 5.20 apresenta as velocidades superficiais e as cargas orgânicas volumétricas médias aplicadas ao RAHLF nas Etapas II a X, juntamente com as velocidades máximas observadas de remoção de DQO filtrada.

Tabela 5.20 - Velocidades superficiais e carga orgânica volumétrica média e velocidades máximas de remoção de DQO filtrada observadas no RAHLF nas Etapas II a X.

Etapa	TDH (h)	Velocidade Superficial (cm.h ⁻¹)	Carga Orgânica Volumétrica (kg O ₂ .m ⁻³ .d ⁻¹)	Velocidade Máxima de Remoção de DQO Filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹ .h ⁻¹)
II	24	3,5	3,1	431
III	24	3,5	1,8	581
IV	24	3,5	0,9	443
V	24	3,5	2,4	844
VI	24	3,5	2,9	1167
VII	24	3,5	6,2	474
VIII	24	3,5	3,1	385
IX	16	5,3	5,0	557
X	8	10,6	9,8	1013

Embora os tratamentos experimentais aplicados aos reatores anaeróbios durante as Etapas II a X tenham implicado, em última análise, em uma variação de carga orgânica volumétrica aplicada, os efeitos decorrentes no desempenho dos reatores foram notadamente distintos caso a variação de carga tenha ocorrido por variação da DQO afluente mantendo o TDH constante, ou por meio de variação do TDH mantendo-se a DQO afluente constante. Essa diferença de efeitos foi abordada anteriormente nos trabalhos de Nachaiyasit e Stuckey (1997a e 1997b), que avaliaram a influência de variações de carga afluente por variação isolada de TDH e DQO afluente em um reator anaeróbio compartimentado. Os autores ressaltam que, ao passo que o aumento da DQO na alimentação pode aumentar a força motriz de processos de transferência de massa e modificar a cinética de reações bioquímicas, o aumento de carga por mudança de TDH gera alterações de ordem hidrodinâmica, que além de aumentar o grau de mistura no reator e as forças de cisalhamento, podem influenciar até a transferência de elétrons interespecíes, por meio de alteração na distribuição espacial da comunidade microbiana em um biofilme.

A digestão anaeróbia depende do funcionamento coordenado de vários grupos microbianos responsáveis por partes de uma rede metabólica. O tempo de detenção hidráulica aplicado a um reator anaeróbio pode atuar na seleção de grupos de microrganismos e, portanto, modificar as respostas fundamentais da microbiota presente no reator. Arcand et al.

(1994) observaram que um aumento de carga orgânica por meio de redução no TDH resulta em um aumento na atividade de bactérias consumidoras de ácidos orgânicos em detrimento à atividade das bactérias acidogênicas consumidoras de glicose em um reator UASB tratando água residuária sintética. O TDH mostrou-se, assim, um parâmetro operacional de reatores anaeróbios que pode provocar alterações na composição das comunidades de um biofilme.

A mudança da composição microbiana no reator pode, por sua vez, alterar a resposta do sistema frente à remoção de micropoluentes. Barret et al. (2010) demonstraram que a alteração das condições de alimentação de um reator anaeróbio reduziu a transformação cometabólica de um hidrocarboneto aromático policíclico. Os autores sugeriram que a relação cometabólica está associada a uma rota metabólica específica da digestão anaeróbia, desfavorecida pela modificação das condições afluentes.

No presente trabalho, a redução do TDH dos reatores anaeróbios efetuada durante as Etapas VIII a X impactou negativamente a remoção de sulfametazina, ao passo que o desempenho dos reatores em relação à remoção de matéria orgânica permaneceu virtualmente inalterado. É possível, portanto, que a alteração hidrodinâmica imposta nessas etapas tenha alterado a dinâmica das populações microbianas, favorecendo microrganismos não associados à transformação cometabólica de sulfametazina, mas que continuaram desempenhando o papel necessário para a ocorrência da degradação anaeróbia completa dos macroconstituintes orgânicos.

Faz-se necessária, portanto, uma investigação detalhada do papel de grupos microbianos específicos do processo de digestão anaeróbia na remoção de sulfametazina. Com esse intuito, foram realizados alguns ensaios preliminares de remoção de SMZ por lodo granular em batelada com ácido acético e ácido propiônico presentes como única fonte de carbono disponível. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 5.37.

Figura 5.37 - Fase 2: Ensaio de remoção de SMZ por lodo granular em batelada com ácidos graxos voláteis individuais presentes como fonte de carbono.

Observou-se que a remoção de SMZ não se mostrou vinculada à remoção dos ácidos orgânicos. Ao passo que os ácidos foram removidos completamente após 50 horas de reação, a sulfametazina apresentou um perfil temporal linear constante durante as 150 horas do ensaio. Verificou-se, ainda, que a remoção de SMZ nos reatores com ácido acético e ácido propiônico foi inferior à observada no reator controle, em que não foi adicionada nenhuma fonte de carbono. Ou seja, os ácidos orgânicos não parecem exercer nenhum efeito indutor na degradação de SMZ, e toda a remoção observada nos ensaios pode ser atribuída a fenômenos adsorptivos. Assim, é pouco provável que a transformação cometabólica desse antimicrobiano esteja associada às rotas metabólicas anaeróbias de consumo de acetato ou propionato. Uma vez que se verificou o efeito indutor de sacarose na remoção de SMZ (Figura 5.8), é mais provável que o cometabolismo esteja associado aos passos hidrolítico e acidogênico do metabolismo anaeróbio. Estudos mais aprofundados são necessários para a identificação dos passos metabólicos da digestão anaeróbia aos quais está associada a degradação cometabólica da SMZ e então possibilitar a sua regulação por parâmetros de engenharia durante o projeto e operação de reatores anaeróbios.

5.5. Fase 3: Aplicação de água residuária de suinocultura ao RAHLF

Após a investigação da influência do TDH no desempenho dos reatores anaeróbios foi iniciada a Fase 3, de avaliação da remoção de SMZ presente em água residuária de suinocultura real. Optou-se por realizar esse tratamento experimental no RAHLF, devido à estabilidade operacional observada nas etapas anteriores e à maior quantidade de informações extraíveis desse reator por meio dos perfis espaciais.

A Etapa XI teve como objetivo o retorno do reator à linha de base operacional observada no tempo de detenção hidráulica de 24 horas, sendo alimentado com água residuária sintética. Uma vez verificada a estabilidade operacional iniciou-se a alimentação com água residuária de suinocultura real pré-sedimentada na Etapa XII, que então foi suplementada com sacarose durante a Etapa XIII. Durante todo o período, a concentração afluyente de SMZ foi mantida constante, em um valor médio de $9,21 \pm 0,72 \mu\text{g.L}^{-1}$. A Figura 5.38 apresenta o monitoramento de DQO total e SMZ no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII.

Figura 5.38 - Fase 3: Monitoramento de DQO total e SMZ no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII.

A Etapa XI foi marcada por uma instabilidade na composição da água residuária afluyente devido a uma mudança de lote do amido solúvel. Essa mudança ocasionou flutuações na DQO total afluyente ao reator, que por sua vez causou variação significativa na remoção de SMZ observada no RAHLF. Observou-se que a maior carga orgânica afluyente observada entre os dias de operação 412 e 440 resultaram nas menores concentrações efluentes de SMZ desse período. Como a alteração na composição da água residuária sintética durante esse período foi causada por variação na concentração de amido apenas, a alteração na eficiência de remoção de SMZ observada reforça o papel das reações de degradação de carboidratos na transformação de SMZ, como observado anteriormente para a sacarose na Fase 1 (Figura 5.8).

Durante o início da Etapa XII, o RAHLF foi alimentado com água residuária de suinocultura pré-sedimentada diluída com água de abastecimento na proporção 1:1 por seis dias. Uma vez verificada a estabilidade do reator, a diluição foi interrompida e o reator passou a ser alimentado com a água residuária em sua carga total, correspondente a uma DQO total afluyente média de $3782 \pm 274 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$. Na Etapa XIII, a suplementação do afluyente com sacarose exógena resultou em uma elevação da DQO total afluyente para uma média de $4999 \pm 349 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, sem prejudicar a eficiência de remoção de DQO do reator. A Tabela 5.21 apresenta os valores médios de DQO total e filtrada, afluentes e efluentes ao RAHLF durante as Etapas XI a XIII.

Tabela 5.21 - Valores médios do monitoramento de DQO total e filtrada do RAHLF durante as Etapas XI a XIII.

Etapa	DQO Total			DQO Filtrada		
	Afluyente ($\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$)	Efluyente ($\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$)	Eficiência (%)	Afluyente ($\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$)	Efluyente ($\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$)	Eficiência (%)
XI	3122 ± 660	190 ± 48	94 ± 2	1536 ± 318	145 ± 33	90 ± 3
XII	3782 ± 274	1101 ± 375	67 ± 6	2711 ± 159	946 ± 305	61 ± 6
XIII	4999 ± 349	1316 ± 202	74 ± 4	4040 ± 412	1004 ± 195	75 ± 4

A mudança de condição de alimentação de uma água residuária sintética para a água residuária de suinocultura real ocasionou sensível variação no desempenho do RAHLF em termos de remoção de DQO. A eficiência média de remoção de DQO total foi reduzida de $94 \pm 2\%$ na Etapa XI para $67 \pm 6\%$ na Etapa XII.

A aplicação do RAHLF para o tratamento de água residuária de suinocultura foi realizada com sucesso por Santos e Oliveira (2011), que alcançaram remoções médias de DQO total e DQO filtrada de 96% e 84%, respectivamente, para um TDH de 35,4 h. Para possibilitar o tratamento da água residuária bruta, os autores empregaram um sistema composto por quatro reatores horizontais em série com variados tipos de leito. O primeiro reator não foi preenchido com material suporte, apresentando uma manta de lodo. Dessa maneira, o sistema de reatores anaeróbios horizontais foi capaz de acomodar a alta carga de sólidos suspensos típica desse efluente, atingindo elevadas eficiências de remoção de DQO total.

A diferença entre a eficiência de remoção de DQO observada por Santos e Oliveira (2011) e a observada no presente trabalho pode ser provavelmente atribuída a diferenças de composição das águas residuárias de suinocultura avaliadas nos dois trabalhos. Embora os autores tenham empregado um TDH superior, o perfil espacial realizado no RAHLF neste trabalho indica que o TDH não foi um fator limitante na remoção de DQO, como pode ser observado na Figura 5.39. A Tabela 5.22 apresenta os parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas XI a XIII.

Figura 5.39 - Fase 3: Perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII. As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.

Tabela 5.22 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de DQO filtrada no RAHLF nas Etapas XI a XIII.

Modelo Ajustado				
$DQO_{fil}(\theta_h) = DQO_{fil}^{res} + (DQO_{fil}^0 - DQO_{fil}^{res}) \cdot e^{-k_{DQO} \cdot \theta_h}$				
Parâmetro		XI	XII	XIII
k_{DQO}	(h ⁻¹)	0,40	0,45	0,82
DQO_{fil}^0	(mg O ₂ .L ⁻¹)	1214	2803	3997
DQO_{fil}^{res}	(mg O ₂ .L ⁻¹)	106	1026	794
R^2	(-.-)	0,9996	0,9996	0,9999

Toda a remoção de DQO filtrada no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII ocorreu antes das 8 horas do tempo de detenção hidráulica, demonstrando não ter ocorrido limitação de ordem cinética na remoção de DQO. O monitoramento de ácidos graxos voláteis, apresentado na Figura 5.40, demonstra que a elevada DQO filtrada efluente ao RAHLF durante as Etapas XII e XIII não é referente a ácidos orgânicos voláteis, que foram completamente consumidos ao longo do reator nessas etapas. Sugere-se, dessa maneira, a presença de considerável fração de DQO recalcitrante ao tratamento anaeróbio na água residuária de suinocultura avaliada no presente trabalho.

Figura 5.40 - Fase 3: Perfis espaciais de ácido acético e propiônico no RAHLF durante as Etapas XII e XIII. As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.

A alimentação do RAHLF com água residuária de suinocultura real resultou em notável impacto na remoção de sulfametazina. A Figura 5.41 apresenta a representação, em *box-plot*, da distribuição das eficiências de remoção de SMZ no RAHLF ao longo das Etapas XI a XIII.

Figura 5.41 - Fase 3: Eficiência de remoção de SMZ do RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII.

O RAHLF apresentou uma eficiência de remoção média de SMZ de $42 \pm 18\%$ na Etapa XI, que decaiu para $7 \pm 14\%$ na Etapa XII e então $2 \pm 3\%$ na Etapa XIII, conforme sumarizado na **Erro! Fonte de referência não encontrada..** Valores negativos de eficiência de remoção de SMZ foram observados nas Etapas XII e XIII, e podem ser atribuídos à liberação de parte da sulfametazina adsorvida no lodo, assim como a pequenas flutuações na medição da concentração de SMZ efluente ao reator, visto a proximidade dos valores de concentração afluentes e efluentes observados nessas etapas.

Tabela 5.23 - Valores médios do monitoramento de SMZ do RAHLF durante as Etapas XI a XIII.

Etapa	SMZ		Eficiência de Remoção (%)
	Afluente ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Efluente ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
XI	$9,54 \pm 0,63$	$5,47 \pm 1,56$	42 ± 18
XII	$8,58 \pm 0,64$	$7,86 \pm 0,98$	7 ± 14
XIII	$8,87 \pm 0,19$	$8,73 \pm 0,32$	2 ± 3

Os resultados demonstram uma interrupção quase que total da remoção de SMZ no RAHLF após o início da alimentação com água residuária de suinocultura real. Os perfis espaciais de concentração de SMZ das Etapas XII e XIII, apresentados na Figura 5.42, demonstram perfis planos, sem remoção significativa do antimicrobiano. Tais resultados são coerentes com os achados de Mohring et al. (2009), que não observaram nenhuma remoção de sulfametazina durante a digestão anaeróbia de esterco suíno, mesmo com a remoção completa de outras sulfonamidas.

Figura 5.42 – Fase 3: Perfis espaciais de SMZ no RAHLF durante as Etapas XI, XII e XIII. As linhas contínuas representam um ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual.

A Tabela 5.24 apresenta os parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de SMZ do RAHLF nas Etapas XI a XIII.

Tabela 5.24 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual para os perfis espaciais de SMZ do RAHLF nas Etapas XI a XIII.

Modelo Ajustado				
$SMZ(\theta_h) = SMZ_{res} + (SMZ_0 - SMZ_{res}) \cdot e^{-k_{SMZ} \cdot \theta_h}$				
Parâmetro		XI	XII	XIII
k_{SMZ}	(h ⁻¹)	0,22	0	0
SMZ_0	(µg.L ⁻¹)	8,13	8,43	8,95
SMZ_{res}	(µg.L ⁻¹)	3,58	0	0
R^2	(-.-)	0,9689	.-	.-

Uma vez que o reator apresentou remoção de SMZ consistente nas etapas experimentais antecessoras, é seguro deduzir que o potencial enzimático para a degradação do antimicrobiano estava presente no consórcio microbiano estabelecido no RAHLF. A rápida interrupção da remoção do antimicrobiano com a substituição da alimentação de um meio sintético para uma água residuária real permite o levantamento de algumas hipóteses. É possível que os macronutrientes responsáveis pela indução da transformação biológica da sulfametazina não estivessem presentes na água residuária de suinocultura, ou que houvesse compostos inibidores da biodegradação de SMZ.

A avaliação da presença de carboidratos na água residuária de suinocultura revelou concentrações ínfimas desses compostos, em uma média de $17,7 \pm 7,9$ mg.L⁻¹. Os ensaios em batelada realizados na Fase 1 demonstraram que a adição de sacarose exógena favorece a biodegradação de SMZ durante a digestão anaeróbia (Figura 5.8). Contudo, a adição de considerável quantidade desse composto (1,78 g.L⁻¹) durante a Etapa XIII não resultou em melhora na remoção de SMZ, a despeito da total degradação da sacarose adicionada.

O emprego de uma água residuária real implica em uma elevação considerável da complexidade da matriz na qual foi avaliada a biotransformação da sulfametazina. Embora a água residuária de suinocultura bruta não tenha apresentado sulfametazina, foram detectados ciprofloxacino e enrofloxacino na ordem de concentração de µg.L⁻¹. Embora seja improvável que tais concentrações de antimicrobianos tão abaixo das concentrações terapêuticas sejam suficientes para alterar a comunidade microbiana anaeróbia presente no RAHLF a ponto de interromper a remoção de SMZ (Bauer et al., 2014; Liu et al., 2013), fica ilustrado o elevado grau de incerteza associado ao emprego de uma água residuária real. O desconhecimento da

composição da água residuária de suinocultura limita a identificação dos fatores que levaram à interrupção da remoção de SMZ no RAHLF. Faz-se necessária, portanto, uma investigação adicional com o intuito de identificar constituintes da água residuária de suinocultura que possam inibir a atividade microbiana responsável pela remoção desse fármaco.

Ao final da Etapa XIII, foram retiradas amostras de espumas colonizadas do leito do RAHLF para a avaliação da extensão dos fenômenos adsorptivos e a sua contribuição para a remoção global de SMZ. Como o reator apresentou, ao final dessa etapa experimental um perfil plano de concentração de SMZ na fase aquosa, decorre do equilíbrio adsorptivo caracterizado na Fase 1 que o perfil de concentração de sulfametazina em equilíbrio na fase sólida seja também plano. As amostras compostas retiradas de todos os pontos de amostragem do RAHLF forneceram uma concentração média de SMZ de $0,47 \pm 0,16 \mu\text{g.g SSV}^{-1}$. Esse valor é coerente com o coeficiente de partição da SMZ obtido por meio da isoterma de adsorção no lodo granular durante a Fase 1. Tomando-se a média de concentração de biomassa no RAHLF observada durante a Etapa XIII, a concentração média de SMZ aquosa apresentada nos perfis espaciais realizados nessa etapa e o coeficiente de partição calculado para o lodo granular anaeróbio, $K_p = 0,0717 \text{ L.g STV}^{-1}$, prevê-se uma concentração média de SMZ adsorvida no reator de $0,64 \mu\text{g.g STV}^{-1}$.

Levando-se em consideração a aproximação de sólidos suspensos voláteis para sólidos totais voláteis, assim como as diferenças esperadas entre os sítios de adsorção presentes em um biofilme aderido à espuma de poliuretano e no lodo granular, é possível inferir que o coeficiente de partição calculado na Fase 1 é capaz de prever razoavelmente bem a concentração de SMZ adsorvida em equilíbrio no RAHLF.

A concentração média de SMZ adsorvida calculada para o RAHLF ao fim da Etapa XIII corresponde a uma massa total de cerca de 16 μg de SMZ retida em todo o leito do reator. Esse valor corresponde a apenas 0,78% da massa total de SMZ removida ao longo da operação do RAHLF, entre as Etapas II e XIII. É importante ressaltar, também, que como o perfil espacial de SMZ da Etapa XIII não apresentou remoção do fármaco, a concentração de SMZ adsorvida no equilíbrio é a máxima possível para essa concentração afluente. Dessa maneira, durante as etapas experimentais em que foi verificada remoção de SMZ, a massa total retida no leito do reator foi necessariamente inferior à massa presente na Etapa XIII, devido à isoterma linear de adsorção do fármaco.

Como observado, a adsorção não representou um mecanismo significativo de remoção de SMZ no RAHLF. Para sistemas contínuos previamente não expostos a um micropoluente, a adsorção desempenha um papel significativo na remoção total apenas durante o período transiente no início da operação, enquanto o leito do reator não atingiu a concentração adsorvida máxima possível para dada concentração afluyente do micropoluente. Uma vez saturado o leito, a adsorção alcança um equilíbrio dinâmico e deixa de contribuir para a remoção do fármaco.

5.6. Avaliação da formação de produtos de degradação de sulfametazina

A avaliação da formação de produtos de biodegradação anaeróbia de sulfametazina foi realizada no RAHLF durante o período de estabilidade operacional da Etapa VI por meio da realização de um perfil espacial. Os produtos de degradação (PD) da sulfametazina detectados no RAHLF são apresentados na Figura 5.43.

Figura 5.43 - Estrutura química proposta dos quatro produtos de biodegradação anaeróbia da sulfametazina monitorados no RAHLF.

A Figura 5.44 apresenta um cromatograma com as transições monitoradas para os quatro produtos de degradação identificados. Observa-se a diferença de tempo de retenção entre os produtos de degradação N¹-Hidroxi-SMZ e N⁴-Hidroxi-SMZ.

Figura 5.44 - Cromatograma apresentando os quatro produtos de biodegradação anaeróbia de SMZ.

Foram identificados quatro produtos distintos da biodegradação anaeróbia da sulfametazina no RAHLF. Um dos produtos de degradação encontrados, apresentando relação massa/carga (m/z) de 454 para a ocorrência da molécula monoprotônica (uma carga) e 227 para a molécula duplamente protonada (duas cargas), é referente à incorporação de uma hexose derivada do ácido glucurônico na posição N¹, denominada N¹-Glucoronamida-SMZ. Foi também observada a ocorrência de um produto de degradação referente à adição de um radical orgânico formil na posição N⁴, apresentando m/z de 307. Outros dois produtos de degradação hidroxilados foram identificados, com relação m/z de 295, relativos à adição de uma hidroxila nas posições N¹ e N⁴.

Todos os produtos de biodegradação detectados no reator anaeróbio são derivatizados da sulfametazina, apresentando massa superior ao composto original, em oposição a fragmentos da molécula de sulfametazina, que seriam esperados caso o antibiótico fosse utilizado como fonte de carbono. Esse comportamento indica que a sulfametazina, no nível de

concentração empregado neste estudo, não faz parte de rotas metabólicas centrais do consórcio microbiano presente no reator.

Alguns autores atribuem a formação de produtos de transformação derivatizados a um mecanismo de inativação da ação antimicrobiana do fármaco, envolvido na formação de resistência bacteriana. De fato, Kushima (1967) demonstrou que a N¹-Glucoronamida-Sulfadimetoxina não apresentou atividade antimicrobiana para cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* nas faixas de concentração de 31 a 500 mg.L⁻¹, contrariamente ao observado para a sulfonamida não modificada. Majewski et al. (2014), entretanto, demonstraram por meio de ensaios de bioluminescência que produtos de degradação da sulfonamida sulfametoxazol transformados na posição N⁴ podem continuar exercendo efeitos ecotoxicológicos, em alguns casos até mais do que o composto inalterado.

A formação de PD hidroxilados de sulfonamidas durante a digestão anaeróbia já foi verificada anteriormente por Mohring et al. (2009), que identificaram um metabólito de sulfadiazina hidroxilado no anel heterocíclico, em ensaio de digestão aneróbia de esterco suíno. A ocorrência de hidroxilação de sulfonamidas na posição N⁴ foi observada por Gauthier et al. (2010) em experimentos em que a degradação da sulfonamida ocorreu por cometabolismo aeróbio. Os autores ressaltam que o metabólito identificado não foi encontrado em ensaios abióticos de degradação, e não poderia ser previsto considerando apenas fenômenos físico-químicos. De fato, García-Galán et al. (2011) identificaram a hidroxí-SMZ (sem confirmação da posição da hidroxila na molécula) como um produto da degradação enzimática de sulfametazina por lacase e também não verificaram a sua formação nos controles abióticos.

A Figura 5.45 apresenta os perfis espaciais de cada um dos produtos de biodegradação monitorados no RAHLF. Devido à ausência de padrões analíticos dos produtos de transformação biológica, não se pode quantificar os PD, ou mesmo inferir sobre a proporção relativa de formação dos diferentes PD. Os resultados obtidos permitem, contudo, avaliar a variação mássica dos PD ao longo do reator. Os gráficos apresentados indicam a área do pico cromatográfico detectado, normalizado pela maior área obtida em cada perfil (A₀).

Figura 5.45 - Perfis espaciais dos produtos de biodegradação anaeróbia da sulfametazina no RAHLF. O preenchimento sólido representa o ajuste do modelo cinético de primeira ordem com residual obtido para o perfil espacial de SMZ na Etapa operacional em que foram analisados os produtos de biodegradação.

Todos os produtos de degradação monitorados foram produzidos concomitantemente à degradação da sulfametazina, antes de seis horas de detenção hidráulica. Após sua formação, os produtos de degradação foram gradualmente removidos ao longo do reator, em velocidades aparentemente independentes das velocidades de remoção de sulfametazina e de DQO,

sugerindo que o mecanismo de remoção destes compostos é diferente daquele pelo qual a SMZ é degradada. A remoção dos PD também não foi acompanhada de um aumento da concentração de SMZ, indicando que é improvável que os PD derivatizados tenham sido convertidos de volta ao composto original, como é frequentemente postulado na literatura.

O perfil espacial de DQO filtrada e SMZ do RAHLF realizado nessa etapa (VI), apresentado na Figura 5.27, demonstrou que a atividade microbiana estava concentrada na porção inicial do reator, com praticamente toda remoção de DQO e de sulfametazina ocorrendo antes das seis primeiras horas de detenção hidráulica. Verificou-se, também, que os perfis espaciais de SMZ e DQO apresentaram-se associados, com a remoção de sulfametazina ocorrendo concomitantemente à remoção de DQO. Além disso, na ausência de remoção de DQO, verificada após 12 h de TDH, nenhuma transformação de SMZ é observada. Esse comportamento indica que a degradação de sulfametazina ocorre por cometabolismo. Nessa situação, a presença de matéria orgânica facilmente degradável induz a produção de enzimas e cofatores cuja baixa especificidade ao substrato de crescimento acarreta na transformação fortuita do antibiótico (Criddle, 1993).

A remoção de produtos farmacêuticos em sistemas biológicos de tratamento de efluentes é frequentemente atribuída ao cometabolismo. Como esses compostos estão presentes em níveis de concentração traço, a energia gerada por sua biodegradação não é suficiente para promover o crescimento microbiano e induzir as enzimas e cofatores necessários para a sua degradação. Dessa maneira, a presença de compostos capazes de sustentar a comunidade microbiana é indispensável para a biodegradação de fármacos (Tran et al., 2013).

Uma vez que a transformação cometabólica é conduzida por enzimas de baixa especificidade agindo sobre substâncias que não são o seu substrato natural, o destino dos produtos de degradação cometabólicos é dependente da cultura degradadora. Em culturas bacterianas puras, os produtos cometabólicos tendem a acumular, uma vez que não apresentam função metabólica. Em consórcios microbianos, contudo, os produtos de transformação cometabólica podem ser subsequentemente degradados em outros processos cometabólicos, ou podem fazer parte de rotas metabólicas centrais de outros organismos do consórcio. Nesta situação o cometabolismo e o metabolismo estão intimamente relacionados na formação de uma complexa rede metabólica, intrínseca a toda a comunidade microbiana (Fischer e Majewski, 2014). O conjunto dessas relações sintróficas na degradação de

micropoluentes e outros compostos xenobióticos foi didaticamente sumarizado no modelo elaborado por Knackmuss (1996), apresentado na Figura 5.46

Figura 5.46 - Modelo de cometabolismo de um composto xenobiótico por um consórcio microbiano. As seqüências de flechas indicam rotas cometabólicas que levam a produtos *dead-end* (●). A transferência interespecífica de tais produtos por meio de relações sintróficas (flechas horizontais) pode levar à completa mineralização do composto (seqüência a-g). Adaptado de Knackmuss (1996).

A remoção dos produtos de degradação ao longo do reator indica a sua presença como intermediários da degradação biológica da sulfametazina, sendo subsequentemente transformados por outros processos. Nesse contexto, a formação dos produtos de degradação identificados pode ser entendida como um passo inicial na seqüência de reações envolvidas na quebra da molécula, reduzindo a sua estabilidade química e aumentando a propensão à clivagem. Jiang et al. (2014) avaliaram a degradação da sulfonamida sulfametoxazol por culturas de *Pseudomonas psychrophila* e identificaram quatro produtos de degradação do

antibiótico. Os autores postularam a ocorrência de um intermediário hidroxilado na posição N¹ como um possível passo na clivagem da molécula. De maneira similar, Ricken et al. (2013) apresentaram uma nova rota metabólica da biodegradação de sulfonamidas em que a fragmentação da molécula ocorre após a formação de um metabólito hidroxilado instável.

A remoção relativa de N⁴-formil-SMZ observada foi notadamente inferior à dos demais produtos de degradação. Curiosamente, esse comportamento já havia sido relatado na literatura. Em ensaios de biodegradação de sulfametazina em batelada pelo fungo *Trametes versicolor*, ocorreu a formação de N⁴-formil-SMZ concomitantemente à remoção de SMZ, e o produto de degradação apresentou pouca remoção após mais de 80 horas de reação, gerando um perfil muito similar ao observado no presente trabalho (GARCÍA-GALÁN et al., 2011).

Não foi possível, contudo, caracterizar as transformações subsequentes sofridas pelos produtos da degradação anaeróbia analisados. Produtos finais (*dead-end*) da degradação anaeróbia não foram identificados. A maioria dos trabalhos que avaliaram as rotas de biodegradação de sulfonamidas baseou-se em culturas puras e em concentrações em que os antimicrobianos poderiam ser utilizados como fonte de carbono. Nessas situações, o acúmulo de metabólitos finais foi frequente.

Ensaio de degradação de sulfametazina (50 mg.L⁻¹) por bactérias isoladas apresentaram a molécula de 2-amino-4,6-dimetilpirimidina como o metabólito final da degradação de sulfametazina, após a mineralização da porção benzílica da molécula (Topp et al., 2013). Resultados similares foram obtidos por Tappe et al. (2013), para a degradação biológica de sulfadiazina (10 mg.L⁻¹) que resultou no acúmulo de um metabólito referente ao radical orgânico dessa sulfonamida. Müller et al. (2013) também relataram a acumulação da região heterocíclica (3-amino-5-metil-isoxazol) de sulfametoxazol em ensaios aeróbios de biodegradação dessa sulfonamida. Esses trabalhos evidenciam a recalcitrância dos anéis heteroaromáticos das sulfonamidas, mesmo em situações em que estes estão presentes como possíveis fontes de carbono e nutrientes.

No presente trabalho, a ausência de acúmulo de produtos de transformação *dead-end* pode ser atribuída a maior diversidade e complexidade do consórcio microbiano anaeróbio, que teria sido capaz de continuar a transformação dos produtos de degradação até a sua incorporação ou mineralização. É também possível que a metodologia analítica empregada para a análise dos PD não tenha conseguido pré-concentrar os metabólitos até níveis detectáveis, visto que a concentração inicial de sulfametazina empregada neste estudo (10

$\mu\text{g.L}^{-1}$) é diversas ordens de grandeza inferior às utilizadas nos ensaios para detecção de produtos de degradação encontrados na literatura. Estudos posteriores visando a caracterização das transformações subsequentes sofridas pelos produtos de degradação da sulfametazina são interessantes para elucidar as rotas metabólicas pelas quais esse composto é biodegradado em sistemas anaeróbios.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos e discussões apresentadas para os experimentos realizados nos reatores anaeróbios em escala de bancada, foi possível concluir com base nos objetivos:

- As diferenças de ordem hidrodinâmica e de estado de agregação da biomassa existentes entre os reatores RAHLF, RAMBI e UASB não resultaram em diferenças expressivas de desempenho dos reatores na remoção de SMZ para as condições experimentais testadas;
- As condições operacionais que permitiram máxima remoção de SMZ a $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ foram TDH de 24 h e DQO total afluente de $3000 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, que resultaram em eficiências médias de remoção de SMZ de 74%, 71% e 70% para os reatores RAHLF, RAMBI e UASB, respectivamente;
- A redução do tempo de detenção hidráulica aplicado aos reatores anaeróbios de 24 h para 16 h e 8 h exerceu efeito negativo sobre a biodegradação de sulfametazina;
- A SMZ apresentou-se estável sob condições abióticas por 12 dias. A adsorção de SMZ no lodo biológico anaeróbio é responsável por remoção significativa do antimicrobiano da fase líquida para ensaios em batelada com lodo previamente não exposto ao fármaco. Entretanto, a adsorção não é um mecanismo de remoção significativo de SMZ em reatores contínuos, como foi quantificado para o RAHLF;
- Foram identificados quatro produtos de biodegradação anaeróbia da sulfametazina no RAHLF: N^1 -Glucoronamida-SMZ, N^4 -Formil-SMZ, N^1 -Hidroxi-SMZ e N^4 -Hidroxi-SMZ. Todos os produtos formados foram subsequentemente transformados ao longo do reator;
- A biodegradação anaeróbia de SMZ é favorecida pelo aumento da velocidade de degradação da matéria orgânica, indicando o cometabolismo como mecanismo de remoção biológica desse antimicrobiano.

7. SUGESTÕES

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho e dos obstáculos encontrados, propõe-se, para trabalhos futuros dentro do mesmo tema de pesquisa:

- Investigação dos passos metabólicos da degradação anaeróbia aos quais está vinculada a degradação de sulfametazina, por meio da avaliação individual dos macronutrientes presentes na água residuária sintética;
- Determinação de parâmetros cinéticos intrínsecos da biodegradação anaeróbia da sulfametazina;
- Caracterização das mudanças metabólicas ocorrentes na comunidade bacteriana dos reatores anaeróbios frente à redução do TDH;
- Investigação do papel de grupos microbianos específicos do processo de digestão anaeróbia na remoção de SMZ;
- Avaliação da composição da água residuária de suinocultura com o intuito de identificar a presença de compostos inibidores à biodegradação de SMZ;
- Continuidade da identificação dos produtos da biodegradação anaeróbia da SMZ, buscando identificar as transformações subsequentes dos intermediários avaliados no presente trabalho.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEGGLEN, C.; JOSS, A.; McARDELL, C.S.; FINK, G.; SCHLÜSENER, M.P.; TERNES, T.A.; SIEGRIST, H. (2009) The fate of selected micropollutants in a single-house MBR. **Water Research**, v. 43, p. 2036-2046.
- ABREU NETO, M. S. (2007) **Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reator anaeróbio compartimentado seguido de reator UASB**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2007.
- ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. (2014) Development and 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, p. 406-414.
- AL-AHMAD, A.; DASCHNER, F. D.; KÜMERER, K. (1999) Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of wastewater bacteria. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 37, p. 158-163.
- ALEXY, R.; KÜMPEL, T.; KÜMMERER, K. (2004) Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test. **Chemosphere**, v. 57, p. 505-512.
- ALVARINO, T.; NASTOLD, P.; SUAREZ, S.; OMIL, F.; CORVINI, P. F. X.; BOUJU, H. (2016) Role of biotransformation, sorption and mineralization of ¹⁴C-labelled sulfamethoxazole under different redox conditions. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 706-715.
- AMORIM, A. K. B.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (2005) Performance and stability of an anaerobic fixed bed reactor subjected to progressive increasing concentrations of influent organic matter and organic shock loads. **Journal of Environmental Management**, v. 76, p. 319-325.

- APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA, 2005.
- ARCAND, Y.; GUIOT, S. R.; DESROCHERS, M.; CHAVARIE, C. (1994) Impact of the reactor hydrodynamics and organic loading on the size and activity of anaerobic granules. **The Chemical Engineering Journal**, v. 56, p. 23-35.
- AYDIN, S.; CETECIOGLU, Z.; ARIKAN, O.; INCE, B.; OZBAYRAM, E. G.; INCE, O. (2015) Inhibitory effects of antibiotic combinations on syntrophic bacteria, homoacetogens and methanogens. **Chemosphere**, v. 120, p. 515-520.
- AZIZIAN, S. (2004) Kinetic models of sorption: a theoretical analysis. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 276, n. 1, p. 47-52.
- BARAN, W.; ADAMEK, E.; ZIEMIAŃSKA, J.; SOBCZAK, A. (2011) Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. **Journal of Hazardous Materials**, v. 196, p. 1-15.
- BARRET, M.; CARRÈRE, H.; DELGADILLO, L.; PATUREAU, D. (2010) PAH fate during the anaerobic digestion of contaminated sludge: Do bioavailability and/or cometabolism limit their biodegradation? **Water Research**, v. 44, p. 3797-3806.
- BATT, A. L.; KIM, S.; AGA, D. S. (2007) Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations. **Chemosphere**, v. 68, p. 428-435.
- BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIDAKI, I.; KALYUZHNYI, S. V.; PAVLOSTATHIS, S. G.; ROZZI, A.; SANDERS, W. T. M.; SIEGRIST, H.; VAVILIM, V. A. (2002) The IWA Anaerobic Digestion Model no 1. (ADM1). **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 65-73.
- BAUER, A.; LIZASOAIN, J.; NETTMANN, E.; BERGMANN, I.; MUNDT, K.; KLOCKE, M.; RINCÓN, M.; AMON, T.; PIRINGER, G. (2014) Effects of the antibiotics chlortetracycline and enrofloxacin on the anaerobic digestion in continuous experiments. **Bioenergy Research**, v. 7, n. 4, p. 1244-1252.

- BEN, W.; PAN, X.; QIANG, Z. (2013) Occurrence and partition of antibiotics in the liquid and solid phases of swine wastewater from concentrated animal feeding operations in Shandong Province, China. **Environmental Science Processes & Impacts**, v. 14, n. 4, p. 870-875.
- BERGMANN, B. A.; CHENG, J.; CLASSEN, J.; STOMP, A. (2000) In vitro selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation. **Bioresource Technology**, v. 73, p. 13-20.
- BIALK-BIELINSKA, A.; STOLTE, S.; ARNING, J.; UEBERS, U.; BÖSCHEN, A.; STEPNOWSKI, P.; MATZKE, M. (2011) Ecotoxicity evaluation of selected sulfonamids. **Chemosphere**, v. 85, p. 928-933.
- BOXALL, A. B. A.; BLACKWELL, P.; CAVALLO, R.; KAY, P.; TOLLS, J. (2002) The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. **Toxicology Letters**, v. 131, p. 19-28.
- BRANDT, E. M. F.; QUEIROZ, F. B.; AFONSO, R. J. C. F.; AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. (2013) Behaviour of pharmaceuticals and endocrine disrupting chemicals in simplified sewage treatment systems. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 718-726.
- CAMPAGNOLO, E. R.; JOHNSON, K. R.; KARPATI, A.; RUBIN, C. S.; KOLPIN, D. W.; MEYER, M. T.; ESTEBAN, J. E.; CURRIER, R. W.; SMITH, K.; THU, K. M.; MCGEEHIN, M. (2002) Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. **Science of the Total Environment**, v. 299, n. 1-3, p. 89-95.
- CARBALLA, M.; OMIL, F.; ALDER, A. C.; LEMA, J. M. (2006) Comparison between the conventional anaerobic digestion of sewage sludge and its combination with a chemical or thermal pre-treatment concerning the removal of pharmaceuticals and personal care products. **Water Science and Technology**, v. 53, n. 8, p. 109-117.
- CARBALLA, M.; OMIL, F.; TERNES, T.; LEMA, J. M. (2007) Fate of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) during anaerobic digestion of sewage sludge. **Water Research**, v. 41, p. 2139-2150.

- CETECIOGLU, Z.; INCE, B.; GROS, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D.; INCE, O.; ORHON, D. (2015) Biodegradation and reversible inhibitory impact of sulfamethoxazole on the utilization of volatile fatty acids during anaerobic treatment of pharmaceutical industry wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 536, p. 667-674.
- CHAPARRO, T. R.; BOTTA, C. M.; PIRES, E. C. (2010) Toxicity and recalcitrant compound removal from bleaching pulp plant effluents by an integrated system: anaerobic packed-bed bioreactor and ozone. **Water Science & Technology**, v. 61, n. 1, p. 199-205.
- CLARA, M.; KREUZINGER, N.; STRENN, B.; GANS, O.; KROISS, H. (2005) The solids retention time - a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. **Water research**, v. 39, n. 1, p. 97-106.
- CRIDDLE, C. S. (1993) The kinetics of cometabolism. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 41, p. 1048-1056.
- DALTON, H.; STIRLING, D.I. (1982) Co-metabolism. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 297, p. 481-496.
- DAMIANOVIC, M. H. R. Z. (1997) Degradação de pentaclorofenol (PCP) em reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF). 176 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1997.
- DE LIGUORO, M.; FIORETTO, B.; POLTRONIERI, C.; GALLINA, G. (2009) The toxicity of sulfamethazine to *Daphnia magna* and its additivity to other veterinary sulfonamides and trimethoprim. **Chemosphere**, v. 75, p. 1519-1524.
- DELGADILLO-MIRQUEZ, L.; LARDON, L.; STEYER, J.P.; PATUREAU, D. (2011) A new dynamic model for bioavailability and cometabolism of micropollutants during anaerobic digestion. **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4511-4521.
- DÍAZ-CRUZ, M. S.; GARCÍA-GALÁN, M. J.; BARCELÓ, D. (2008) Highly sensitive simultaneous determination of sulfonamide antibiotics and one metabolite in environmental waters by liquid chromatography-quadrupole linear ion trap-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1193, n. 1-2, p. 50-59.

- DOLLIVER, H.; KUMAR, K.; GUPTA, S. (2007) Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, n. 4, p. 1224-1230.
- DOLLIVER, H.; GUPTA, S.; NOLL, S. (2008) Antibiotic degradation during manure composting. **Journal of Environmental Quality**, v. 37, p. 1245-1253.
- DRILLIA, P.; DOKIANAKIS, S.N.; FOUNTOULAKIS, M.S.; KORNAROS, M.; STAMATELATOU, K.; LYBERATOS, G. (2005) On the occasional biodegradation of pharmaceuticals in the activated sludge process: The example of the antibiotic sulfamethoxazole. **Journal of Hazardous Materials**, v. 122, n. 3, p. 259-265.
- DUDA, R. M. (2010) **Desempenho de sistema composto por reatores anaeróbios em série seguido de filtro biológico percolador no tratamento de águas residuárias de suinocultura**. 259 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2010.
- EGUCHI, K.; NAGASE, H.; OZAWA, M.; ENDOH, Y. S.; GOTO, K.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K.; YOSHIMURA, H. (2004) Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. **Chemosphere**, v. 57, p. 1733-1738.
- EUROPEAN COMMISSION (1999) Opinion of the scientific steering committee on antimicrobial resistance. Directorate-General XXIV Consumer policy and consumer health protection.
- FATTA-KASSINOS, D.; MERIC, S.; NIKOLAOU, A. (2011) Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, p. 251-275.
- FERRARI, B.; MONS, R.; VOLLAT, B.; FRAYSSE, B.; PAXÉUS, N.; GIUDICE, R. L.; POLLIO, A.; GARRIC, J. (2004) Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment? **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 5, p. 1344-1354.

- FERREIRA, T. C. R. (2014) **Identificação e pré-concentração dos produtos da fotodegradação de antimicrobianos**. 147 f. Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- FISCHER, K.; MAJEWSKI, M. (2014) Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 6583-6597.
- FONTOULAKIS, M.; DRILLIA, P.; STAMATELATOU, K. LYBERATOS, G. (2004) Toxic effect of pharmaceuticals on methanogenesis. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 335-340.
- GARCÍA-GALÁN, M. J.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. (2008) Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 1008-1022.
- GARCÍA-GALÁN, M. J.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. (2009) Combining chemical analysis and ecotoxicity to determine environmental exposure and to assess risk from sulfonamides. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 6, p. 804-819.
- GARCÍA-GALÁN, M. J.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. E.; VINCENT, T.; CAMINAL, G.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. (2011) Biodegradation of sulfamethazine by *Trametes versicolor*: removal from sewage sludge and identification of intermediate products by UPLC-QqTOF-MS. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 24, p. 5505-5512.
- GARCÍA-GALÁN, M. J.; BLANCO, S. G.; ROLDÁN, R. L.; DÍAZ-CRUZ, S.; BARCELÓ, D. (2012) Ecotoxicity evaluation and removal of sulfonamides and their acetylated metabolites during conventional wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 437, p. 403-412.
- GARTISER, S.; URICH, E.; ALEX, R.; KÜMMERER, K. (2007) Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes. **Chemosphere**, v. 66, p. 1839-1848.
- GAUTHIER, H.; YAEGEAU, V.; COOPER, D.G. (2010) Biodegradation of pharmaceuticals by *Rhodococcus rhodochrous* and *Aspergillus niger* by co-metabolism. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 7, p. 1701-1706.

- GIGUÈRE, S.; PRESCOTT, J. F.; BAGGOT, J. D.; WALKER, R. D.; DOWLING, P. M. (2007) Antimicrobial therapy in veterinary medicine, 4th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
- GÖBEL, A.; THOMSEN, A.; MCARDELL, C. S.; ALDER, A. C.; GIGER, W.; THEIß, N.; LÖFFLER, D.; TERNES, T. A. (2005) Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge. **Journal of Chromatography A**, v. 1085, n. 2, p. 179-189.
- GOLDBERG, E.; BISHARA, J. (2012) Contemporary unconventional clinical use of co-trimoxazole. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 1, p. 8-17.
- GOMES, P. C. F. L.; TOMITA, I. N.; SANTOS-NETO, A. J.; ZAIAT, M. (2015) Rapid determination of 12 antibiotics and caffeine in sewage and bioreactor effluent by online column-switching liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 8787-8801.
- GRANT, G. A.; FRISON, S. L.; SPORNS, P. (2003) A sensitive method for detection of sulfamethazine and N⁴-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.
- GRIMMETT, M. (2007) Removal of sulfamethazine by hypercrosslinked adsorbents in aquatic systems. **Journal of Environmental Quality**, v. 42, n. 1, p. 2-9.
- HALLER, M. Y.; MÜLLER, S. R.; MCARDELL, C. S.; ALDER, A. C.; SUTER, M. J. F. (2002) Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 952, n. 1-2, p. 111-120.
- HEUER, H.; SOLEHATI, Q.; ZIMMERLING, U.; KLEINEIDAM, K.; SCHLOTER, M.; MÜLLER, T.; FOCKS, A.; THIELE-BRUHN, S.; SMALLA, K. (2011) Accumulation of sulfonamide resistance genes in arable soils due to repeated application of manure containing sulfadiazine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 7, p. 2527-2530.

- HIRASAWA, J. S. (2007). **Avaliação da metanogênese e sulfetogênese na presença de oxigênio, sob diferentes relações etanol/sulfato, utilizando técnicas de biologia molecular**. 134 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.
- HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZ, K. L. (1999) Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **The Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 109-118.
- HO, Y. S.; MCKAY, G. (1999) Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 451-465.
- HOLM, J. V.; RÜGGE, K.; BJERG, P. L.; CHRISTENSEN, T. H. (1995) Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grindsted, Denmark). **Environmental Science and Technology**, v. 29, n. 5, p. 1415-1420.
- HÖLZEL, C. S.; HARMS, K. S.; KÜCHENHOFF, H.; KUNZ, A.; MÜLLER, C.; MEYER, K.; SCHWAIGER, K.; BAUER, J. (2010) Phenotypic and genotypic bacterial antimicrobial resistance in liquid pig manure is variously associated with contents of tetracyclines and sulfonamides. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, n. 5, p. 1642-1656.
- HOMEM, V.; SANTOS, L. (2011) Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, p. 2304-2347.
- HRUSKA, K.; FRANEK, M. (2012) Sulfonamides in the environment : a review and a case report. **Veterinarni Medicina**, v. 57, n. 1, p. 1-35.
- HUANG, C. H.; RENEW, J. E.; SMEBY, K. L.; PINKSTON, K. E.; SEDLAK, D. L. (2001) Assessment of potential antibiotic contaminants in water and preliminary occurrence analysis. **Water Resources Update**, v. 120, p. 30-40.
- INGERSLEV, F.; HALLING-SØRENSEN, B. (2000) Biodegradability properties of sulfonamides in activated sludge. **Environmental Toxicology**, v. 19, n. 10, p. 2467-2473.

- ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PASCARELLA, L.; PARRELLA, A. (2005) Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. **Science of the Total Environment**, v. 346, p. 87-98.
- JIANG, B.; LI, A.; CUI, D.; CAI, R.; MA, F.; WANG, Y. (2014) Biodegradation and metabolic pathway of sulfamethoxazole by *Pseudomonas psychrophila* HA-4, a newly isolated cold-adapted sulfamethoxazole degrading bacterium. **Environmental Biotechnology**, v. 98, p. 4671-4681.
- JOSS, A.; KELLER, E.; ALDER, A. C.; GÖBEL, A.; McARDELL, C.S.; TERNES, T.; SIEGRIST, H. (2005) Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. **Water Research**, v. 39, p. 3139-3152.
- KAY, P.; BLACKWELL, P. A.; BOXALL, A. B. A. (2004) Fate of veterinary antibiotics in a macroporous tile drained clay soil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 5, p. 1136-1144.
- KEMPER, N. (2008) Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological Indicators**, v. 8, p. 1-13.
- KNACKMUSS, H. J. (1966) Basic knowledge and perspectives of bioelimination of xenobiótico compounds. **Journal of Biotechnology**, v. 51, p. 287-295.
- KÜMMERER, K. (2009) Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II. **Chemosphere**, v. 75, p. 435-441.
- KUSHIMA, T. (1967) Studies on the metabolism of sulfadimethoxine. IV. Sulfadimethoxine-N1-glucuronamide. **Yakugaku Zasshi**, v. 87, n. 5, p. 603-605.
- LANGER, S.; SCHROPP, D.; BENGELSDORF, F. R.; OTHMAN, M.; KAZDA, M. (2014) Dynamics of biofilm formation during anaerobic digestion. **Anaerobe**, v. 29, p. 44-51.
- LARSSON, D. G. J.; PEDRO, C.; PAXEUS, N. (2007) Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. **Journal of Hazardous Materials**, v. 148, p. 751-755.
- LE-MINH, N.; KHAN, S. J.; DREWES, J. E.; STUETZ, R. M. (2010) Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. **Water research**, v. 44, n. 15, p. 4295-323.

- LERTPAITONPAN, W. (2008) **Sorption, degradation, and transport of sulfamethazine in soils and manure-amended soils**. 144 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Iowa State University, Ames, 2008.
- LEVENSPIEL, O. (2000) Engenharia das reações químicas. 3ª Ed. São Paulo: Edgard Blücher.
- LI, B.; ZHANG, T. (2010) Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. **Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 3468-3473.
- LIMA, C. A. A. (2001) Tratamento de esgoto sanitário em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF): Escala piloto. 158 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- LIN, A. Y. C.; TSAI, Y. T. (2009) Occurrence of pharmaceuticals on Taiwan's surface waters: Impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 3793-3802.
- LIU, J.; JIANG, M.; LI, G.; XU, L.; XIE, M. (2010a) Miniaturized salting-out liquid-liquid extraction of sulfonamides from different matrices. **Analytica Chimica Acta**. V. 679, p. 74-80.
- LIU, F.; TENG, S.; SONG, R.; WANG, S. (2010b) Adsorption of methylene blue on anaerobic granular sludge: Effect of functional groups. **Desalination**, v. 263, p. 11-17.
- LIU, Z.; SUN, P.; PAVLOSTATHIS, S. G.; ZHOU, X.; ZHANG, Y. (2013) Inhibitory effects and biotransformation potential of ciprofloxacin under anoxi/anaerobic conditions. **Bioresource Technology**, v. 150, p. 28-35.
- LOFTIN, K. A.; HENNY, C.; ADAMS, C. D.; SURAMPALI, R.; MORMILE, M. R. (2005) Inhibition of microbial metabolism in anaerobic lagoons by selected sulfonamides, tetracyclines, lincomycin and tylosin tartrate. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 4, p. 782-788.

- MAJEWSKI, M.; WAGNER, D.; DELAY, M.; BRÄSE, S.; YARGEAU, V.; HORN, H. (2014) Antibacterial activity of sulfamethoxazole transformation products (TPs): General relevance for sulfonamide TPs modified at the *para* position. **Chemical Research in Toxicology**, v. 27, p. 1821-1828.
- MARTÍN, J.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. (2015) Pharmaceutically active compounds in sludge stabilization treatments: Anaerobic digestion, wastewater stabilization ponds and composting. **Science of the Total Environment**, v. 503-504, p. 97-104.
- MASSÉ, D. I.; LU, D.; MASSE, L.; DROSTE, R. L. (2000) Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 75, p. 205-211.
- MELLON, M.; BENBROOK, C.; BENBROOK, K. L. (2001) Hogging it – Estimates of antimicrobial abuse in livestock. Union of Concerned Scientists. UCS Publications, Cambridge, MA, USA, 110p.
- MIGLIORI, L.; CIVITAREALE, C.; BRAMBILLA, G.; COZZOLINO, S.; CASORIA, P.; GAUDIO, L. (1997) Effects of sulphadimethoxine on cosmopolitan weeds (*Amaranthus retroflexus* L., *Plantago major* L. and *Rumex acetosella* L.). **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 65, p. 163-168.
- MIGLIORI, L.; COZZOLINO, S.; FIORI, M. (2003) Phytotoxicity of and uptake of enrofloxacin in crop plants. **Chemosphere**, v. 52, p. 1233-1244.
- MITCHELL, S. M.; ULLMAN, J. L.; TEEL, A. L.; WATTS, R. J.; FREAR, C. (2013) The effects of the antibiotics ampicillin, florfenicol, sulfamethazine and tylosin on biogas production and their degradation efficiency during anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 244-252.
- MOHRING, S. A. I.; STRZYSCH, I.; FERNANDES, M. R.; KIFFMEYER, T. K.; TUERK, J.; HAMSCHER, G. (2009) Degradation and elimination of various sulfonamides during anaerobic fermentation: a promising step on the way to sustainable pharmacy? **Environmental science & technology**, v. 43, n. 7, p. 2569-2574.

- MÜLLER, E.; SCHÜSSLER, W.; HORN, H.; LEMMER, H. (2013) Aerobic biodegradation of the sulfonamide antibiotic sulfamethoxazole by activated sludge applied as co-substrate and sole carbon and nitrogen source. **Chemosphere**, v. 92, p. 969-978.
- NACHAIYASIT, S.; STUCKEY, D. C. (1997a) The effect of shock loads on the performance of an anaerobic baffled reactor (ABR). 1. Step changes in feed concentration at constant retention time. **Water Research**, v. 31, n. 11, p. 2737-2746.
- NACHAIYASIT, S.; STUCKEY, D. C. (1997b) The effect of shock loads on the performance of an anaerobic baffled reactor (ABR). 2. Step and transient hydraulic shocks at constant feed strength. **Water Research**, v. 31, n. 11, p. 2747-2754.
- NARDI, I. R.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (1999) Influence of the tracer characteristics on hydrodynamic models of packed-bed bioreactors. **Bioprocess Engineering**, v. 21, p. 469-476.
- OLIVEIRA, R. A. (1997) **Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura**. 359 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.
- OLIVEIRA, W. (2006) **Uso de água residuária da suinocultura em pastagens da Brachiária decumbens e grama estrela Cynodom plectostachyum**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- OLIVEIRA, R. A. D.; DUDA, R. M. (2009) Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reator anaeróbio operado em batelada sequencial. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 4, p.533-542.
- O'NEIL, M. J.; SMITH, A.; HECKELMAN, P. E. (2001) The Merck Index, 13^a Ed, Merck, Whitehouse Station, NJ.
- ONESIOS, K. M.; YU, J. T.; BOUWER, E. J. (2009) Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. **Biodegradation**, v. 20, p. 441-466.

- OTTMAR, K. J.; COLOSI, L.M.; SMITH, J. A. (2012) Fate and transport of atorvastatin and simvastatin drugs during conventional wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 88, p. 1184-1189.
- PAVLOSTATHIS, S. G.; GIRALDO-GOMEZ, E. (1991) Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Control**, v. 21, n. 5-6, p. 411-490.
- PENTEADO, E. D.; LAZARO, C. Z.; SAKAMOTO, I. K.; ZAIAT, M. (2013) Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, p. 6137-6145.
- PEREIRA, E. R. (2004) **Desempenho e caracterização microbiana do processo de dois estágios com reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- PÉREZ, S.; EICHHORN, P.; AGA, D. S. (2005) Evaluating the biodegradability of sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, and trimethoprim at different stages of sewage treatment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 6, p. 1361-1367.
- PERRET, D.; GENTILI, A.; MARCHESE, A.; GRECO, A.; CURINI, R. (2006) Sulphonamide residues in Italian surface and drinking waters: a small scale reconnaissance. **Chromatographia**, v. 62, n. 5-6, p. 225-232.
- POMIÈS, M.; CHOUBERT, J.-M.; WISNIEWSKI, C.; COQUERY, M. (2013) Modelling of micropollutant removal in biological wastewater treatments: A review. **Science of the Total Environment**, v. 443, p. 733-748.
- QUEIROZ, F. B.; BRANDT, E. M. F.; AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L.; AFONSO, R. J. C. F. (2012) Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw sewage and their behavior in UASB reactors operated at different hydraulic retention times. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 12, p. 2562-2569.

- QUINTANA, J.B.; WEISS, S.; REEMTSMA, T. (2005) Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by membrane bioreactor. **Water Research**, v. 39, n. 12, p. 2654-2664.
- RAMOS, A.C.T.; RATUSZNEI, S.M.; RODRIGUES, J.A.D.; ZAIAT, M. (2003) Mass transfer transfer improvement of a fixed-bed anaerobic sequencing batch reactor with liquid-phase circulation. **Interciencia**, v. 28, n. 4, p. 214-219.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. (2004) Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780.
- RICKEN, B.; CORVINI, P. F. X.; CICHOCKA, D.; PARISI, M.; LENZ, M.; WYSS, D.; MARTÍNEZ-LAVANCHY, P. M.; MÜLLER, J. A.; SHAHGALDIAN, P.; TULLI, L. G.; KOHLER, H. P. E.; KOLVENBACH, B. A. (2013) ipso-Hydroxilation and subsequent fragmentation: a novel microbial strategy to eliminate sulfonamide antibiotics. **Applied and Environmental Microbiology**, v.79, n. 18, p. 5550-5558.
- RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 58, p. 406-411.
- RITTMANN, B. E.; McCARTY, P. L. (1980a) Model of steady-state-biofilm kinetics. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, p. 2343-2357.
- RITTMANN, B. E.; McCARTY, P. L. (1980b) Evaluation of steady-state-biofilm kinetics. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, p. 2359-2373.
- RODRIGUEZ, R. P. (2010) **Aplicação de reatores anaeróbios para remoção de sulfato de águas de drenagem ácida de minas**. 198 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
- RODRIGUES, J. A. D.; OLIVEIRA, R. P.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (2011) AnSBBR applied to a personal care industry wastewater treatment: effects of fill time, volume treated per cycle, and organic load. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 163, p. 127-142.

- SAHAR, E.; MESSALEM, R.; CIKUREL, H.; AHARONI, A.; BRENNER, A.; GODEHART, M.; JEKEL, M.; ERNST, M. (2011) Fate of antibiotics in activated sludge followed by ultrafiltration (CAS-UF) and in a membrane bioreactor (MBR). **Water Research**, v. 45, p. 4827-4836.
- SANTOS, A. C.; OLIVEIRA, R. A. (2011) Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reatores anaeróbios horizontais seguidos de reator aeróbio em batelada sequencial. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 4, p. 781-794.
- SANTOS, L. H. M. L. M.; ARAÚJO, A. N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. (2010) Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, p. 45-95.
- SANTOS-NETO, A. J.; FERNANDES, C.; RODRIGUES, J. C.; ALVES, C.; LANÇAS, F. M. (2008) Fluoxetine and norfluoxetine analysis by direct injection of human plasma in a column switching liquid chromatographic system. **Journal of Separation Science**, v. 31, p. 78-85.
- SARMAH, A. K.; MEYER, M. T.; BOXALL, A. B. A. (2006) A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, v. 65, n. 5, p. 725-759.
- SARTI, A.; VIEIRA, L. G. T.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2001) Influence of the liquid-phase mass transfer on the performance of a packed-bed bioreactor for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 78, p. 231-238.
- SHELVER, W. L.; HAKK, H.; LARSEN, G. L.; DeSUTTER, T. M.; CASEY, F. X. M. (2010) Development of an ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry multi-residue sulfonamide method and its application to water, manure slurry, and soils from swine rearing facilities. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 8, p. 1273-1282.
- SHI, Y.; WANG, X.; QI, Z.; DIAO, M.; GAO, M.; XING, S.; WANG, S.; ZHAO, X. (2011) Sorption and biodegradation of tetracycline by nitrifying granules and the toxicity of tetracycline on granules. **Journal of Hazardous Materials**, v. 191, p. 103-109.

- SKOWLUND, C. T. (1990) Effect of biofilm growth on steady-state biofilm models. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 35, p. 502-510.
- SOUZA, D. A.; CHINALIA, F. A.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2009) Bioremediation of gasoline-contaminated groundwater in a pilot-scale packed-bed anaerobic reactor. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, p. 747-751.
- SPEECE (1996) Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters, Archaeas press, Vanderbilt University, Nashville, TN, USA, 1996.
- SPIELMEYER, A.; BREIER, B.; GROISSMEIER, K.; HAMSCHER, G. (2015) Elimination patterns of worldwide used sulfonamides and tetracyclines during anaerobic fermentation. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 307-314.
- SPONZA, D. T.; DEMIRDEN, P. (2007) Treatability of sulfamerazine in sequential upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB)/completely stirred tank reactor (CSTR) process. **Separation and Purification Technology**, v. 56, n. 1, p 108-117.
- TAPPE, W.; HERBST, M.; HOFMANN, D.; KOEPPCHEN, S.; KUMMER, S.; THIELE, B.; GROENEWEG, J. (2013) Degradation of sulfadiazine by *Microbacterium lacus* strain SDZm4, isolated from lysimeters previously manured with slurry from sulfadiazine-medicated pigs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 2572-2577.
- TEIXIDÓ, M.; PIGNATELLO, J.; BELTRAN, J.; GRANADOS, M.; PECCIA, J. (2011) Speciation of the ionizable antibiotic sulfamethazine on black carbon (biochar). **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 23, p. 10020-10027.
- THIELE-BRUHN, S. (2003) Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 166, p. 145-167.
- TOPP, E.; CHAPMAN, R.; DEVERS-LAMRANI, M.; HARTMANN, A.; MARTI, R.; MARTIN-LAURENT, F.; SABOURIN, L.; SCOTT, A.; SUMARAH, M. (2013) Accelerated biodegradation of veterinary antibiotics in agricultural soil following long-term exposure, and isolation of a Sulfamethazine-degrading *Microbacterium sp.* **Journal of Environmental Quality**, v. 42, p. 173-178.

- TRAN, N.H.; URASE, T.; KUKASABE, O. (2009) The characteristics of enriched nitrifier culture in the degradation of selected pharmaceutically active compounds. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, p. 1051-1057.
- TRAN, N. H.; URASE, T.; NGO, H. H.; HU, J.; ONG, S. L. (2013) Insight into metabolic and cometabolic activities of autotrophic and heterotrophic microorganisms in the biodegradation of emerging trace organic contaminants. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 721-731.
- URASE, T.; KIKUTA, T. (2005) Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. **Water Research**, v. 39, p. 1289-1300.
- VASILIADOU, I. A.; MOLINA, R.; MARTÍNEZ, F.; MELERO, J. A. (2013) Biological removal of pharmaceutical and personal care products by a mixed microbial culture: Sorption, desorption and biodegradation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 108-119.
- VELA, F.J.; GIANOTTI, E.P.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (1999) Estimation of substrate effective diffusivities in anaerobic bioparticles. **Environmental Technology**, v. 20, p. 1163-1170.
- VERLICCHI, P.; GALLETTI, A.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. (2010) Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. **Journal of Hydrology**, v. 389, n. 3-4, p. 416-428.
- VERLICCHI, P.; AUKIDY, M. A.; ZAMBELLO, E. (2012) Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment – A review. **Science of the Total Environment**, v. 429, p. 123-155.
- WU, C.; SPONGBERG, A. L.; WITTER, J. D. (2009) Sorption and biodegradation of selected antibiotics in biosolids. **Journal of Environmental Science and Health Part A**, v. 44, n. 5, p. 454-461.
- YANG, S.; LIN, C.; LIN, A.Y.; HONG, P. A. (2011) Sorption and biodegradation of sulfonamide antibiotics by activated sludge: experimental assessment using batch data obtained under aerobic conditions. **Water Research**, v. 45, p. 3389-3397.

- YANG, S.; LIN, C.; WU, C.; NG, K.; LIN, A.Y.; HONG, P. A. (2012) Fate of sulfonamide antibiotics in contact with activated sludge – sorption and biodegradation. **Water Research**, v. 46, p. 1301-1308.
- YE, Z.; WEINBERG, H. S.; MEYER, M. T. (2007) Trace analysis of trimethoprim and sulfonamide, macrolide, quinolone and tetracycline antibiotics in chlorinated drinking water using liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 3, p. 1135-1144.
- YU, T. H.; LIN, A. Y. C.; PANCHANGAM, S. C.; HONG, P. K. A.; YANG, P. Y.; LIN, C. F. (2011) Biodegradation and bio-sorption of antibiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs using immobilized cell process. **Chemosphere**, v. 84, n. 9, p. 1216-1222.
- YIRUHAN; WANG, Q. J.; MO, C. H.; LI, Y. W.; GAO, P.; TAI, Y. P.; ZHANG, Y.; RUAN, Z. L.; XU, J. W. (2010) Determination of four fluoroquinolone antibiotics in tap water in Guangzhou and Macao. **Environmental Pollution**, v. 158, p. 2350-2358.
- ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A.; FORESTI, E. (1994) Horizontal-flow anaerobic immobilized sludge reactor for wastewater treatment: Conception and performance evaluation. **Revista Brasileira de Engenharia – Caderno de Engenharia Química**, v. 11, p. 33-42.
- ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; FORESTI, E. (1996) Liquid-phase mass transfer in fixed-bed of polyurethane foam matrices containing immobilized anaerobic sludge. **Biotechnology Techniques**, v. 10, n. 2, p. 121-126.
- ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D.; FORESTI, E. (2000) External and internal mass transfer effects in an anaerobic fixed-bed reactor for wastewater treatment. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 943-949.

9. ANEXOS

ANEXO A: Trabalhos consultados na elaboração da Figura 3.4.

- AUST, M. O.; GODLINSKI, F.; TRAVIS, G. R.; HAO, X.; McALLISTER, T. A.; LEINWEBER, P.; THIELE-BRUHN, S. (2008) Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle. **Environmental Pollution**, v. 156, p. 1243-1251.
- AWAD, Y. M.; KIM, S. C.; EL-AZEEM, S. A. M.; KIM, K. H.; KIM, K. R.; KIM, K.; JEON, C.; LEE, S. S.; OK, Y. S. (2014) Veterinary antibiotics contamination in water, sediment and soil near a swine manure composting facility. **Environmental Earth Sciences**, v. 71, p. 1433-1440.
- AWAD, Y. M.; KIM, K. R.; KIM, S. C.; KIM, K.; LEE, S. R.; LEE, S. S.; OK, Y. S. (2015) Monitoring antibiotic residues and corresponding antibiotic resistance genes in an agroecosystem. *Journal of Chemistry*, v. 2015, p. 1-7.
- BABIC, S.; ASPERGER, D.; MUTAVDZIC, D.; HORVAT, A. J. M.; MACAN, M. K. (2006) Solid phase extraction and HPLC determination of veterinary pharmaceuticals in wastewater. **Talanta**, v. 70, p. 732-738.
- BARNES, K. K.; KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; ZAUGG, S. D.; MEYER, M. T.; BARBER, L. B. (2008) A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States – I) Groundwater. **Science of the Total Environment**, v. 402, p. 192-200.
- BARTELT-HUNT, S.; SNOW, D. D.; POWELL, T. D.; MIESBACH, D. (2011) Occurrence of steroid hormones and antibiotics in shallow groundwater impacted by livestock waste control facilities. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 123, p. 94-103.
- BATT, A. L.; SNOW, D. D.; AGA, D. S. (2006) Occurrence of sulfonamide antimicrobials in private water wells in Washington County, Idaho, USA. **Chemosphere**, v. 64, p. 1963-1971.

- BEN, W.; PAN, X.; QIANG, Z. (2013) Occurrence and partition of antibiotics in the liquid and solid phases of swine wastewater from concentrated animal feeding operations in Shandong Province, China. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 15, p. 870-875.
- BEN, W.; QIANG, Z.; ADAMS, C.; ZHANG, H.; CHEN, L. (2008) Simultaneous determination of sulfonamides, tetracyclines and tiamulin in swinewastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1202, p. 173-180.
- CAMPAGNOLO, E. R.; JOHNSON, K. R.; KARPATI, A.; RUBIN, C. S.; KOLPIN, D. W.; MEYER, M. T.; ESTEBAN, E.; CURRIER, R. W.; SMITH, K.; THU, K. M.; McGEEHIN, M. (2002) Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. **Science of the Total Environment**, v. 229, p. 89-95.
- CANDELA, L.; TAMOH, K.; VADILLO, I.; ABELLAN, J. V. (2016) Monitoring of selected pharmaceuticals over 3 years in a detrital aquifer during artificial groundwater recharge. **Environmental Earth Sciences**, v. 75, p. 1-13.
- CHANG, H.; HU, J.; ASAMI, M.; KUNIKANE, S. (2008) Simultaneous analysis of 16 sulfonamide and trimethoprim antibiotics in environmental waters by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1190, p. 390-393.
- CHEN, Y.; ZHANG, H.; LUO, Y.; SONG, J. (2012) Occurrence and dissipation of veterinary antibiotics in two typical swine wastewater treatment systems in east China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, p. 2205-2217.
- CHEN, J.; LIU, Y. S.; SU, H. C.; YING, G. G.; LIU, F.; LIU, S. S.; HE, L. Y.; CHEN, Z. F.; YANG, Y. Q.; CHEN, F. R. (2015) Removal of antibiotics and antibiotic resistance genes in rural wastewater by an integrated constructed wetland. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 1794-1803.
- CHOI, K. J.; KIM, S. G.; KIM, C. W.; KIM, S. H. (2007) Determination of antibiotic compounds in water by on-line SPE-LC/MSD. **Chemosphere**, v. 66, p. 977-984.

- CHRISTIAN, T.; SCHNEIDER, R. J.; FÄRBER, H. A.; SKUTLAREK, D.; MEYER, M. T.; GOLDBACH, H. E. (2003) Determination of antibiotic residues in manure, soil and surface waters. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, v. 31, n. 1, p. 36-44.
- COUPERUS, N. P.; PAGSUYOIN, S. A.; BRAGG, L. M.; SERVOS, M. R. (2016) Occurrence, distribution and sources of antimicrobials in a mixed-use watershed. *Science of the Total Environment*, v. 541, p. 1581-1591.
- DÍAZ-CRUZ, M. S.; GARCÍA-GALÁN, M. J.; BARCELÓ, D. (2008) Highly sensitive simultaneous determination of sulfonamide antibiotics and one metabolite in environmental waters by liquid chromatography–quadrupole linear ion trap–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1193, p. 50-59.
- FERGUSON, P. J.; BERNOT, M. J.; DOLL, J. C.; LAUER, T. E. (2013) Detection of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in near-shore habitats of southern Lake Michigan. *Science of the Total Environment*, v. 458-460, p. 187-196.
- FORREST, F.; LORENZ, K.; THOMPSON, T.; KEENLISIDE, J.; KENDALL, J.; CHAREST, J. (2011) A scoping study of livestock antimicrobials in agricultural streams of Alberta. *Canadian Water Resources Journal*, v. 36, n. 1, p. 1-16.
- GARCÍA-GALÁN, M. J.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. (2011) Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro river basin. Removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment. *Environment International*, v. 37, p. 462-473.
- GARCÍA-GALÁN, M. J.; DÍAZ-CRUZ, S.; BARCELÓ, D. (2013) Multiresidue trace analysis of sulfonamide antibiotics and their metabolites in soils and sewage sludge by pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography–electrospray–quadrupole linear ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1275, p. 32-40.
- GARCIA-RODRÍGUEZ, A.; SAGRISTÀ, E.; MATAMOROS, V.; FONTÀS, C.; HIDALGO, M.; SAVADÒ, V. (2014) Determination of pharmaceutical compounds in sewage sludge using a standard addition method approach. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 94, n. 12, p. 1199-1209.

- GIBBS, J.; HECKATHORN, H. A.; MEYER, M. T.; KLAPINSKI, F. R.; ALEBUS, M.; LIPPINCOTT, R. L. (2013) Occurrence and partitioning of antibiotic compounds found in the water column and bottom sediments from a stream receiving two wastewater treatment plant effluents in Northern New Jersey, 2008. **Science of the Total Environment**, v. 458-460, p. 107-116.
- GOMES, P. C. F. L.; TOMITA, I. N.; SANTOS-NETO, A. J.; ZAIAT, M. (2015) Rapid determination of 12 antibiotics and caffeine in sewage and bioreactor effluent by online column-switching liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 8787-8801.
- HALLER, M. Y.; MÜLLER, S. R.; McARDELL, C. S.; ALDER, A. C.; SUTER, M. J. F. (2002) Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 952, p. 111-120.
- HAMSCHER, G.; SCZESNY, S.; HÖPER, H.; NAU, H. (2005) Different behavior of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, p. 861-868.
- HAO, C.; LISSEMORE, L.; NGUYEN, B.; KLEYWEGT, S.; YANG, P.; SOLOMON, K. (2006) Determination of pharmaceuticals in environmental waters by liquid chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 384, p. 505-513.
- HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZ, K. L. (1999) Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of the Total Environment**, v. 225, p. 109-118.
- HÖPER, H.; KUES, J.; NAU, H.; HAMSCHER, G. (2002) Eintrag und Verbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Böden. **Bodenschutz**, v. 4, p. 141-148.
- HRUSKA, K.; FRANEK, M. (2012) Sulfonamides in the environment : a review and a case report. **Veterinarni Medicina**, v. 57, n. 1, p. 1-35.
- IGLESIAS, A.; NEBOT, C.; VÁZQUEZ, B. I.; MIRANDA, J. M.; ABUÍN, C. M. F.; CEPEDA, A. (2014) Detection of veterinary drug residues in surface waters collected nearby farming areas in Galicia, North of Spain. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, p. 2367-2377.

- JI, X.; SHEN, Q.; LIU, F.; MA, J.; XI, G.; WANG, Y.; WU, M. (2012) Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 235-236, p. 178-185.
- JIA, A.; HU, J.; WU, X.; PENG, H.; WU, S.; DONG, Z. (2011) Occurrence and source apportionment of sulfonamides and their metabolites in Liodong Bay and the adjacent Liao river basin, north China. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 6, p. 1251-1260.
- JIANG, L.; HU, X.; YIN, D.; ZHANG, H.; YU, Z. (2011) Occurrence, distribution and seasonal variation of antibiotics in the Huangpu River, Shanghai, China. **Chemosphere**, v. 82, p. 822-828.
- KARTHIKEYAN, K. G.; MEYER, M. T. (2006) Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. **Science of the Total Environment**, v. 361, p. 196-207.
- KIM, H.; HONG, Y.; PARK, J.; SHARMA, V. K.; CHO, S. (2013) Sulfonamides and tetracyclines in livestock wastewater. **Chemosphere**, v. 91, p. 888-894.
- KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. (2002) Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance. **Environmental Science and Technology**, v. 36, p. 1202-1211.
- LIN, A. Y. C.; YU, T. H.; LIN, C. F. (2008) Pharmaceutical contamination in residential, industrial and agricultural waste streams: Risk to aqueous environments in Taiwan. **Chemosphere**, v. 74, p. 131-141.
- MALINTAN, N. T.; MOHD, M. A. (2006) Determination of sulfonamides in selected Malaysian swine wastewater by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1127, p. 154-160.
- MANAGAKI, S.; MURATA, A.; TAKADA, H.; TUYEN, B. C.; CHIEM, N. H. (2007) Distribution of macrolides, sulfonamides and trimethoprim in tropical waters: Ubiquitous occurrence of veterinary antibiotics in the Mekong Delta. **Environmental Science and Technology**, v. 41, p. 8004-8010.

- MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; SCHARF, S.; GANS, O. (2007) Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. **Environmental Pollution**, v. 148, n. 2, p. 570-579.
- MATONGO, S.; BIRUNGI, G.; MOODLEY, B.; NDUNGU, P. (2015) Occurrence of selected pharmaceuticals in water and sediment of Umgeni River, KwaZulu-Natal, South Africa. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 10298-10308.
- MIAO, X. S.; BISHAY, F.; CHEN, M.; METCALFE, C. D. (2004) Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. **Environmental Science and Technology**, v. 38, p. 3533-3541.
- MURATA, A.; TAKADA, H.; MUTOH, K.; HOSODA, H.; HARADA, A.; NAKADA, N. (2011) Nationwide monitoring of selected antibiotics: Distribution and sources of sulfonamides, trimethoprim and macrolides in Japanese rivers. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 5305-5312.
- NAM, S. W.; JO, B. I.; YOON, Y.; ZOH, K. D. (2014) Occurrence and removal of selected micropollutants in a water treatment plant. **Chemosphere**, v. 95, p. 156-165.
- OSTERMANN, A.; GAO, J.; WELP, G.; SIEMENS, J.; ROELCKE, M.; HEIMANN, L.; NIEDER, R.; XUE, Q.; LIN, X.; HOFMANN, A. S.; AMELUNG, W. (2014) Identification of soil contamination hotspots with veterinary antibiotics using heavy metal concentrations and leaching data – a field study in China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, p. 7693-7707.
- OU, D.; CHEN, B.; BAI, R.; SONG, P.; LIN, H. (2015) Contamination of sulfonamide antibiotics and sulfamethazine-resistant bacteria in the downstream and estuarine areas of Jiulong River in Southeast China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 12104-12113.
- PAN, M.; WONG, C. K. C.; CHU, L. M. (2014) Distribution of antibiotics in wastewater-irrigated soils and their accumulation in vegetable crops in the Pearl River Delta, Southeast China. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 11062-11069.

- PAWELZICK, H. T.; HÖPER, H.; NAU, H.; HAMSCHER, G. (2004). A survey of the occurrence of various tetracyclines and sulfamethazine in sandy soils in northwestern Germany fertilized with liquid manure. **In: SETAC Euro 14th Annual Meeting**, Prague, Czech Republic.
- PENG, X.; ZHANG, K.; TANG, C.; HUANG, Q.; YU, Y.; CUI, J. (2011) Distribution pattern, behavior and fate of antibacterials in urban aquatic environments in South China. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, p. 446-454.
- SAKAI, N.; YUSOF, R. M.; SAPAR, M.; YONEDA, M.; MOHD, M. A. (2016) Spatial analysis and source profiling of beta-agonists and sulfonamides in Langat River basin, Malaysia. **Science of the Total Environment**, v. 548-549, p. 43-50.
- SHELVER, W. L.; HAKK, H.; LARSEN, G. L.; DeSUTTER, T. M.; CASEY, F. X. M. (2010) Development of an ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry multi-residue sulfonamide method and its application to water, manure slurry, and soils from swine rearing facilities. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 1273-1282.
- SHIMIZU, A.; TAKADA, H.; KOIKE, T.; TAKESHITA, A.; SAHA, M.; RINAWATI; NAKADA, N.; MURATA, A.; SUZUKI, T.; SUZUKI, S.; CHIEM, N. H.; TUYEN, B. C.; VIET, P. H.; SIRINGAN, M. A.; KWAN, C.; ZAKARIA, M. P.; REUNGSANG, A. (2013) Ubiquitous occurrence of sulfonamides in tropical Asian waters. **Science of the Total Environment**, v. 452-453, p. 108-115.
- TESCH, C.; CARLSON, R. (2003a) Assessment of water quality in the Sunnyside area, Washington County, Idaho. **ISDA Technical Results Summary #14**. 8p.
- TESCH, C.; CARLSON, R. (2003b) Assessment of water quality in the Sunnyside area, Washington County, Idaho: 2003 Update. **ISDA Technical Results Summary #19**. 14p.
- TEWARI, S.; JINDAL, R.; KHO, Y. L.; CHOI, K. (2013) Major pharmaceutical residues in wastewater treatment plants and receiving waters in Bangkok, Thailand, and associated ecological risks. **Chemosphere**, v. 91, p. 697-704.

- WANG, N.; GUO, X.; XU, J.; KONG, X.; GAO, S.; SHAN, Z. (2014) Pollution characteristics and environmental risk assessment of typical veterinary antibiotics in livestock farms in Southeastern China. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 49, n. 7, p. 468-479.
- WATANABE, N.; BARGAMASCHI, B. A.; LOFTIN, K. A.; MEYER, M. T.; HARTER, T. (2010) Use and environmental occurrence of antibiotics in freestall dairy farms with manured forage fields. **Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 6591-6600.
- WEI, R.; GE, F.; HUANG, S.; CHEN, M.; WANG, R. (2011) Occurrence of veterinary antibiotics in animal wastewater and surface water around farms in Jiangsu Province, China. **Chemosphere**, v. 82, p. 1408-1414.
- WEI, R.; GE, F.; ZHANG, L.; HOU, X.; CAO, Y.; GONG, L.; CHEN, M.; WANG, R.; BAO, E. (2016) Occurrence of 13 veterinary drugs in animal manure-amended soils in Western China. **Chemosphere**, v. 144, p. 2377-2383.
- WINCKLER, C.; ENGELS, H.; HUND-RINKE, K.; LUCKOW, T.; SIMON, M.; STEFFENS, G. (2004) Verhalten von Tetrazyklinen und anderen Veterinärantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. Band 44/00, Umweltbundesamt (Hrsg.), Berlin.
- WU, C.; HUANG, X.; WITTER, J. D.; SPONGBERG, A. L.; WANG, K. WANG, D.; LIU, J. (2014) Occurrence of pharmaceuticals and personal care products and associated environmental risks in the central and lower Yangtze river, China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 106, p. 19-26.
- WU, H.; QIAN, M.; WANG, J.; ZHANG, H.; MA, J.; LI, Z.; LEE, M. (2015) Simultaneous determination of sulfonamides and metabolites in manure samples by one-step ultrasound/microwave-assisted solid-liquid-solid dispersive extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 3545-3554.
- XIONG, W.; SUN, Y.; ZHANG, T.; DING, X.; LI, Y.; WANG, M.; ZENG, Z. (2015) Antibiotics, antibiotic resistance genes and bacterial community composition in fresh water aquaculture environment in China. **Microbial Ecology**, v. 70, p. 425-432.

- XU, W.; ZHANG, G.; LI, X.; ZOU, S.; LI, P.; HU, Z.; LI, J. (2007) Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. **Water Research**, v. 41, p. 4526-4534.
- YANG, S.; CARLSON, K. (2003) Evolution of antibiotic occurrence in a river through pristine, urban and agricultural landscapes. **Water Research**, v. 37, p. 4645-4656.
- YANG, J. F.; YING, G. G.; ZHAO, J. L.; TAO, R.; SU, H. C.; LIU, Y. S. (2011) Spatial and seasonal distribution of selected antibiotics in surface waters of the Pearl River, China. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 46, n. 3, p. 272-280.
- YAO, L.; WANG, Y.; TONG, L.; LI, Y.; DENG, Y.; GUO, W.; GAN, Y. (2015) Seasonal variation of antibiotics concentration in the aquatic environment: a case study at Jiangnan Plain, central China. **Science of the Total Environment**, v. 527-528, p. 56-64.
- ZHANG, Z.; LIU, J. F.; SHAO, B.; JIANG, G. B. (2010) Time-resolved fluoroimmunoassay as an advantageous approach for highly efficient determination of sulfonamides in environmental waters. **Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 1030-1035.
- ZHANG, H.; DU, M.; JIANG, H.; ZHANG, D.; LIN, L.; YE, H.; ZHANG, X. (2014) Occurrence, seasonal variation and removal efficiency of antibiotics and its metabolites in wastewater treatment plants, Jiulongjiang River Basin, South China. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 17, p. 225-234.
- ZHAO, H.; ZHOU, J. L.; ZHANG, J. (2015) Tidal impact on the dynamic behavior of dissolved pharmaceuticals in the Yangtze Estuary, China. **Science of the Total Environment**, v. 536, p. 946-954.
- ZHOU, L. J.; YING, G. G.; ZHANG, R. Q.; LIU, S.; LAI, H. J.; CHEN, Z. F.; YANG, B.; ZHAO, J. L. (2013) Use patterns, excretion masses and contamination profiles of antibiotics in a typical swine farm, south China. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 15, p. 802-813.