

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

GUILHERME FLANDOLI ROMEIRO

**Estudo e avaliação da remoção de sulfametazina em Biorreator
Anaeróbico Contínuo de Leito Fixo Ordenado (ABFSB)**

SÃO CARLOS

2017

GUILHERME FLANDOLI ROMEIRO

**Estudo e avaliação da remoção de sulfametazina em Biorreator
Anaeróbico Contínuo de Leito Fixo Ordenado (ABFSB)**

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

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa
de Lima Gomes

SÃO CARLOS

2017

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.

Romeiro, Guilherme Flandoli

R763e Estudo e avaliação da remoção de sulfametazina em Biorreator Anaeróbio Contínuo de Leito Fixo Ordenado (ABFSB) / Guilherme Flandoli Romeiro; orientador Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes . São Carlos, 2017.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2017.

1. Biorreator. 2. Águas residuárias. 3. Sulfametazina. 4. Cinética de remoção. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Guilherme Flandoli Romeiro**

Data da Defesa: 20/11/2017

Comissão Julgadora:

Resultado:

Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes (Orientador(a))

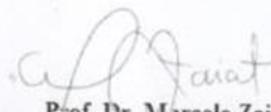
Aprovado

Inês Noriko Tomita

aprovado

Marcelo Zaiat

Aprovado



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Oswaldo e Cristina, por sempre acreditarem nos meus sonhos e por estarem presentes em cada etapa da minha vida, ao meu querido irmão, André, por todo carinho e incentivo e à minha família, por fazer dos meus dias mais alegres.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes por ter me orientado desde a minha iniciação científica em 2014. Agradeço pelo voto de confiança e por todos os ensinamentos profissionais e pessoais. Sou muito grato por ter encontrado um professor de tamanha excelência.

Ao Prof. Dr. Marcelo Zaiat pelos ensinamentos, pelos conselhos e por toda a sua dedicação e empenho em nos fazer acreditar e seguir confiante no curso de Engenharia Ambiental.

À Dra. Inês, por ser uma pessoa sempre solícita, organizada e atenciosa, sendo uma das pessoas cruciais para o andamento dos experimentos laboratoriais.

A todos os profissionais e colegas do Laboratório de Processos Biológicos, por terem feito dos dias de laboratório mais agradáveis, harmoniosos e eficientes.

Aos colegas Guilherme Henrique Duarte de Oliveira, Lucas Tadeu Fuess, Eduardo Pentead, Rodrigo Carneiro, por sempre estarem dispostos a esclarecer dúvidas e dar sugestões de melhorias, contribuindo de maneira decisiva para a perpetuação desse trabalho.

À Helena, por todo companheirismo, carinho, compreensão e apoio incondicional.

À amiga e companheira de trabalho Cristiane Arruda De Oliveira, pelo suporte, atenção, ajuda e companheirismo.

Aos meus amigos de graduação, Bruno Amorim, José Mateus e Petry Carvalhal, que estiveram presentes em todos os momentos difíceis e de conquistas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processos 2009/53850-6 e 2014/10256-5) pelos auxílios financeiros concedidos.

RESUMO

Romeiro, Guilherme F. (2017). **Estudo e avaliação da remoção de sulfametazina em biorreator anaeróbio contínuo de leito fixo ordenado (ABFSB)**. 75 p. Trabalho de Graduação – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

O uso de biomassa anaeróbia aderida a um suporte foi recentemente apresentado como uma boa perspectiva no tratamento de águas residuárias contendo compostos recalcitrantes, como a sulfametazina (SMZ). A SMZ foi encontrada em resíduos de suinocultura e em estações de tratamento de esgoto (ETE), o que motiva a avaliação de sua degradação por novas tecnologias para o tratamento de águas residuárias. Assim, esse estudo descreve o uso de um biorreator anaeróbio contínuo de leito fixo ordenado (ABFSB) com o objetivo de avaliar a cinética de remoção de SMZ presente em esgoto feito em laboratório (esgoto *lab-made*). A determinação de SMZ utilizou a extração em fase sólida acoplada em linha à cromatografia líquida/espectrometria de massa em tandem (SPE *online*-LC-MS/MS). A demanda química de oxigênio (DQO) também foi monitorada para avaliar a remoção de matéria orgânica. O biorreator foi operado em condições mesofílicas (30 °C), com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 24 h. Para avaliar a remoção de SMZ, foram estudados quatro níveis de concentração diferentes, 200, 400, 600 e 800 ng L⁻¹. A DQO no afluente foi de 555,9 ± 54,85 mg O₂ L⁻¹. A eficiência de remoção de DQO para efluentes bruto foi mantida em 89,26 ± 4,022 % e não houve interferência devido ao aumento da concentração de SMZ. Com relação a eficiência de degradação de SMZ, houve uma remoção de 52,8 ± 12,1 % para o nível de concentração de 200 ng L⁻¹; 55,0 ± 8,15% para 400 ng L⁻¹; 53,0 ± 6,14% para 600 ng L⁻¹ e 48,8 ± 5,44% para 800 ng L⁻¹. A cinética de remoção de DQO apresentou constante cinética aparente de primeira ordem (k^{app}) de 0,281 ± 0,0295 h⁻¹. A SMZ também levou a uma constante cinética aparente de primeira ordem (k^{SMZ}) de 0,158 ± 0,0093 h⁻¹ para os seguintes níveis de concentrações: 200, 400, 600 e 800 ng L⁻¹, respectivamente. Portanto, o biorreator demonstrou ser uma tecnologia promissora para o tratamento de águas residuárias contendo compostos farmacêuticos recalcitrantes, mesmo em níveis de concentração de ng L⁻¹. Além disso, a atividade microbiana do biorreator não teve inibição significativa com o aumento da concentração de SMZ.

Palavras chaves: Biorreator, Águas residuárias, Sulfametazina, LC-MS/MS, Cinética de remoção

ABSTRACT

Romeiro, Guilherme F. (2017). **Study and evaluation of removal of sulfamethazine using anaerobic fixed structured bed bioreactor (ABFSB)**. 75 p. Trabalho de Graduação - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Anaerobic biomass attached to a support has been recently presented as a good prospect in the treatment of wastewater containing recalcitrant compounds, such as sulfamethazine (SMZ). SMZ has been found in swine wastewater and sewage treatment plants, which motivates assessing their degradation by new wastewater treatment technologies. Thus, this study describes the use of a continuous fixed structured bed bioreactor for the purpose of evaluating SMZ removal kinetics present in lab-made wastewater. SMZ analysis used online solid phase extraction coupled to liquid chromatography/tandem mass spectrometry (SPE online-LC-MS/MS). Chemical oxygen demand (COD) was also monitored to evaluate the organic matter removal. The bioreactor was operated under mesophilic conditions (30 °C), with a hydraulic retention time (HRT) of 24 h. In order to evaluate SMZ removal, four different concentration levels were studied, 200, 400, 600, and 800 ng L⁻¹. COD influent was 555.9 ± 54.85 mg O₂ L⁻¹. COD removal efficiency for raw effluent was kept at 89.26 ± 4.022 % and there was no interference due to the increase of SMZ concentration. For SMZ removal of 52.8 ± 12.1% for 200 ng L⁻¹ concentration level; 55.0 ± 8.15% for 400 ng L⁻¹; 53.0 ± 6.14% for 600 ng L⁻¹, and 48.8 ± 5.44% for 800 ng L⁻¹. COD removal kinetics presented a first-order apparent removal rate constant (k^{app}) of 0.281 ± 0.0295 h⁻¹. SMZ also showed a first-order apparent removal rate constant of 0.158 ± 0.0093 h⁻¹ for the following concentrations levels: 200, 400, 600, and 800 ng L⁻¹, respectively. Therefore, this bioreactor is a promising technology for wastewater treatment to remove recalcitrant pharmaceutical compounds even in concentration levels of ng L⁻¹. Also, the bioreactor's microbial activity had no significant inhibition even with the increase of SMZ concentration.

Keywords: Bioreactor, Wastewater, Sulfamethazine, LC-MS/MS, Removal kinetic

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia..	19
Figura 2- Reações químicas produtoras de metano.	21
Figura 3- Rotas de contaminação e exposição humana aos fármacos.	26
Figura 4- Estrutura química da sulfametazina.	28
Figura 5- Esquema ilustrativo da configuração do biorreator ABFSB.	29
Figura 6- Biorreator ABFSB em operação.	30
Figura 7- Espumas de poliuretano fixas à um anel de alumínio.	32
Figura 8- Pontos de coleta para cinética de degradação do biorreator.	40
Figura 9- Medição da vazão durante o período de operação do biorreator.	43
Figura 10- Tempo de detenção hidráulica durante as semanas de operação do biorreator.	43
Figura 11- Variação do pH do afluente e efluente durante a operação do biorreator.	45
Figura 12- Comportamento do pH ao longo do biorreator.	46
Figura 13- Concentração de ácidos orgânicos ao longo do biorreator.	50
Figura 14- Composição do biogás.	52
Figura 15- Cromatograma de esgoto lab-made com pico em 600 ng L ⁻¹ de SMZ (a) e 1000 ng L ⁻¹ de ¹³ C-SMZ (b), respectivamente.	54
Figura 16- DQO afluente, efluente e eficiência do ABFSB.	55
Figura 17- Adsorção estimada da SMZ no biorreator.	56
Figura 18- Perfil cinético de remoção de DQO de acordo com o TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.	58
Figura 19- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 200 ng L ⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.	60
Figura 20- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 400 ng L ⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.	61
Figura 21- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 600 ng L ⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.	62
Figura 22- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 800 ng L ⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de configuração de reatores ou sistemas usados para tratamento de esgotos.	18
Tabela 2- Constituintes e concentrações utilizados para o esgoto lab-made.	33
Tabela 3- Volume da solução de sulfametazina para diferentes concentrações	34
Tabela 4- Concentrações de ácidos orgânicos voláteis pelo GC-FID para o afluente e efluente.	49
Tabela 5- Concentrações de SMZ e eficiência de remoção.	57
Tabela 6- Equações cinéticas e as respectivas constantes cinéticas aparente de primeira ordem da remoção de DQO (k^{app}).	59
Tabela 7- Equações cinéticas e as constantes cinéticas aparente de primeira ordem da remoção de SMZ (k^{SMZ}).	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABFSB	Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo Ordenado
Af.	Afluente
Al	Alcalinidade intermediária
ANOVA	Análise de Variância
Ap	Alcalinidade parcial
Cao	Concentração Inicial de sulfametazina
Cres	Concentração residual de sulfametazina
DQO	Demanda Química de Oxigênio
E (%)	Eficiência
Ef.	Efluente
ETE	Estação de tratamento de esgoto
HLB	<i>Hydrophilic Lipophilic Balanced</i>
k:	Constante cinética de remoção
LC – MS/MS:	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial
LOQ	Limite de quantificação
SAs	Sulfonamidas
SMZ	Sulfametazina
¹³ C-SMZ	Sulfametazina-Fenil- ¹³ C ₆
SPE <i>online</i>	Extração em fase sólida em modo online
Sulf. Af.	Concentração de sulfametazina no afluente
Sulf. Ef.	Concentração de sulfametazina no efluente
TDH	Tempo de detenção hidráulica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS	16
2.1.	Objetivos específicos	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1.	Sistemas convencionais de tratamento de esgoto	17
3.2.	Digestão anaeróbia	19
3.3.	Biorreator anaeróbio – análise comparativa sobre biorreatores aeróbios	21
3.4.	Biorreator anaeróbio de leito fixo ordenado	23
3.5.	O problema global dos antibióticos	23
3.6.	Fármacos e sua via de exposição para o meio ambiente	25
3.7.	Sulfametazina	26
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1.	Configuração do biorreator ABFSB	29
4.2.	Etapas de operação do biorreator	31
4.3.	Inóculo	31
4.4.	Esgoto <i>lab-made</i>	33
4.5.	Reagentes	34
4.6.	Análises químicas	34
4.6.1.	<i>Determinação de alcalinidade do efluente do biorreator – Titulação potenciométrica</i>	35
4.6.2.	<i>Determinação de ácidos orgânicos voláteis no efluente do biorreator</i>	35
4.6.3.	<i>Determinação do biogás presente no headspace do biorreator</i>	35
4.6.4.	<i>Determinação da demanda química de oxigênio (DQO) – Método espectrofotométric</i>	36
4.6.5.	<i>Cálculo da alcalinidade</i>	37
4.6.6.	<i>Determinação da sulfametazina em esgoto lab-made e efluente do biorreator</i>	37
4.6.7.	<i>Teste estatístico de hipótese t de Student</i>	38
4.7.	Adsorção de sulfametazina	39
4.8.	Avaliação de parâmetros cinéticos	39
4.8.1.	<i>Avaliação da cinética de remoção</i>	39
4.8.2.	<i>Cálculo da eficiência de remoção da matéria orgânica e da sulfametazina</i>	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42

5.1. Controle da vazão	42
5.2. pH do afluente e efluente do biorreator ABFSB	44
5.3. Alcalinidade	47
5.4. Monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis	48
5.5. Composição do biogás	51
5.6. SPE <i>online</i>-LC-MS/MS	53
5.7. Remoção de matéria orgânica	54
5.8. Adsorção de sulfametazina	56
5.9. Remoção da sulfametazina	57
5.10. Cinética de degradação da matéria orgânica.....	58
5.11. Cinética de degradação da sulfametazina	59
6 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

A poluição de ecossistemas aquáticos por compostos farmacêuticos (fármacos) tem se tornado motivo de preocupação nas últimas décadas (1). O destino e os potenciais efeitos e riscos desses compostos nos ecossistemas e na saúde humana tem sido um tema de crescente pesquisa em todo o mundo (2-4). Efeitos genotóxicos e ecotóxicos vem sendo relatados para fauna e flora aquática (5). A literatura científica é escassa em estudos de monitoramento da presença de produtos farmacêuticos em estações de tratamento de esgotos (ETE) no Brasil. Stumpf et al. (6) foi um dos primeiros a relatar a presença de hormônios e anti-inflamatórios no esgoto e em ecossistemas aquáticos no estado do Rio de Janeiro.

Os antibióticos são uma categoria importante de produtos farmacêuticos comumente utilizados em medicina humana ou veterinária (7). De acordo a natureza do antibiótico, até 95% da dose administrada é excretada na urina e nas fezes na sua forma não transformada (NT) (8-9). As fontes potenciais para a ocorrência de produtos farmacêuticos no ambiente derivam de: resíduos gerados pela indústria farmacêutica e farmácias de manipulação; uso hospitalar; excreção de medicamentos aplicados no gado; e o uso agrícola de biossólidos como fertilizantes orgânicos, e por meio da lixiviação que podem chegar às águas subterrâneas e superficiais (10).

A detecção de antibióticos nos corpos receptores a partir de efluentes de ETEs indica a ineficiência dos processos atuais de tratamento de águas residuárias para a remoção desses compostos recalcitrantes, os quais são encontrados em baixas concentrações (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$) (11). Com base nesse fato, melhores alternativas são cruciais para superar esta questão, a fim de efetivamente remover compostos farmacêuticos como os antibióticos.

Dessa forma, com o aumento das pesquisas e informações sobre os fármacos, o uso de antibióticos gerou preocupação dos especialistas, e isto se deve à ocorrência nos ecossistemas aquáticos da seleção de bactérias multiresistentes e a possibilidade da transferência de genes de resistência nessa biota (12-26). Ou seja, o aumento do uso de antibióticos nas últimas cinco décadas possivelmente resultou em uma seleção genética de bactérias resistentes, com efeitos crônicos

ainda desconhecidos e, provavelmente, irreversíveis, fazendo com que a necessidade por novas pesquisas sobre a avaliação de remoção dos fármacos em ETEs seja de caráter emergencial (27-30).

A sulfametazina (SMZ) é um antibiótico membro da classe das sulfonamidas (31) e é frequentemente citada como a sulfonamida veterinária mais amplamente utilizada (32-34). Devido ao seu amplo uso, esse antibiótico é encontrado nos corpos receptores de águas residuárias. De acordo com Barnes et al. (17), nos Estados Unidos, as concentrações de SMZ são encontradas em efluentes de ETEs na concentração média de 360 ng L^{-1} (35).

Uma vez que os sistemas convencionais de tratamento de esgotos não conseguem remover alguns dos fármacos efetivamente, como é o caso da SMZ, alternativas para melhorias serão necessárias para contornar esse problema. Os métodos de biodegradação têm sido tradicionalmente utilizados em ETEs para remoção de compostos recalcitrantes. Eles podem ser divididos em processos aeróbios e anaeróbios, sendo sendo os sistemas de tratamento convencionais ineficientes para a remoção de fármacos em estações de tratamento de águas residuárias (36). No entanto, há poucos estudos sobre biorreatores anaeróbios com o intuito de avaliar a remoção de SMZ e a cinética de remoção, sendo principalmente focados no desempenho do biorreator anaeróbio relacionado à remoção de sulfonamidas na digestão de lodo ativado e sobre possíveis efeitos negativos na produção de biogás (37).

O biorreator anaeróbio de leito fixo ordenado (ABFSB) é uma alternativa para remoção de compostos recalcitrantes, já que a biomassa retida nas espumas favorece o crescimento de uma comunidade microbiana, o que permite a sua adaptação e condição para remoção de SMZ. O ABFSB foi utilizado com sucesso pelo Mockaitis (38) na remoção de Cd^{2+} e Cu^{2+} de águas residuárias. No entanto, não há pesquisas relacionadas à remoção de antibióticos usando esta configuração de biorreator.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral desse estudo é avaliar a remoção da sulfametazina de águas residuárias usando um biorreator anaeróbio contínuo de leito fixo ordenado (ABFSB).

2.1. Objetivos específicos

Os objetivos específicos considerados foram:

- I. Avaliar a eficiência de remoção da matéria orgânica para os efeitos de inibição da adição de SMZ no biorreator ABFSB;
- II. Estimar parâmetros cinéticos de remoção da matéria orgânica no biorreator ABFSB;
- III. Estimar parâmetros cinéticos de remoção da sulfametazina em quatro diferentes níveis de concentrações (200, 400, 600 e 800 ng L⁻¹) no biorreator ABFSB.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Sistemas convencionais de tratamento de esgoto

Uma estação de tratamento de esgoto (ETE) é uma combinação de unidades de tratamento que visa à recuperação da qualidade da água, de modo que a remoção de constituintes dos esgotos atinjam aos padrões de qualidade do corpo receptor. Os padrões de qualidade se constituem em valores limites de vários parâmetros físico-químicos e microbiológicos e são estabelecidos por legislação ambiental (38).

Em um sistema convencional de ETE, há três níveis de tratamento: primário, secundário e terciário. O tratamento primário envolve a remoção de materiais grosseiros, flutuantes e sedimentáveis por meio de grades e de equipamentos, como decantadores e caixas retentoras de areia, que envolvem a sedimentação. Já o tratamento secundário envolve a degradação de compostos carbônicos por uma comunidade microbiana (processos anaeróbios e aeróbios), ocorrendo, assim, a decomposição de compostos orgânicos complexos (carboidratos, proteínas, lipídios) em compostos mais simples (CO_2 , H_2O , NH_3 , H_2S , CH_4). Com relação ao tratamento terciário, tem-se como objetivos a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) por processos utilizando a desnitrificação e nitrificação e a remoção de microrganismos patogênicos por meio de tecnologias de desinfecção das águas residuárias. No entanto, essa última etapa não é muito convencional na maioria das estações sanitárias, dependendo da exigência em que a água precisa ser tratada antes de lançar para o corpo receptor (39).

Para que uma ETE remova compostos orgânicos e tóxicos e, assim, o efluente atinja os os padrões de qualidade exigidos, é necessário que o seu tratamento secundário seja eficiente. Dessa forma, os reatores biológicos, seja anaeróbio ou aeróbio, os quais possuem como função a remoção de matéria orgânica particulada ou dissolvida, se constituem nas principais unidades de uma ETE (38). Devido ao fato de haver distintas condições regionais e sazonais, não há um sistema de tratamento que possa ser indicado como o melhor. Assim, novas alternativas tecnológicas são fundamentais para que sejam compatíveis com as exigências dos padrões exigidos dos efluentes, além de avaliar o melhor reator biológico para as condições ambiente

em que a unidade se encontra. Sendo assim, pode-se destacar as alternativas apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Tipos de configuração de reatores ou sistemas usados para tratamento de esgotos.

Tipo	Processo predominante
Disposição no solo	Aeróbio e anaeróbio
Lagoas facultativas	Aeróbio e anaeróbio
Sistemas de lagoas tipo australiano	Aeróbio e anaeróbio
Lagoa aerada + lagoa de sedimentação	Aeróbio e anaeróbio
Lodos ativados convencionais	Aeróbio
Lodos ativados (aeração prolongada)	Aeróbio
Valas de oxidação	Aeróbio
Lodos ativados em reator do tipo batelada (batch)	Aeróbio
Poço profundo aerado (Deep Shaft)	Aeróbio
Filtro biológico aeróbio	Aeróbio
Reator aeróbio de leito fluidificado	Aeróbio
Filtro anaeróbio	Anaeróbio
Reator anaeróbio por batelada	Anaeróbio
Decanto-digestor	Anaeróbio
Decanto-digestor + filtro anaeróbio	Anaeróbio
Reator anaeróbio de manta de lodo (UASB)	Anaeróbio
Reator anaeróbio compartimentado (com chicanas)	Anaeróbio
Reator anaeróbio de leito fluidificado/expandido	Anaeróbio
Combinação de processos anaeróbio-aeróbio e biológico-físico-químicos	Aeróbio e anaeróbio

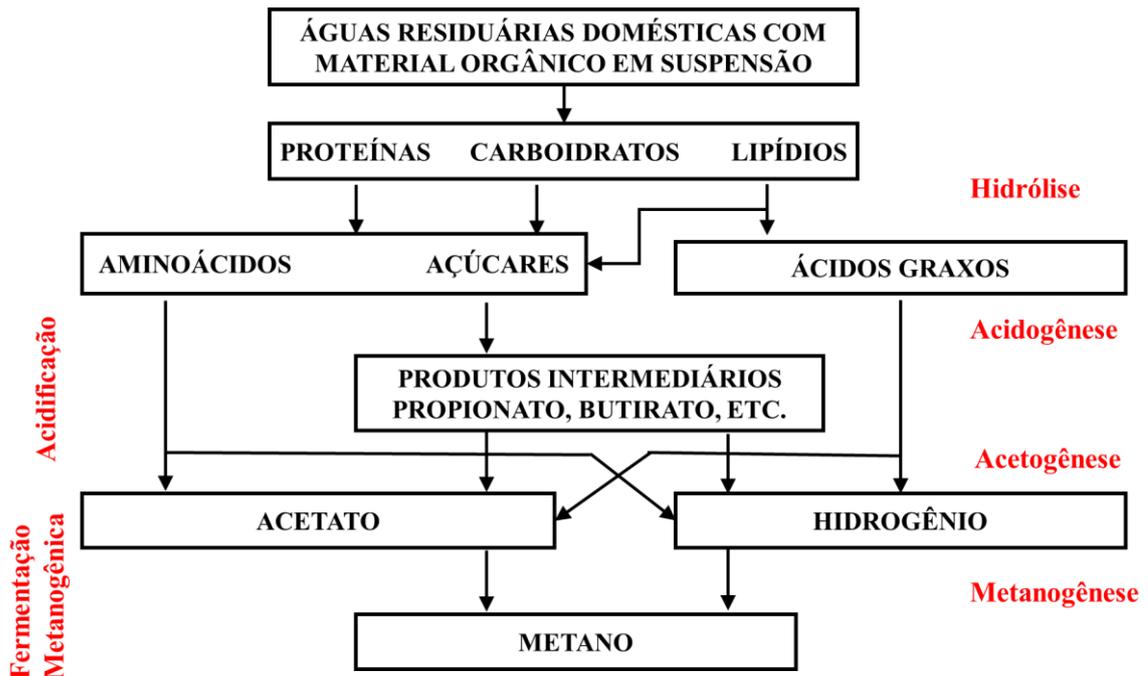
Fonte: Andrade Neto et al. (39).

Com relação a esses tipos de tratamento e outros não mencionados, tais como o biorreator anaeróbio de leito fixo ordenado, podem ser associados em uma estação de tratamento de esgoto, fazendo com que ocorra uma melhora na remoção de compostos recalcitrantes. Dessa forma, com o desenvolvimento de novos biorreatores para a remoção desses compostos, essas alternativas propiciarão para estações de tratamento de águas residuárias uma melhor qualidade para o efluente do sistema, minimizando os impactos nos ecossistemas aquáticos.

3.2. Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo que ocorre na ausência de oxigênio e transforma diversas formas de matéria orgânica complexa (carboidratos, proteínas e lipídios) em produtos mais simples (como CO_2 e CH_4) pelo metabolismo de um consórcio de diferentes microrganismos (40). A produção de gás metano e de outros compostos mais simples é um processo complexo que pode ser dividido de forma simplificada em quatro etapas diferentes no processo global de conversão: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (41). Para que se forme os produtos finais da digestão, é necessário que as diversas bactérias e arqueas presentes no processo atuem de forma interativa, pois caso uma etapa entre em colapso, o processo de conversão estará comprometido. A Figura 1 ilustra a sequência de etapas e seus produtos.

Figura 1 - Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia.



Fonte: Van Haandel e Lettinga (42).

I. Hidrólise

As bactérias fermentativas presentes nessa etapa convertem os compostos orgânicos complexos particulados (carboidratos, proteínas, lipídios) em compostos orgânicos dissolvidos (açúcares, aminoácidos, peptídeos) que possuem uma menor massa molar. Desta forma, com o auxílio das exoenzimas, as quais são excretadas pelas bactérias fermentativas, as proteínas são convertidas a aminoácidos, os carboidratos a açúcares solúveis (mono e dissacarídeos) e os lipídios a ácidos graxos. As espécies anaeróbias responsáveis por essa etapa são: as famílias *Streptococcaceae* e *Enterobacteriaceae* e o gênero das *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (43).

II. Acidogênese

Com a formação dos compostos orgânicos dissolvidos pela etapa da hidrólise, esses são excretados pelas bactérias fermentativas acidogênicas em substâncias orgânicas simples, tais como: ácidos orgânicos voláteis de cadeia curta (ácido acético, propiônico, butírico entre outros), ácido láctico, álcoois e compostos inorgânicos (CO_2 , H_2 , NH_3 , H_2S). Para que a acidogênese ocorra de forma adequada, as arqueas metanogênicas consumidoras de hidrogênio capturam instantaneamente o H_2 produzido, fazendo com que mantenha a pressão parcial do gás extremamente baixa. Isso mantém uma condição termodinamicamente favorável para que as bactérias produtoras de hidrogênio possam quebrar os compostos orgânicos dissolvidos (43).

III. Acetogênese

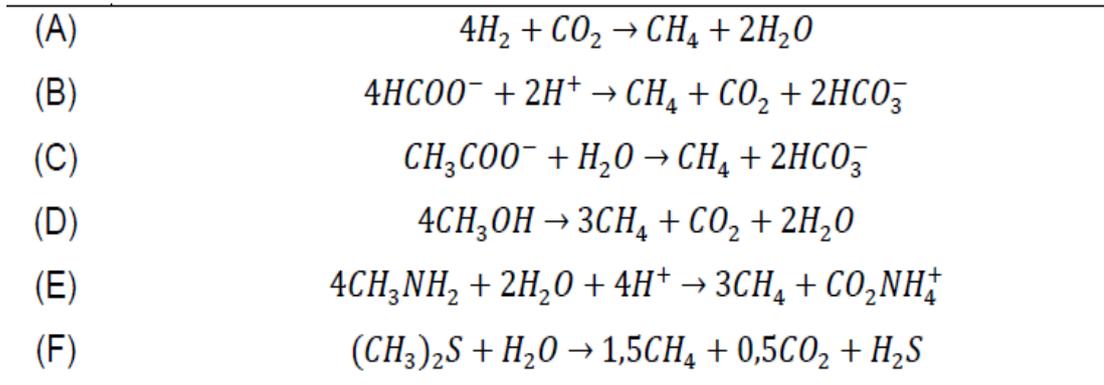
Os produtos gerados na etapa anterior da acidogênese serão utilizados como substrato para a conversão em dióxido de carbono, hidrogênio e acetato, os quais na próxima etapa servirão de substrato para a formação do metano. As principais reações que ocorrem na acidogênese são as conversões do ácido butírico e do ácido propiônico em acetato e hidrogênio e as principais bactérias acetogênicas mesofílicas que propiciam essas reações são: *Clostridium aceticum* e *Acetobacterium woodii* (43).

IV. Metanogênese

Para se formar o gás metano, este pode ser produzido por dois tipos de arqueas: as hidrogenotróficas e as acetotróficas. Na Figura 2, demonstra-se as vias de produção de metano. A via hidrogenotrófica (reação A e B), o qual ocorre através da redução de dióxido de carbono, contribui com 30% na geração de metano no sistema de tratamento anaeróbio, enquanto que a via acetotrófica (reação C), gerado a partir da redução de ácido acético, corresponde a 70% do

metano total produzido. Também há outras vias para se gerar o gás metano, de menor proporção mas importante mencionar: a via metilotrófica, o qual há grupos metil, como metanol (reação D); mono-, di-, trimetilaminas (reação E); dimetil sulfito (reação F) (43). Na Figura 2, encontram-se as reações para se obter o biogás, contendo concentrações de CH₄, CO₂, H₂S.

Figura 2- Reações químicas produtoras de metano.



Fonte: Khanal (2009) (43).

3.3. Biorreator anaeróbio – análise comparativa sobre biorreatores aeróbios

Para que ocorra a degradação de compostos orgânicos, as ETEs brasileiras utilizam-se de reatores biológicos, os quais podem ser anaeróbios ou aeróbios. Cada processo apresenta vantagens e desvantagens. Entretanto, quando se compara as características dos dois tipos de tratamento, há uma maior aceitação de sistemas de tratamento anaeróbio. Isto se deve a dois fatores principais: os avanços com relação ao desempenho dos sistemas anaeróbios modernos, tendo-se uma maior velocidade de remoção do material orgânico e da porcentagem de material orgânico digerido; outro fator principal refere-se as vantagens consideradas inerentes ao processo da digestão anaeróbia em comparação com o tratamento aeróbio, por haver um maior desempenho devido a uma melhor compreensão da digestão anaeróbia, o que resultou em sistemas mais eficientes.

De acordo com Foresti et al. (40), os biorreatores anaeróbios apresentam inúmeras vantagens em relação aos processos aeróbios convencionais, notadamente quando é aplicado em locais de clima tropical, como é o caso do tipo de clima no Brasil. Diante desse fato, pode-se esperar um biorreator anaeróbio com as seguintes características: sistema compacto, com baixa demanda de área; baixo custo de implantação; baixa produção de lodo e, assim, uma maior economia considerável no manejo e destino final desse resíduo sólido; baixo consumo de energia; produção de biogás, podendo utilizar como combustível para geração de energia; satisfatória eficiência de remoção de demanda química de oxigênio (DQO), da ordem de 65 a 75 % de remoção. Embora os biorreatores anaeróbios incluam amplas vantagens, algumas desvantagens podem ser atribuídas aos mesmos: possível emissão de odores devido a produção de H_2S ; baixa capacidade para tolerar altas cargas tóxicas; necessidade de um elevado intervalo de tempo para a estabilização do sistema; não consegue obter uma eficiência da remoção de matéria orgânica dentro dos padrões estabelecidos de qualidade da água, necessitando de uma etapa de pós-tratamento.

A fim de aumentar a eficiência dos sistemas de tratamento anaeróbio, procura-se acelerar o processo de digestão anaeróbia otimizando as condições operacionais favoráveis tendo em consideração temperatura, pH, alcalinidade, presença de nutrientes. Dado essas condições, o sistema de tratamento conterá elevada massa de microrganismos ativos, fazendo com que eleve o processo da digestão anaeróbia. Outro fator importante para aumentar a eficiência é que a biomassa presente no biorreator precisa estar em contato intenso entre o material orgânico presente no afluente (40).

O tratamento biológico apropriado de águas residuárias contaminadas com antibióticos tem sido aplicado para remover esses micropoluentes e mitigar o seu impacto no ambiente. Publicações anteriores relataram remoção incompleta de antibióticos por processo de lodo ativado(44-45). Para as águas residuárias hospitalares, o biorreator de membrana foi usado para remover os antibióticos, resultando em eficiências de eliminação abaixo de 60% para a maioria dos antibióticos (46).

3.4. Biorreator anaeróbico de leito fixo ordenado

Os biorreatores anaeróbios de leito fixo ordenado (ABFSB) consistem basicamente em um tanque contendo um leito de um material que não seja degradado pelas bactérias. Esse material pode ser de espuma de poliuretano, por exemplo, ocorrendo a fixação e o desenvolvimento de microrganismos na forma de biofilme, o qual os pesquisadores possuem o conhecimento dessa composição e estrutura, servindo como base para o desenvolvimento de pesquisas relacionadas à imobilização e à retenção celular (47). Ao optar por uma configuração ordenada das espumas, o biorreator estará menos propenso a ocorrer anomalias de escoamento, como zonas estagnadas e caminhos preferenciais do fluido. Caso o biorreator possua estas anomalias, o tempo de detenção hidráulica médio, obtido nos ensaios hidrodinâmicos, será diferente ao tempo de detenção hidráulica, o que pode resultar em uma pior eficiência do biorreator.

Dessa forma, sendo o fluxo dos esgotos passando por esse leito fixo, em fluxo ascendente, fará com que os microrganismos retidos no biorreator realizem a bioconversão da matéria orgânica presente na água residuária. Devido a biomassa estar aderida ao suporte, haverá um aumento do tempo de retenção celular em relação ao tempo de detenção hidráulica. Ou seja, o tempo médio que os microrganismos permanecem em uma unidade será maior do que o tempo médio em que os despejos líquidos permanecem no mesmo, o que resulta em uma maior eficiência e economia quanto a aplicação de inóculo no biorreator.

3.5. O problema global dos antibióticos

A descoberta de antibióticos é considerada o maior marco científico e médico do século XX. O seu desenvolvimento e uso na medicina humana e veterinária resultou na redução significativa das taxas de mortalidade e morbidade social e epidemiológica de doenças infecciosas significativas como tuberculose, sífilis, pneumonia, gonorréia e doenças

transmissíveis da infância. Consequentemente, a notável eficácia dos antibióticos mantém um senso de milagre (48).

A era antibiótica moderna remontava a pesquisas realizadas por Paul Ehrlich e Alexander Fleming. Ehrlich desenvolveu a abordagem de triagem sistemática para concretizar a ideia de descobrir balas mágicas, medicamentos caracterizados pela sua toxicidade seletiva para o tratamento de doenças infecciosas. Essa estratégia de busca de medicamentos levou à descoberta de sulfonamidas, os primeiros antibióticos de amplo espectro clinicamente bem sucedido em 1935 (49). Por outro lado, foi a descoberta da penicilina por Fleming em 1929 e os desenvolvimentos subsequentes em sua purificação por Howard Florey e Ernest Chain durante a Segunda Guerra Mundial, que lideraram a revolução antibiótica (50). Em 1946, um ano após o Prêmio Nobel de Medicina ser concedido a Fleming, Florey e Chain, a penicilina começou a ser produzida em escala industrial e comercializada no mercado aberto. Desde então, centenas de antibióticos foram desenvolvidos para terapia anti-infecciosa, iniciando uma nova era de medicamentos, denominada era antibiótica (51-52). Portanto, essa série de medicamentos tem salvado a vida de milhões de pessoas e animais por aproximadamente 60 anos. No entanto, o uso tem sido cada vez mais ameaçado pelo surgimento, disseminação e persistência da resistência aos antibióticos (53-54).

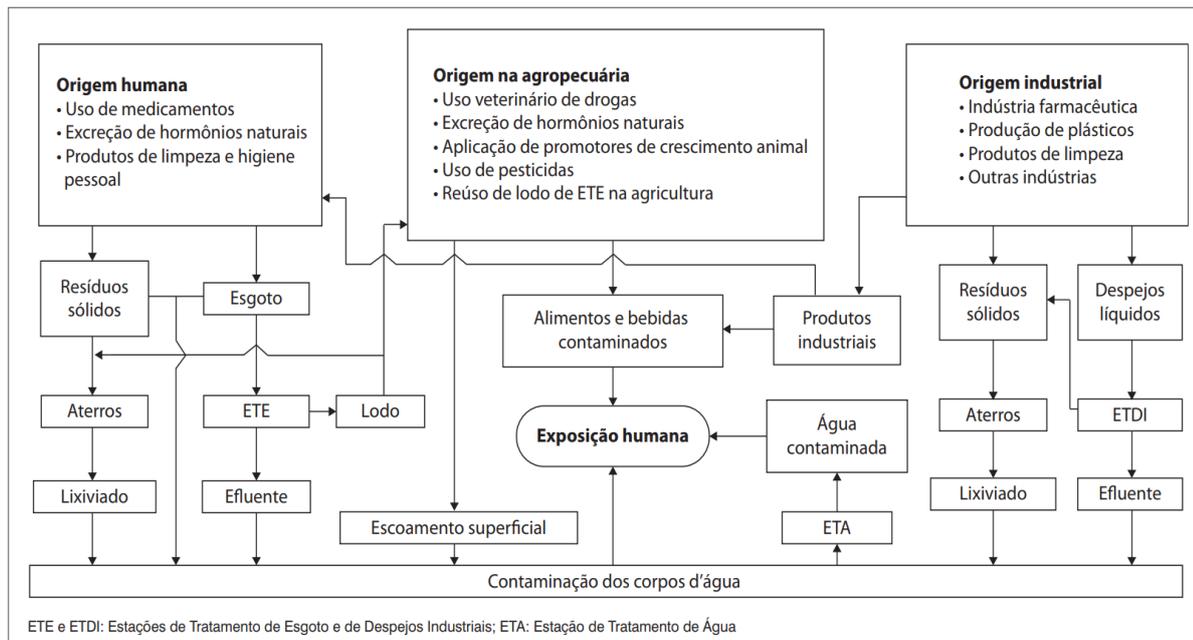
A resistência antimicrobiana ocorre quando microrganismos (como bactérias, fungos, vírus e parasitas) mudam quando são expostos a medicamentos antimicrobianos (como antibióticos, antifúngicos, antivirais, antimaláricos e anti-helmínticos). Os microrganismos que desenvolvem resistência antimicrobiana às vezes são chamados de "superbactérias". Como resultado, os medicamentos tornam-se ineficazes e as infecções persistem no corpo, aumentando o risco de propagação para outros. Globalmente, 480.000 pessoas tiveram infecções com microrganismos resistentes. A resistência a medicamentos está começando a complicar a luta contra o HIV e a malária também. Sem antibióticos eficazes, o sucesso das cirurgias médicas e odontológicas, e principalmente em tratamentos quimioterápicos contra o câncer podem ser comprometidos (55).

3.6. Fármacos e sua via de exposição para o meio ambiente

A evidência da liberação no ambiente de resíduos de produtos farmacêuticos começou a se acumular nos primeiros anos do século XXI. Os resíduos e os metabólitos dos produtos farmacêuticos podem assim contaminar significativamente o ambiente. Muitos estudos de toxicidade a curto prazo relataram que as moléculas de fármaco não têm um efeito tóxico agudo sobre os organismos aquáticos devido à sua presença em baixa concentração, mas a sua constante liberação e exposição à biota aquática têm efeitos a longo prazo (crônicos). Esse desafio atrai cada vez mais a atenção da comunidade científica.

Os fármacos podem entrar no ambiente através de várias vias (Figura 4), incluindo ETEs, serviços industriais, hospitais, instalações de aquicultura, escoamento de campos em águas superficiais e escoamento em solo através de criação de animais e aplicações de estrume no solo (56-58). Os efluentes domésticos não tratados e os efluentes tratados de indústrias e serviços hospitalares contendo alguns fármacos parcialmente degradados e refratários podem descarregar diretamente em vários corpos d'água receptores sem tratamento inadequado. A ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos, incluindo esgoto, água de superfície, águas subterrâneas e água potável, foi revisada recentemente por Luo et al. (59). Os resíduos de fármacos também podem entrar no ambiente através do ciclo hidrológico natural (60-61).

Figura 3- Rotas de contaminação e exposição humana aos fármacos.



Fonte: Aquino, Brandt e Chernicharo (62).

O esgoto doméstico é uma das principais fontes de fármacos lançados no meio ambiente. Os medicamentos utilizados por seres humanos ou animais podem ser direta ou indiretamente descarregados no meio ambiente. Alguns ingredientes farmacêuticos não metabolizados ou dissolvidos são excretados do corpo pelas fezes e urina (63) e finalmente descarregados nos sistemas de esgoto (64-65).

Outras vias de exposição aos fármacos incluem a eliminação de medicamentos não utilizados em aterros sanitários, escoamento de medicamentos veterinários a partir de superfícies duras em quintais, eliminação de carcaças de animais tratados e irrigação com água recuperada (66-67).

3.7. Sulfametazina

Os antibióticos são uma importante categoria de produtos farmacêuticos muito usados na medicina humana e veterinária (7,68,69). São utilizados como promotores de crescimento

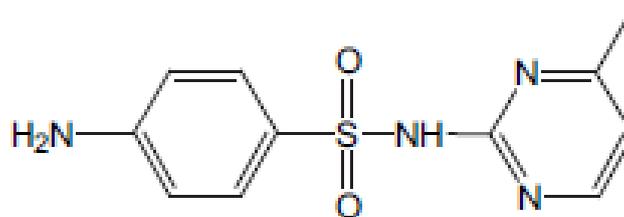
ou para fins terapêuticos (70-71). Globalmente, o consumo de antibióticos é estimado em 100.000 a 200.000 toneladas por ano (72). O seu uso tem contribuído enormemente para a saúde humana, porém, os antibióticos (como outros antimicrobianos) quando usados por longo tempo e de forma inadequada tem sua eficácia diminuída, em virtude da seleção de bactérias resistentes (73-76).

As bactérias podem desenvolver resistência aos antibióticos por meio de vários mecanismos, incluindo alterações por mutações do alvo do antibiótico, por permeabilidade celular e pela transferência horizontal de genes de resistência (77-81). Outros efeitos dos antibióticos sobre os ecossistemas aquáticos que não podem deixar de ser mencionados são os efeitos ecotoxicológicos e genotóxicos. O potencial efeito ecotoxicológico do metronidazol, que é uma substância antibacteriana, sobre *Chlorella sp.* e *Selenastrum capricornutum* em um teste de toxicidade aguda foi delineado por Lanzky e Halting-Sørensen (82).

Os antibióticos são divididos em diferentes classes, como β -lactâmicos, quinolonas, fluoroquinolonas, tetraciclina, macrolídeos, sulfonamidas (SAs), aminoglicosídeos, cefalosporinas e carbapenemos (29). A sulfametazina faz parte da classe das sulfonamidas, as quais são agentes antimicrobianos sintéticos, derivados de sulfanilamida, que são usados em aquicultura, criação de animais, e nos anos 1980 e 1990 foram também utilizadas como medicamentos humanos para tratar vários tipos de infecções causadas por bactérias e outros tipos de microrganismos (83). Particularmente, o risco ecológico de SAs é alto devido à sua alta toxicidade biológica (84) e recalcitrância (85). Na União Europeia (UE), sulfonamidas estão em segundo lugar entre os antibióticos veterinários mais utilizados (83). No entanto, a degradação microbiana das sulfonamidas como mecanismo de resistência microbiana recebeu pouca atenção até agora (86). De acordo com Thiele-Bruhn et al., (87) quase 90% das sulfonamidas são excretados sem sofrer biotransformação após seu consumo.

A SMZ é amplamente utilizado como promotor do crescimento na agricultura e como tratamento e prevenção de infecções, como infecções do trato urinário, febre reumática, toxoplasmose e outros (88). A Figura 4 mostra a estrutura química da SMZ.

Figura 4- Estrutura química da sulfametazina.



Fonte: Kim et al. (63).

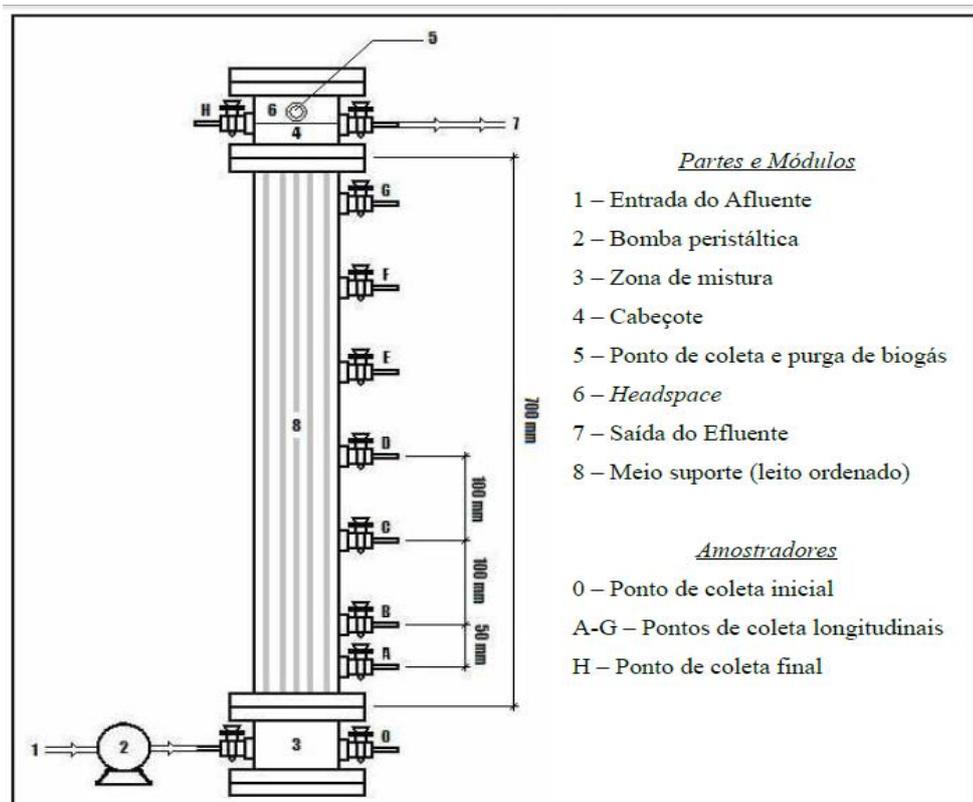
A sulfametazina é uma das sulfonamidas mais utilizadas para tratar infecções bacterianas em bovinos, e este antibiótico tem sido frequentemente detectado em ambas as águas superficiais e subterrâneas (89-91) em concentrações de até 2482 ng L⁻¹ e 220 ng L⁻¹, respectivamente. Como a SMZ é polar e solúvel em água, cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) é o método de escolha para sua análise devido à capacidade de separar e quantificar vários compostos com alta capacidade de detecção, seletividade e eficiência (92-94).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Configuração do biorreator ABFSB

O biorreator ABFSB, configurado em escala de bancada com material de acrílico, foi utilizado para avaliar a remoção de DQO e SMZ. O biorreator encontrava-se em câmara climatizada, em condições mesofílicas 30° C, com TDH de 24 horas. O ABFSB foi planejado conforme descrito por Mockaitis et al. (95) usando um volume de trabalho de 2,5 L. A Figura 5 apresenta o esquema simplificado com as dimensões do biorreator ABFSB.

Figura 5- Esquema ilustrativo da configuração do biorreator ABFSB.



Fonte: Mockaitis et al. (95)

Os amostradores foram inseridos na parte inferior e superior do biorreator para coleta de afluente e efluente. Além desses, haviam outros três pontos de coleta intermediários, separados 10,0 cm entre cada ponto. Assim, o biorreator ABFSB tinha altura de 60,0 cm, possuindo 6,50 cm de *headspace*.

Com o biorreator inoculado já em operação, utilizou-se de papel alumínio para evitar que a luz da câmara climatizada e da claridade do dia possa interferir no desempenho do biorreator, pois a presença de luz permite o desenvolvimento de algas fototróficas na parede interna do cabeçote, alterando, assim, o equilíbrio do ciclo do enxofre e diminuindo a eficiência na remoção de matéria orgânica.

Figura 6- Biorreator ABFSB em operação.



Fonte: Própria (2017)

4.2. Etapas de operação do biorreator

O biorreator ABFSB foi operado a 30 °C e TDH de 24 h durante 262 dias nas dependências do Laboratório de Processos Biológicos (LPB) do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (ESSC).

Um esgoto feito em laboratório (esgoto *lab-made*) foi utilizado como substrato do biorreator com DQO de 550 mg de O₂ L⁻¹. A SMZ foi adicionada no esgoto *lab-made* depois que o ABFSB atingiu o regime estável. Quatro diferentes concentrações de SMZ foram estudadas: 200, 400, 600 e 800 ng L⁻¹. As análises afluentes e efluentes do biorreator foram realizadas utilizando espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS). A SMZ é relatada no efluente de ETE a uma concentração média de 360 ng L⁻¹ (17). Com base nesse valor, os níveis de concentração foram selecionados para avaliar a eficiência de remoção de SMZ. A cinética de remoção de SMZ foi avaliada por um perfil espacial coletado no ABFSB. A remoção de DQO também foi avaliada para o mesmo perfil coletado.

A adição de sulfametazina e o processo de estabilização na degradação desse antibiótico começou a partir da data (24/11/2014). O processo de alimentação continuou o mesmo, porém agora com a introdução do antibiótico no meio. A primeira etapa de aplicação do antibiótico utilizou-se de um maior tempo de operação do biorreator, sendo no total de 105 dias de operação. Isto deve-se aos problemas encontrados ao adicionar a sulfametazina em uma concentração próxima da estabelecida (200 ng L⁻¹) e ao coletar as amostras nos pontos intermediários do biorreator, fazendo com que o perfil cinético de remoção de sulfametazina resultasse em dados incorretos, os quais não demonstravam a condição real do biorreator.

4.3. Inóculo

O procedimento de inoculação do suporte do biorreator consistiu na maceração dos grânulos do lodo e, logo após, a aplicação do lodo macerado no biorreator, já com as aparas de

espuma de poliuretano instaladas, sendo realizado o seu preenchimento total. A imobilização do inóculo no procedimento de espuma de poliuretano foi realizada de forma similar ao descrito por Zaiat et al. (96). O inóculo utilizado foi obtido a partir da biomassa do biorreator anaeróbio de manta de lodo e escoamento ascendente (UASB) aplicado ao tratamento de água residuária do abatedouro de aves (Avícola Dacar S/A, Tietê/SP).

O processo de inoculação da biomassa no biorreator foi mantida por 24 horas, fazendo com que os microrganismos pudessem se aderir à espuma e, assim, formar o biofilme. Terminado o tempo para aderência, retirou-se o excesso de lodo do biorreator, permanecendo somente a biomassa aderida. Escolheu-se este método em contraposição ao método de imersão das aparas de espuma de poliuretano no lodo macerado por pelo menos 2 horas devido a uma maior facilidade no manuseio e na eficiência de aderência dos microrganismos.

As espumas de poliuretano (16 espumas, 190 cm^3 de volume, 23 kg m^{-3} de densidade aparente e 95 % de porosidade) foram usadas como meio suporte já que é um material inerte, de baixo custo, fácil aquisição e aderência pelos microrganismos, possibilitando a formação de biofilme em sua superfície e a imobilização de microrganismos nos interstícios das espumas.

A Figura 7 mostra o tamanho das espumas usadas bem como o seu encaixe no anel de alumínio.

Figura 7- Espumas de poliuretano fixas à um anel de alumínio.



Fonte: Própria (2017).

Foram utilizadas 16 aparas de espuma de 35,0 cm. Mediu-se também a área da base de uma espuma para calcular a sua área da base, $0,800 \text{ cm} \times 0,800 \text{ cm}$, assim, calculou-se o volume total do meio suporte no biorreator: 358 cm^3 . No entanto, para determinar o volume útil, utilizou-se também de uma outra técnica, em que consistiu no enchimento de água no biorreator sem o meio suporte, calculando-se seu volume total e, logo após, encheu novamente o biorreator

com meio suporte. Sendo assim, subtraiu-se os valores de volume total pelo útil para determinar o volume real do meio suporte: 190 cm³.

4.4. Esgoto *lab-made*

O substrato utilizado como meio de alimentação do biorreator foi uma água residuária que simula a composição e a concentração de um esgoto sanitário doméstico (esgoto *lab-made*), apresentando uma concentração média de 550 mg O₂ L⁻¹ de DQO. A composição dessa água residuária foi adaptada de Torres (97), cuja descrição é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2- Constituintes e concentrações utilizados para o esgoto *lab-made*.

Constituintes	Concentração
Sacarose	47,8 mg L ⁻¹
Amido	148 mg L ⁻¹
Celulose	47,2 mg L ⁻¹
Extrato de Carne	215 mg L ⁻¹
Óleo de Soja	51,0 mg L ⁻¹
Bicarbonato de Sódio (NaHCO ₃)	728 mg L ⁻¹
Solução de fosfato (K ₂ HPO ₄)	1,00 mL L ⁻¹
Solução de sais (NaCl, MgCl ₂ , CaCl ₂)	1,00 mL L ⁻¹

Fonte: Torres (97)

Além desses compostos, adicionou-se também 0,500 mL L⁻¹ de uma solução de detergente comercial (200 mL L⁻¹) na qual a concentração de surfactante foi de aproximadamente de 15,0 mg L⁻¹, que é o valor comumente encontrado em esgoto sanitário.

4.5. Reagentes

A água purificada foi produzida no laboratório por um sistema de purificação Milli-Q Plus Ultra (Billerica, MA). Todos os padrões farmacêuticos utilizados foram de alta pureza (> 98%).

A sulfametazina (SMZ) e a ^{13}C -SMZ foram obtidas de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). O ^{13}C -SMZ foi usado como padrão interno (IS). Uma solução de reserva de 500 mg L^{-1} foi preparada em acetonitrilo (Panreac, Barcelona, Espanha) e foi adicionado ácido fórmico para melhorar a solubilidade da SMZ.

A SMZ foi adicionada ao esgoto *lab-made* em níveis de concentração de 200 (fase I), 400 (fase II), 600 (fase III) e 800 ng L^{-1} (fase IV). Uma solução de reserva de SMZ de 95 mg L^{-1} foi utilizada para aumentar a SMZ no esgoto *lab-made* em cada concentração de acordo com a fase. Esta solução foi preparada semanalmente em água e mantida na geladeira. Na Tabela 3 mostra-se o volume adicionado de SMZ.

Tabela 3- Volume da solução de sulfametazina para diferentes concentrações

Concentração de sulfametazina (ng L^{-1})	Volume ($\mu\text{L L}^{-1}$)
200	5,25
400	10,50
600	15,80
800	21,00

4.6. Análises químicas

Análises de DQO, pH e alcalinidade foram feitas de acordo com os métodos oficiais para análise de águas residuárias (97) Essas análises foram feitas pelo menos três vezes por semana para verificar o estado do biorreator.

4.6.1. Determinação de alcalinidade do efluente do biorreator – Titulação potenciométrica

A alcalinidade, expressa como CaCO_3 , conforme metodologia descrita por Dilallo e Albertson (99) e modificada por Ripley et al. (100), foi um dos parâmetros a ser analisados. Assim, para analisar a alcalinidade, coletou-se 50 mL de amostra bruta de efluente e afluente do biorreator e, assim, mediu-se o seu pH usando o pHmetro descrito acima. Após isso, começou a titular a amostra, sob agitação magnética, usando adição de solução padronizada de H_2SO_4 até pH 5,75. Anotou-se o volume V_1 , determinando-se a alcalinidade parcial, a qual pode ser aproximada à alcalinidade a bicarbonato. Para determinar a alcalinidade intermediária, continuou titulando-se com solução de H_2SO_4 até pH 4,3, encontrando uma alcalinidade próxima a sais de ácidos voláteis, anotando o volume V_2 utilizado. Então, para determinar a alcalinidade total, utilizou-se do somatório da alcalinidade parcial e intermediária.

4.6.2. Determinação de ácidos orgânicos voláteis no efluente do biorreator

A análise de ácidos orgânicos voláteis foi feita por cromatografia gasosa Shimadzu modelo GC-2010, com uma coluna capilar HP-INNOWAX (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm), utilizando um detector de ionização de chama (GC-FID). O método foi implementado e validado por Adorno et al. (101) no LPB-EESC.

4.6.3. Determinação do biogás presente no headspace do biorreator

As análises de composição do biogás foram realizadas por cromatografia gasosa Shimadzu modelo GC-2010, com uma coluna capilar Supelco Carboxen[®] 1010 PLOT (30 m \times 0,53 mm \times 0,40 μm), utilizando um detector de condutividade térmica (TCD) a 230 °C e um

injetor operando em *splitless* a 220 °C e como gás de arraste argônio. Estas análises permitiram a detecção e quantificação do biogás (CH₄, N₂, CO₂ e H₂) em fase gasosa. O volume injetado de biogás foi 500 µL.

4.6.4. *Determinação da demanda química de oxigênio (DQO) – Método espectrofotométrico*

A determinação de DQO baseou-se no método de refluxo fechado (5220D) descrito em APHA (1998) (102). A digestão foi feita no digestor de DQO marca HACH, e a leitura de absorbância em 620 nm no espectrofotômetro HACH 2500.

Para o experimento foram coletados amostras brutas de efluente e de afluente a fim de avaliar a eficiência de remoção de DQO. Coletou-se valores próximos a 30 mL de amostra bruta com o intuito de realizar duplicatas para a análise de DQO fração total e fração coloidal e dissolvida. Para a determinação da DQO fração total, adicionou-se 2,5 mL de amostra concentrada. Após isso, com o auxílio de dispensadores, adicionou-se 1,50 mL da solução de dicromato de potássio e, vagarosamente, 3,50 mL da solução de sulfato de prata em ácido sulfúrico concentrado. Fechou-se hermeticamente o tubo e agitou-se até a solução ficar totalmente misturada. Colocou-se os tubos no digestor previamente aquecido à temperatura de 150 °C e manteve-se por 120 minutos. Após terminar o tempo necessário no digestor, houve o resfriamento das soluções, para que assim, pudesse medir a absorbância da amostra. Todos os testes foram feitos em triplicata.

Para a determinação da concentração de DQO fração coloidal e dissolvida, utilizou-se do mesmo método, porém, necessitou que as amostras fossem filtradas em membrana de 1,2 µm.

4.6.5. Cálculo da alcalinidade

Calculou-se as alcalinidades parcial, intermediária e total pelas respectivas Equações (1), (2), (3):

Alcalinidade parcial (mg L⁻¹, como CaCO₃), Equação (1):

$$Al. Parcial = \frac{V1 \times 2 \times NH2SO4 \times 50.000}{VAmostra}$$

Alcalinidade intermediária (mg L⁻¹, como CaCO₃), Equação (2):

$$Al. Intermediária = \frac{V2 \times 2 \times NH2SO4 \times 50.000}{VAmostra}$$

Alcalinidade total (mg L⁻¹, como CaCO₃), Equação (3):

$$Al. Total = A_{parcial} + A_{intermediária}$$

Em que: V1 é o volume de ácido utilizado para atingir o pH de 5,75;

V2 é o volume de ácido utilizado para atingir o pH de 4,30;

VAmostra, volume de amostra utilizado (50 mL);

NH2SO4, normalidade;

4.6.6. Determinação da sulfametazina em esgoto lab-made e efluente do biorreator

O método de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) foi desenvolvido e validado para determinar a SMZ no afluente e efluente do biorreator. A extração em fase sólida *online* foi utilizada na etapa de preparo de amostras. Essa técnica de preparo de amostras em conjunto com a LC-MS/MS usando sistema de comutação de coluna (*column switching*) foi utilizada para analisar pequenos volumes de amostras de forma rápida e precisa. Este método seguiu o mesmo procedimento de um método anterior desenvolvido por Lima Gomes et al. (103). O procedimento é simples, as amostras tem seu pH ajustados para pH 3,0 com solução de ácido fórmico a 0,1% seguidas de duas filtrações usando membranas de 0,70 e 0,22 µm. Aproximadamente 5 mL de amostras foram coletadas para realizar essa análise. Após o ajuste do pH e a filtração, as amostras foram armazenadas em

tubos Falcon de 15 mL e refrigeradas por 1 semana até serem analisadas pela SPE *online*-LC-MS/MS.

O método SPE *online*-LC-MS/MS foi validado de acordo com as diretrizes internacionais. Limite de quantificação (LOQ), linearidade, precisão intra e inter-dia, e parâmetros de estabilidade foram avaliados seguindo o mesmo critério de Lima Gomes et al. (103). A LOQ foi determinada como sinal/ruído de 10, também foi o primeiro nível de calibração (100 ng L⁻¹). Três níveis de concentração diferentes em triplicata foram atendidos para a precisão intra e inter-dia.

4.6.7. *Teste estatístico de hipótese t de Student*

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

Para realização do teste utilizou-se os valores de eficiência de remoção do antibiótico de sulfametazina para as concentrações de 200, 400, 600 e 800 ng L⁻¹. As comparações foram realizadas a fim de que as três concentrações testadas fossem comparadas entre si.

- 1ª Comparação: Concentrações de 200 ng L⁻¹ e 400 ng L⁻¹;
- 2ª Comparação: Concentrações de 200 ng L⁻¹ e 600 ng L⁻¹;
- 3ª Comparação: Concentrações de 200 ng L⁻¹ e 800 ng L⁻¹.
- 4ª Comparação: Concentrações de 400 ng L⁻¹ e 600 ng L⁻¹;
- 5ª Comparação: Concentrações de 400 ng L⁻¹ e 800 ng L⁻¹;
- 6ª Comparação: Concentrações de 600 ng L⁻¹ e 800 ng L⁻¹.

O teste foi realizado obtendo nível de significância de 5%.

As hipóteses consideradas foram:

- Hipótese nula (H₀): os valores de eficiência de remoção entre as concentrações estudadas são iguais;

- Hipótese alternativa (H1): os valores de eficiência de remoção entre as concentrações estudadas são diferentes.

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

4.7. Adsorção de sulfametazina

Ao adicionar SMZ no afluente, no dia 24/11/2014, esperou-se por 24 horas (até completar o TDH do biorreator) para começar a coletar amostras a cada 2 horas a fim de observar a adsorção do antibiótico no meio suporte de espuma de poliuretano e nas paredes do biorreator. O período de coleta foi de 24 horas. Para o método, considerou-se que a biomassa estava inativada, não ocorrendo processos de reação durante essa etapa de adsorção.

4.8. Avaliação de parâmetros cinéticos

4.8.1. Avaliação da cinética de remoção

Para estimar os parâmetros cinéticos, o ABFSB foi considerado como plug-flow, conforme proposto por Mockaitis et al. (95). Para avaliar a cinética de remoção do biorreator, ensaios hidrodinâmicos foram realizados para avaliar os padrões de fluxo e o TDH real aplicado ao biorreator antes da adição da biomassa. A partir dos ensaios, considerou-se um reator de plug-flow ideal, isotérmico, em regime permanente e pseudo-homogêneo (104). Essas considerações permitem avaliar um parâmetro cinético aparente, que incorpora a cinética intrínseca, os fenômenos de transferência de massa convectiva e difusiva (105).

Para a realização do modelo cinético da remoção de matéria orgânica e da sulfametazina, abordou-se também como cinética de primeira ordem com residual.

Os dados experimentais foram ajustados para uma equação cinética de primeira ordem, utilizando uma concentração residual (Equação (4)) como demonstra:

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

Em que: C_{res} , o valor de concentração no reator quando o valor da taxa de reação é zero;

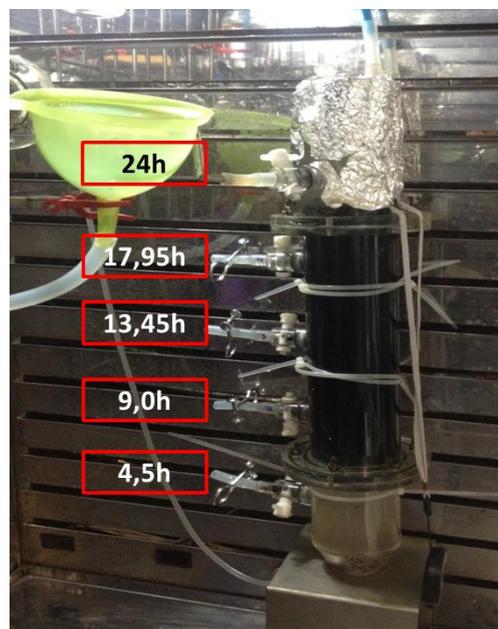
C_{ao} , é a concentração com $TDH = 0$;

k , a constante cinética de degradação;

TDH , o tempo de detenção hidráulica (TDH).

As constantes cinéticas do processo foram estimadas usando software OriginPro 8.5. O C_{res} adotado foi o limite de quantificação do método de DQO e do método de LC-MS/MS, 50 mg L^{-1} e 100 ng L^{-1} , respectivamente. Para a obter a cinética de remoção no biorreator ABFSB, as amostras foram coletadas no amostrador 1 (TDH de 4,50 h), amostrador 2 (TDH de 9,00 h), amostrador 3 (TDH de 13,45 h), amostrador 4 (TDH de 17,95 h) e amostrador 5 (TDH 24,00 h), conforme ilustrado na Figura 8.

Figura 8- Pontos de coleta para cinética de degradação do biorreator.



Fonte: Própria (2017).

Para comparar a constante de remoção de DQO e SMZ, o teste de Shapiro-Wilk para a normalidade foi aplicado para verificar se as amostras apresentavam distribuição normal. Posteriormente, a análise de variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar se as constantes de remoção de DQO e SMZ diferem estatisticamente.

4.8.2. Cálculo da eficiência de remoção da matéria orgânica e da sulfametazina

A remoção da matéria orgânica foi analisada em espectrofotometria, e obtida em $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, sendo que a eficiência de remoção é dada pela Equação (5).

$$E (\%) = \frac{DQOaf - DQOef}{DQOaf} .100$$

Em que: DQOaf e DQOef são determinadas no método espectrofotométrico do afluente e respectivo efluente após o TDH de 24 horas.

Já a eficiência de remoção do antibiótico está sendo realizada por análises usando método de SPE *online*-LC-MS/MS.

A equação utilizada para o cálculo da eficiência da remoção de sulfametazina utiliza uma equação semelhante à da remoção da matéria orgânica, como mostra a Equação (6).

$$E (\%) = \frac{sulf.af - sulf.ef}{sulf.af} .100$$

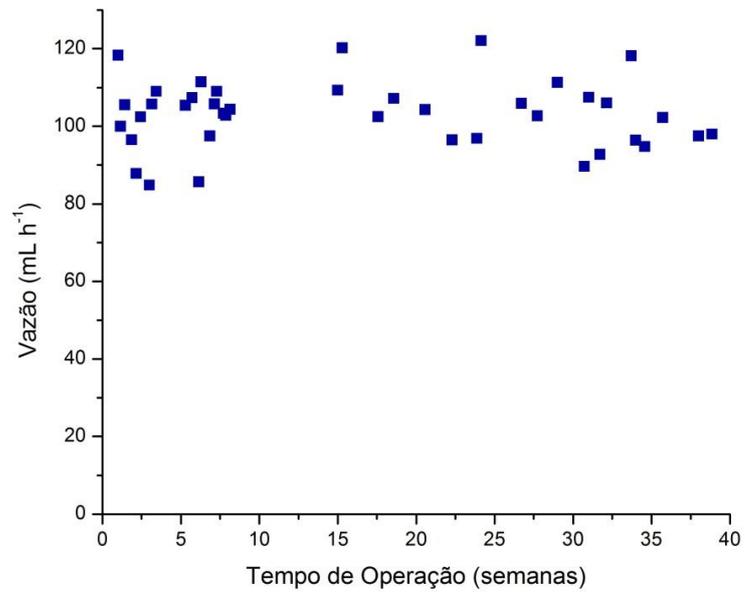
Em que: sulf. af e sulf. ef são as concentrações da sulfametazina no afluente e seu respectivo efluente após o TDH de 24 horas, analisado por LC-MS/MS.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Controle da vazão

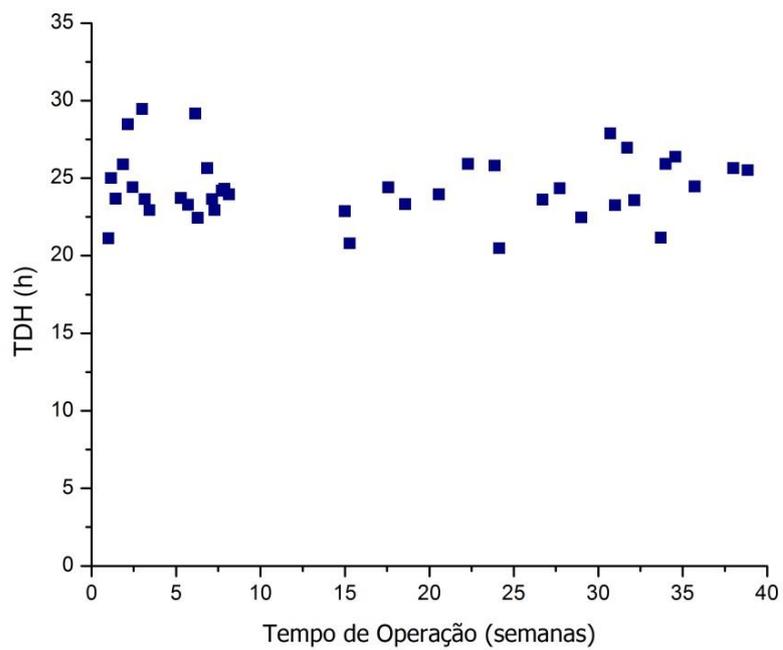
Conforme o planejado, o biorreator deveria estar próximo de um TDH de 24 horas, o que resulta em ajustes na bomba a fim de manter a vazão em $104,17 \text{ mL h}^{-1}$. Os fatores principais que fizeram com que houvesse diminuição de vazão foi a produção de polímeros pelas bactérias fermentativas, fazendo com que esses resíduos se depositassem na mangueira da bomba e, assim, reduzissem a sua vazão de entrada e, concomitantemente, a sua vazão de saída. Assim, para minimizar essa alteração na vazão, ao preparar os meios de alimentação, nas segundas, quartas e sextas-feiras, aproveitava-se também para limpar essas mangueiras com água sanitária diluída, com o intuito de remover os resíduos e eliminar esses microrganismos que podem afetar o desempenho do biorreator. Na Figura 9, mostra-se as medições de vazão em seu respectivo tempo de operação e na Figura 10, o TDH do biorreator ABFSB.

Figura 9- Medição da vazão durante o período de operação do biorreator.



Fonte: Própria (2017).

Figura 10- Tempo de detenção hidráulica durante as semanas de operação do biorreator.



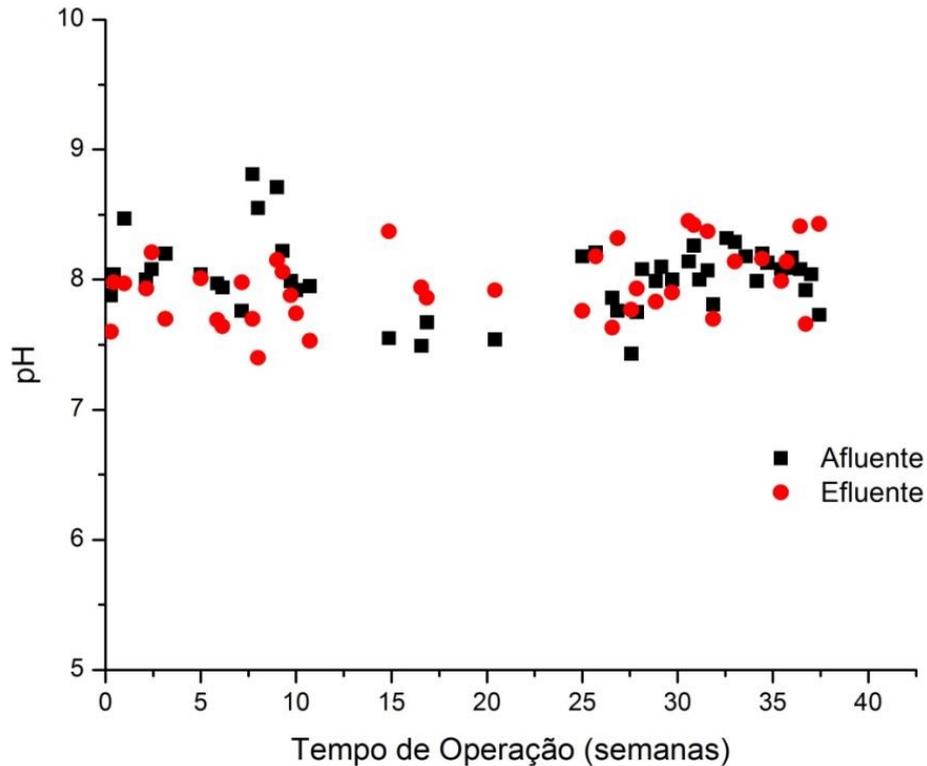
Fonte: Própria (2017).

A vazão média obtida é de $103,12 \pm 8,60 \text{ mL h}^{-1}$, o que resulta em um TDH médio de $24,2 \pm 2,1 \text{ h}$, não possuindo, assim, alterações bruscas na vazão durante as 40 semanas de operação do biorreator. A vazão ideal, para se obter um TDH de 24 horas, seria vazão de $104,16 \text{ mL h}^{-1}$, estando próximo da vazão experimental aplicada nesse estudo.

5.2. pH do afluente e efluente do biorreator ABFSB

O parâmetro pH é um fator importante para ser analisado por ser um indicador das características ácidas ou básicas do afluente e efluente. No tratamento de esgotos domésticos utiliza-se de um pH médio de 7,0 (106). Vários estudos utilizando reatores com substrato de esgotos domésticos trabalharam na faixa de 7,0 a 7,5, obtendo resultados satisfatórios com relação à proliferação de microrganismos(107-111). Na Figura 11, mostra-se a análise de pH obtida no afluente e no efluente.

Figura 11- Variação do pH do afluente e efluente durante a operação do biorreator.



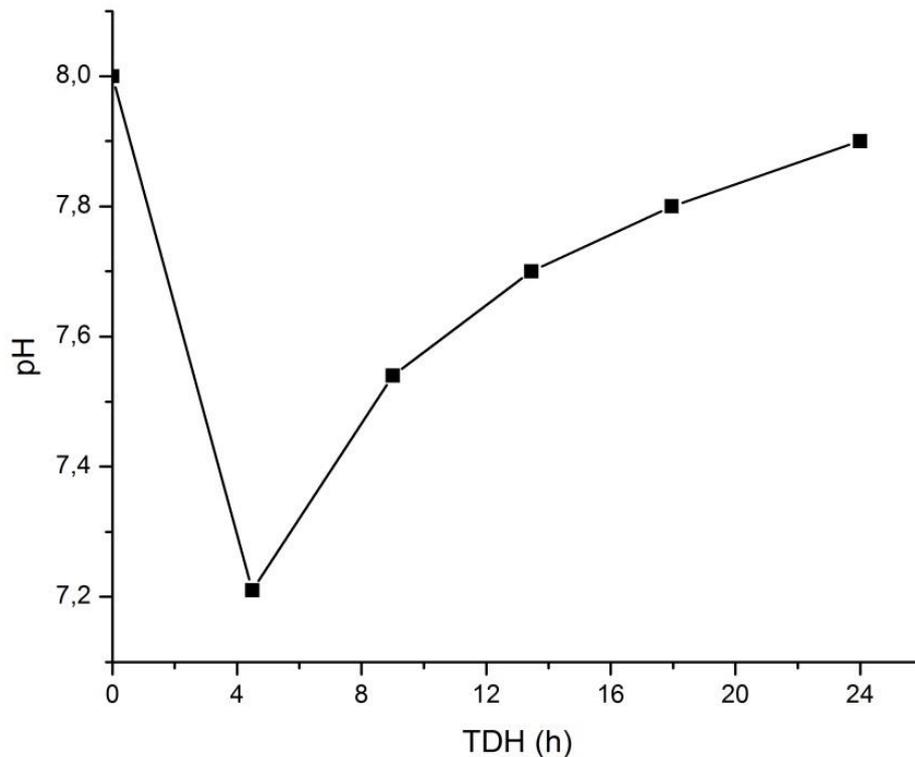
Fonte: Própria (2017).

A faixa de pH afluente e efluente se concentram entre 7,9 e 8,2. O pH médio para o afluente ao longo do tempo de operação é de $7,98 \pm 0,26$, sendo este valor próximo ao pH médio efluente, $7,96 \pm 0,28$. Optou-se por utilizar um pH um pouco acima de 7,0 com o intuito de evitar acidificação do substrato em virtude da atividade microbiana. Em pH inferior a 7,0, alguns microrganismos presentes no biorreator começam a sofrer inibição, por não estarem em condições ótimas de crescimento. Então, para obter um melhor desempenho, é necessário concentrar o pH em faixas entre 7,0 a 8,0 para que ocorra uma maior produção de metano, em contraposição a formação de ácidos orgânicos voláteis, e, assim, uma maior eficiência na remoção.

Ao comparar o pH afluente e efluente do sistema, percebe-se que o pH efluente encontra-se com um valor mais baixo, isso pode ser causado devido aos processos de oxidação biológica, os quais geralmente tendem a reduzir o pH do efluente (106). Entretanto, ao observar

o gráfico, há em algumas medições em que o pH efluente encontra-se acima do afluente, o que pode ser ocasionado pelo aumento da alcalinidade no biorreator. Na Figura 12, mostra-se o comportamento do pH em cada ponto de amostragem no biorreator ABFSB, desde o afluente até o efluente do biorreator.

Figura 12- Comportamento do pH ao longo do biorreator.



Fonte: Própria (2017).

As amostras foram coletadas em cada ponto amostral do biorreator a fim de obter o comportamento do pH durante o TDH, sendo o primeiro ponto (TDH = 0 h) o afluente e o último (TDH = 24 h) o efluente final. No segundo ponto de coleta (TDH = 4,5 h), há uma redução no pH, passando de 8,0 a 7,2. Esse decaimento pode ser explicado por meio da degradação de compostos orgânicos dissolvidos pelas bactérias fermentativas acidogênicas, produzindo ácidos orgânicos voláteis de cadeia curta, ácido lático, álcoois e compostos inorgânicos, os quais provocam uma diminuição no pH. A partir do segundo ponto de coleta, ocorre a etapa de acetogênese, utilizando-se, assim, dos produtos gerados pela acidogênese para

formar acetato e hidrogênio e, posteriormente, a metanogênese, o qual produz o biogás, possuindo como compostos CH_4 , CO_2 , o que resulta em um aumento no pH.

Um fator positivo da utilização dessa faixa de pH é a maior eficiência na formação de gás metano, o qual ocorre na faixa de pH 6 a 8, em oposição a formação de hidrogênio, o que leva a resultados de que o processo de metanogênese pelas bactérias está ocorrendo normalmente. Com relação a adição do antibiótico, conforme esperado, não houve variações significativas no valor de pH, mantendo-se os valores dentro dos intervalos anteriormente observados.

5.3. Alcalinidade

A alcalinidade tem como importância no sistema por propiciar o tamponamento do afluente e seu respectivo efluente, fazendo com que não ocorra mudanças bruscas no valor de pH do substrato do biorreator, evitando assim que o acúmulo dos ácidos orgânicos voláteis resulte na acidificação, por consequência a eliminação das arqueas metanogênicas. Dessa forma, de acordo com Souza (112), se o processo for operado sem acúmulo de ácidos orgânicos, é possível trabalhar bem com valores da ordem de 500 a 1000 $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, mesmo para efluentes industriais. A partir das análises de alcalinidade do afluente e efluente, obteve-se valores médios de alcalinidade.

I. Afluente

$$A_{\text{parcial}}(AP) = \frac{V_1 \times 2 \times \text{NH}_2\text{SO}_4 \times 50.000}{V_{\text{amostra}}} = \frac{2,10 \times 2 \times 0,04706 \times 50.000}{50} = 198 \text{ mg CaCO}_3 / \text{L}$$

$$A_{\text{intermediária}}(AI) = \frac{V_2 \times 2 \times \text{NH}_2\text{SO}_4 \times 50.000}{V_{\text{amostra}}} = \frac{0,82 \times 2 \times 0,04706 \times 50.000}{50} = 77 \text{ mg CaCO}_3 / \text{L}$$

$$A_{\text{total}} = A_{\text{parcial}} + A_{\text{intermediária}} = 198 + 77 = 275 \text{ mg CaCO}_3 / \text{L}$$

II. Efluente

$$A_{parcial}(AP) = \frac{V_1 \times 2 \times NH_2SO_4 \times 50.000}{V_{Amostra}} = \frac{2,82 \times 2 \times 0,04810 \times 50.000}{50} = 271 \text{ mgCaCO}_3/\text{L}$$

$$A_{intermediária}(AI) = \frac{V_2 \times 2 \times NH_2SO_4 \times 50.000}{V_{Amostra}} = \frac{0,83 \times 2 \times 0,04810 \times 50.000}{50} = 80 \text{ mgCaCO}_3/\text{L}$$

$$A_{total} = A_{parcial} + A_{intermediária} = 271 + 80 = 351 \text{ mgCaCO}_3/\text{L}$$

De acordo com Ripley et al. (100) a relação AI/AP é um indicador conveniente para comparar várias configurações de estado estacionário e para que as ETEs possuam uma boa operação é necessário estar próximo de 0,3. No entanto, Foresti et al. (113) ressaltam que mesmo com uma relação AI/AP diferente de 0,3 é possível o processo estar estável. Portanto, analisando os resultados para o afluente tem-se uma relação de $0,33 \pm 0,06$ e para o efluente, $0,29 \pm 0,04$. Não ocorreram alterações nos valores de alcalinidade nas diferentes concentrações de SMZ presentes no biorreator ABFSB.

5.4. Monitoramento dos ácidos orgânicos voláteis

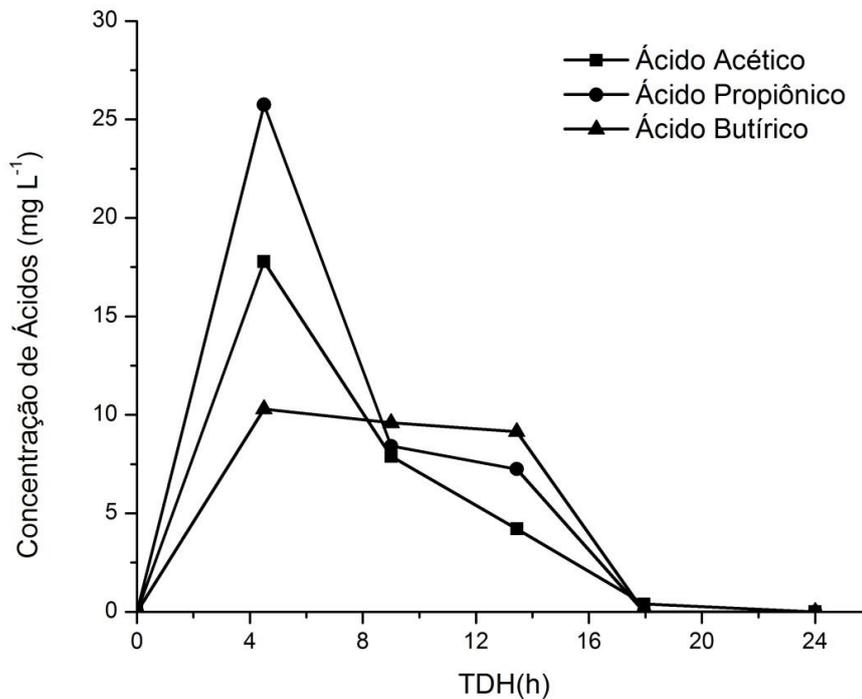
Com relação aos ácidos orgânicos voláteis: os ácidos acético, propiônico e butírico são os mais comuns em biorreatores anaeróbios com pH abaixo de 7,0. Os ácidos orgânicos voláteis não exercem ação tóxica quando o pH do sistema está entre 7,0 a 7,5. O intuito então de se analisar os ácidos orgânicos voláteis é devido à identificação de alguma outra rota metabólica dentro da digestão anaeróbia, ou seja, caso o ácido acético esteja sendo produzido, significa que as bactérias acetoclásticas não estão convertendo o ácido acético em gás metano e gás carbônico, minimizando a atuação da metanogênese no biorreator. Então, com os dados das análises de ácidos pela GC-FID, obteve-se as composições apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4- Concentrações de ácidos orgânicos voláteis pelo GC-FID para o afluente e efluente.

Amostra Afluente	Concentração (mg L⁻¹)	Amostra Efluente	Concentração (mg L⁻¹)
Acetona	0,00	Acetona	0,00
Metanol	0,00	Metanol	17,73
Etanol	0,00	Etanol	16,88
Isobutanol	0,00	Isobutanol	0,00
n-Butanol	0,00	n-Butanol	0,00
Ac. Acético	0,00	Ac. Acético	0,00
Ac. Propiônico	0,00	Ac. Propiônico	0,00
Ac. Isobutírico	0,00	Ac. Isobutírico	0,00
Ac. Butírico	9,29	Ac. Butírico	0,00
Ac. Isovalérico	0,00	Ac. Isovalérico	0,00
Ac. Valérico	0,00	Ac. Valérico	0,00
Ac. Crotônico	0,00	Ac. Crotônico	0,00
Ac. Caprótico	0,00	Ac. Caprótico	0,00

A partir dos dados obtidos, pode-se concluir que os ácidos orgânicos voláteis, produzidos pela digestão anaeróbia das bactérias fermentativas acidogênicas, acabam sendo totalmente consumidos por meio dos microrganismos presentes no biorreator que convertem esse produto, sendo realizado esse consumo durante o processo de acetogênese e, assim, concluindo a digestão anaeróbia com a metanogênese, o qual será verificado a composição gasosa do biorreator a fim de avaliar se o processo de formação de CH₄ e CO₂ está ocorrendo. Um outro fator interessante de se analisar é o momento em que há produção e consumo de ácidos orgânicos voláteis durante o TDH do biorreator ABFSB, sendo ilustrado na Figura 12.

Figura 13- Concentração de ácidos orgânicos ao longo do biorreator.



Fonte: Própria (2017).

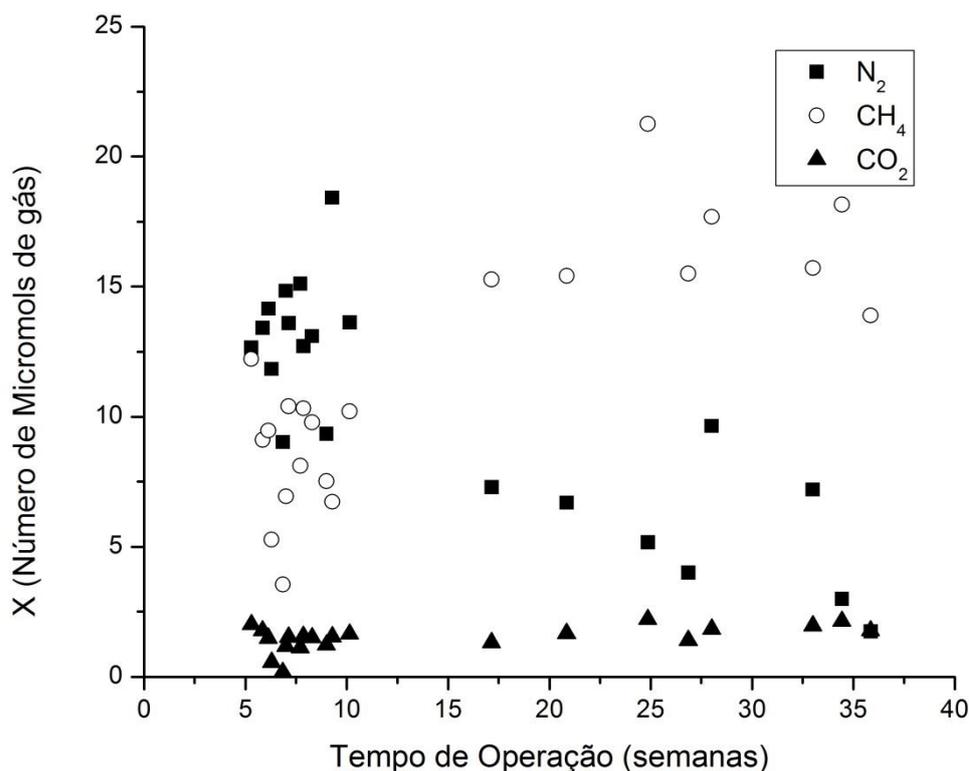
Preferiu-se por utilizar somente os ácidos acético, propiônico e butírico na Figura 13 devido a maior regularidade nos dados obtidos e, também, por serem um dos ácidos mais significativos durante a rota metabólica. Percebe-se que há uma crescente produção de ácidos até o primeiro ponto de amostragem (4,5 h), ocorrendo, até esse período, o processo de acidogênese. A partir dessa etapa, ocorrem os processos de acetogênese e, posteriormente, os de metanogênese, fazendo com que provoque uma redução na concentração dos ácidos e, concomitantemente, a produção do biogás (CH_4 , CO_2) pelas arqueas metanogênicas.

5.5. Composição do biogás

Ao coletar amostras de biogás no *headspace* do biorreator, obteve-se, a partir da análise da GC-TCD, a composição dos gases presentes como: gás metano, gás nitrogênio e gás carbônico. A produção de gás metano e de gás carbônico foi resultante da biodegradação dos microrganismos pela digestão anaeróbia e o gás nitrogênio resultante vindo do ar atmosférico que contamina no momento em que se faz a amostragem. Não houve produção de hidrogênio, o que indica que a rota metabólica está atuando de forma correta, partindo da hidrólise, acidogênese, acetogênese e chegando na metanogênese, com a produção de CH₄ e CO₂.

Com base nos dados obtidos em laboratório, apresentados anteriormente, determinou-se a composição do biogás em micromols de N₂, CH₄, CO₂. Na Figura 14, mostra-se o número de micromols produzidos para cada elemento presente no biogás.

Figura 14- Composição do biogás.



Fonte: Própria (2017).

Os gases foram monitorados a partir da 6ª semana de operação. Isto deve-se ao fato de haver pouca produção de biogás durante o processo de estabilização do biorreator, o que não permitiu a quantificação das amostras anteriores. Ao analisar as tendências de produção de cada composto, o gás carbônico manteve-se constante em sua produção, enquanto que os outros compostos tiveram-se algumas mudanças quanto a geração até a 11ª semana de operação. Ou seja, essas variações na concentração dos compostos gasosos pode ter sido ocasionada por uma falha ao injetar a amostra no cromatógrafo para se fazer a análise, dado que a concentração de N₂ obtido é proveniente da atmosfera, sendo esta adquirida na amostra no momento da injeção.

Percebe-se que a partir da 18ª semana, esse erro foi identificado e corrigido, resultando em menores concentrações de N₂ envolvidas na amostra de biogás. Dessa forma, por haver uma maior conformidade, optou-se por fazer uma média somente das concentrações a partir da 18ª semana, sendo $5,59 \pm 2,60$ micromols de N₂, $16,6 \pm 2,32$ micromols de CH₄ e $1,79 \pm 0,319$

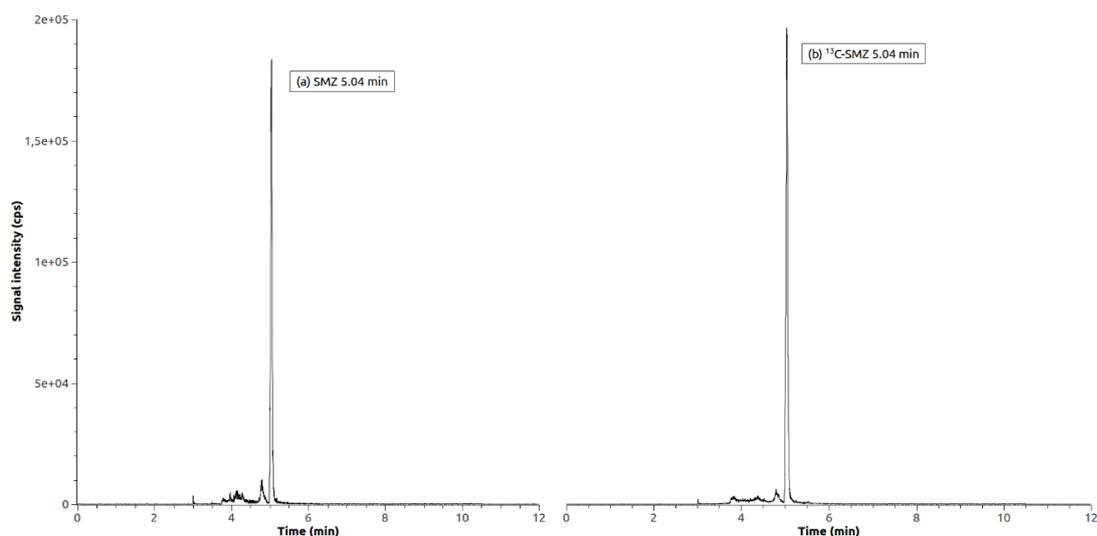
micromols de CO₂. Nota-se que não houve produção de hidrogênio, constatando que houve a geração de biogás e, assim, a ocorrência da metanogênese no biorreator ABFSB.

As arqueas metanogênicas são geralmente considerados como sendo o grupo de microrganismos mais sensível que participam no processo anaeróbio e a sua atividade é normalmente a etapa limitante do processo (114). Então, é possível que os fármacos possam afetar a fisiologia e o crescimento das arqueas metanogênicas e, eventualmente, levar à baixa eficiência do processo. No entanto, ao analisar a pouca variação na Figura 13 durante a adição de sulfametazina é possível constatar que não houve inibição da metanogênese a partir das diferentes concentrações desse antibiótico presente no biorreator.

5.6. SPE *online*-LC-MS/MS

Conforme demonstrado no método anterior, o SPE *online*-LC-MS/MS foi adequado para pré-concentrar e extrair SMZ (104). Além disso, foi possível separar SMZ e seu padrão interno (¹³C-SMZ) de interferências no esgoto *lab-made* e no efluente do biorreator. Um cromatograma de esgoto *lab-made* com pico em 600 ng L⁻¹ de SMZ e 1000 ng L⁻¹ de ¹³C-SMZ, respectivamente, é mostrado na Figura 15.

Figura 15- Cromatograma de esgoto *lab-made* com pico em 600 ng L⁻¹ de SMZ (a) e 1000 ng L⁻¹ de ¹³C-SMZ (b), respectivamente.



Fonte: Lima Gomes (103).

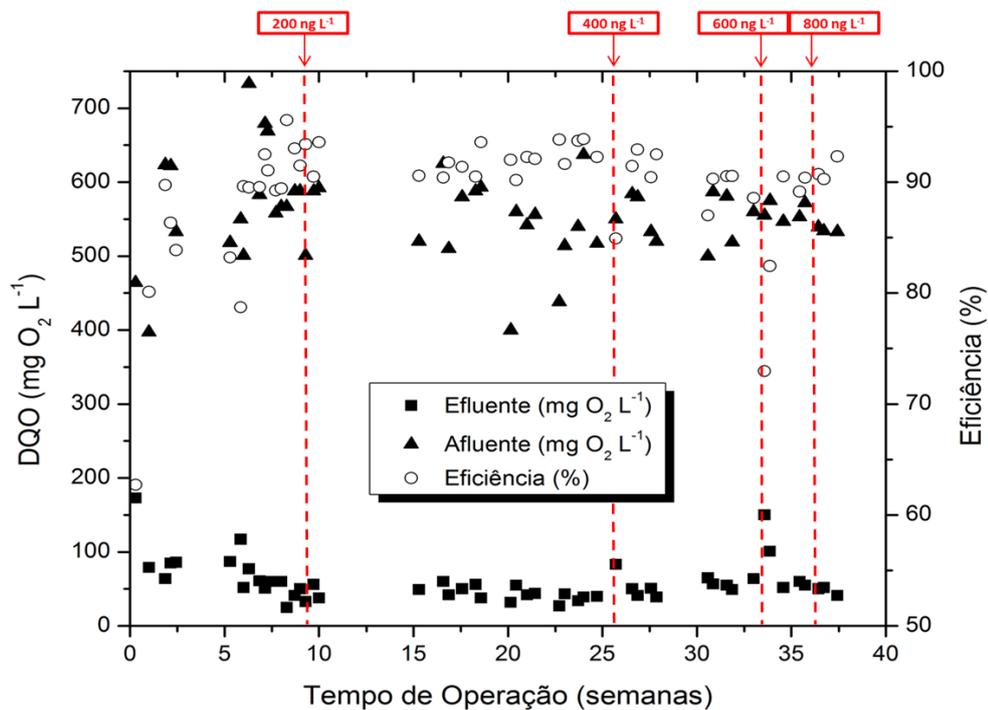
O limite de quantificação (LOQ) para SMZ foi de 100 ng L⁻¹. A linearidade para SMZ foi de 100 a 5400 ng L⁻¹. As curvas analíticas foram construídas com base na combinação de matriz, uma curva para o afluente foi desenvolvida no esgoto *lab-made* e outra para o efluente do biorreator sem a presença de SMZ. Estes procedimentos foram adotados para evitar a falta de precisão durante a análise aplicada neste estudo. A linearidade não apresentou falta de ajuste e o coeficiente de correlação foi superior a 0,98. Uma regressão linear ponderada de mínimos quadrados de $1/x^2$ foi aplicada apenas para o efluente do biorreator. Além disso, a precisão intra e inter-dia foi inferior a 6%. A supressão do sinal foi observada em um estudo anterior de Lima Gomes et al. (103) para ambas as matrizes, seja o esgoto *lab-made* e ou mesmo o efluente do biorreator, portanto, ¹³C-SMZ foi usado como IS para minimizar esse efeito.

5.7. Remoção de matéria orgânica

A DQO no afluente foi de $555,9 \pm 54,85$ mg O₂ L⁻¹, estando próxima da DQO teórica do esgoto doméstico, 550 mg O₂ L⁻¹, de acordo com a proposta inicial desse projeto. A DQO

efluente bruto foi de $58,89 \pm 22,72 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, enquanto a DQO efluente filtrado foi de $34,38 \pm 12,19 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Como a DQO efluente filtrado encontra-se abaixo do LOQ do método de $50 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, para fins de cálculo de eficiência utilizou-se o valor do LOQ desse método. Assim, a eficiência de remoção de ABFSB obtida para o efluente bruto foi de $89,26 \pm 4,022 \%$ e $91,01 \pm 0,0884 \%$ para o efluente filtrado, resultando em remoção significativa de DQO. A Figura 16 mostra os dados de DQO afluente e efluente durante 38 semanas de operação.

Figura 16- DQO afluente, efluente e eficiência do ABFSB.



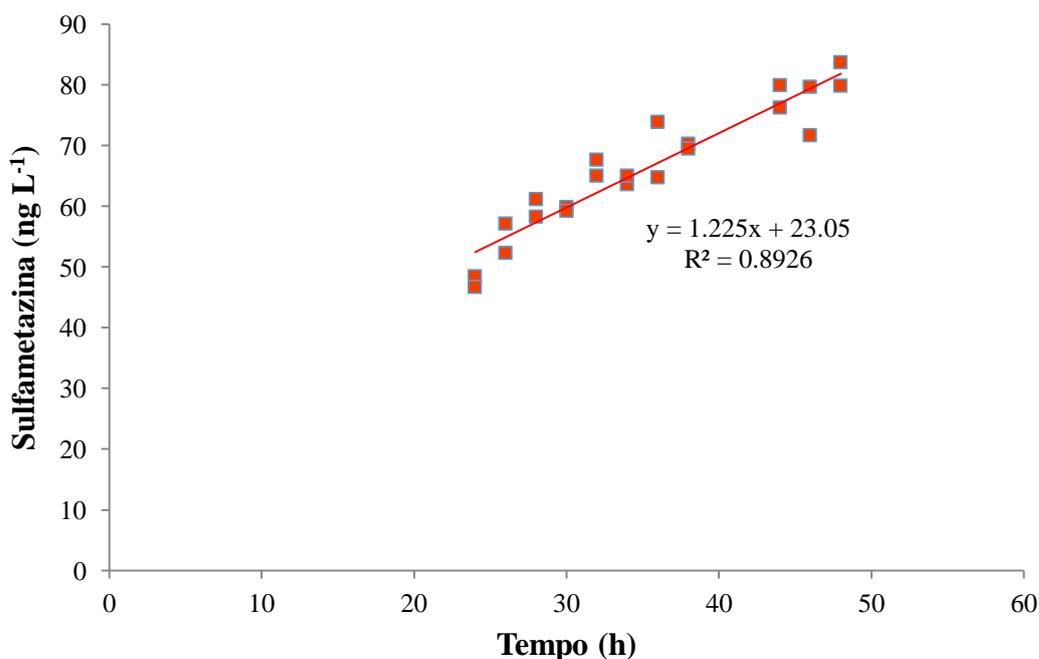
Fonte: Própria (2017).

Desde o início da operação da ABFSB, até a sexta semana, o biorreator estava em processo de estabilização, indicando uma menor eficiência de remoção de efluente bruto. Na 8ª semana de operação, SMZ foi adicionada ao afluente e nenhuma alteração na eficiência de remoção de DQO foi observada durante a fase I e II (27ª semana). No entanto, na 33ª semana, o SMZ foi aplicado a uma concentração de 600 ng L^{-1} e observou-se uma ligeira diminuição na eficiência de remoção de DQO no ABFSB. Esse resultado pode ter sido iniciado devido ao aumento da concentração de SMZ que pode inibir microrganismos. No entanto, uma vez adicionado 800 ng L^{-1} de SMZ no afluente (36ª semana), ficou evidente através dos cálculos de remoção de DQO e de SMZ de que não houve a inibição de microrganismos.

5.8. Adsorção de sulfametazina

Para a adsorção de SMZ, houve como resultado a observação de uma tendência linear da concentração de SMZ, em ng L^{-1} , o que mostra a concentração se elevando até se estabilizar. Na Figura 17, pode-se verificar o perfil de adsorção pelo tempo.

Figura 17- Adsorção estimada da SMZ no biorreator.



Fonte: Própria (2017).

A avaliação experimental de adsorção do antibiótico deu-se somente no período entre as 24 h e 48 h, o que pode ser prejudicial na obtenção exata do comportamento adsorptivo. Coletou-se uma amostra de efluente no tempo de 4 horas para comprovar se a SMZ somente estaria presente próximo ao TDH do biorreator. Nessa análise por LC-MS/MS, a concentração de SMZ nessa coleta era nula. Esse ainda é um estudo preliminar, contudo, percebe-se a demora em se atingir a estabilidade no efluente em virtude de processos adsorptivos bem como o metabolismo microbiano ocorrendo em conjunto.

5.9. Remoção da sulfametazina

Após ocorrido o processo de adsorção, a frequência das coletas de efluente do biorreator ocorriam um dia após a alimentação do biorreator, com o intuito de obter a análise de remoção de SMZ. Com relação ao afluente, foram feitas coletas no momento de preparo da alimentação, sendo nas segundas, quartas e sextas-feiras.

A Tabela 5 mostra os níveis de concentração de SMZ monitorados no afluente e efluente do biorreator durante cada fase de operação.

Tabela 5- Concentrações de SMZ e eficiência de remoção.

	(Fase I) 200 ng L ⁻¹	(Fase II) 400 ng L ⁻¹	(Fase III) 600 ng L ⁻¹	(Fase IV) 800 ng L ⁻¹
Dias de operação	105	45	19	10
Afluente (ng L⁻¹)	242 ± 83,7	420 ± 55,4	650 ± 26,4	886 ± 49,3
Efluente (ng L⁻¹)	122 ± 48,5	190 ± 32,4	297 ± 32,4	451 ± 40,2
Eficiência (%)	52,8 ± 12,1	55,0 ± 8,15	53 ± 6,14	48,8 ± 5,44

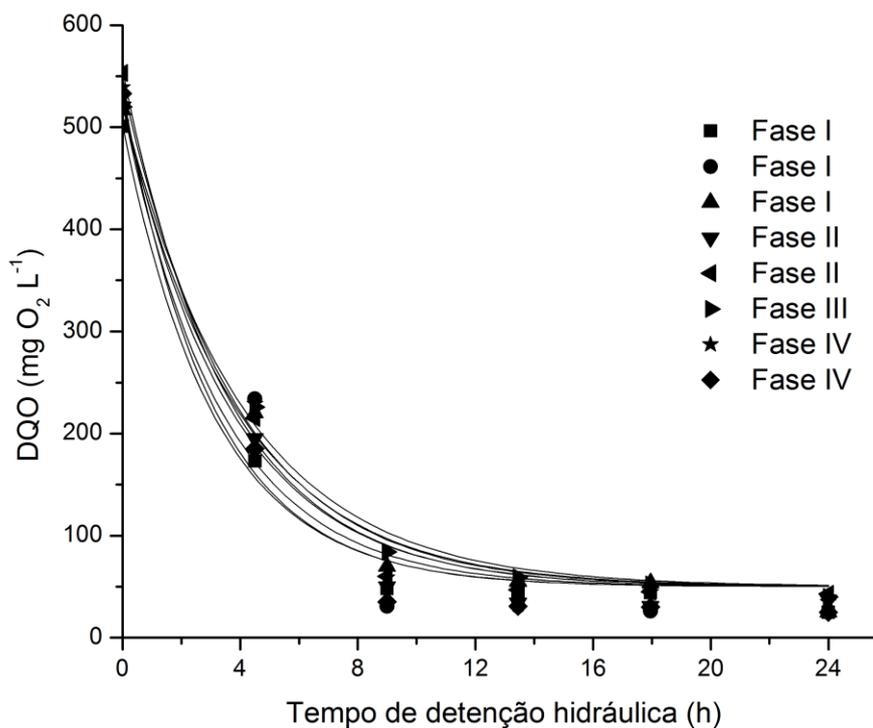
A eficiência de remoção de SMZ manteve-se constante em diferentes concentrações impostas ao biorreator ABFSB. No entanto, houve uma ligeira diminuição na eficiência (48,8 ± 5,44 %) na fase IV (800 ng L⁻¹ de SMZ), o que não é conclusivo da inibição do microrganismo. Apesar de haver estudos mostrando efeitos de inibição, estes ocorrem em concentrações elevadas (115-116).

Assim, em geral, a ABFSB tem uma remoção significativa da SMZ, já que, de acordo com Batt et al. (117), as sulfonamidas são compostos recalcitrantes e resistentes à biodegradação através do processo de tratamento de águas residuais, não sendo completamente removidas.

5.10. Cinética de degradação da matéria orgânica

Oito perfis cinéticos do ABFSB foram avaliados na 10^a semana (fase I), 16^a semana (fase I), 25^a semana (fase I), 28^a semana (fase II), 32^a semana (fase II), 36^a semana (fase III), 37^a semana (fase IV) e 38^a semana (fase IV). As amostras foram coletadas de quatro pontos intermediários e do efluente final, com TDH de 4,50 h, 9,00 h, 13,45 h, 17,95 h e 24,00 h, respectivamente. Os dados obtidos estão representados na Figura 18.

Figura 18- Perfil cinético de remoção de DQO de acordo com o TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.



Fonte: Própria (2017).

Os diferentes perfis cinéticos têm um R^2 médio de $98,1 \pm 1,3$ %, o que resultou em uma equação de primeira ordem com residual. Para o TDH de 9,00 h, a concentração de DQO diminuiu para valores inferiores a LOQ, o que sugere que é necessário um tempo menor de TDH para remover a matéria orgânica.

A Tabela 6 mostra a constante cinética aparente de COD (k^{app}) em todo o ABFSB, bem como suas respectivas equações cinéticas.

Tabela 6- Equações cinéticas e as respectivas constantes cinéticas aparente de primeira ordem da remoção de DQO (k^{app}).

	Equação	Constante cinética (k^{app})
Fase I	$C(t)=50,0 + 453. e^{-0,320. TDH}$	$0,320 \text{ h}^{-1}$
Fase I	$C(t)=50,0 + 477. e^{-0,275. TDH}$	$0,275 \text{ h}^{-1}$
Fase I	$C(t)=50,0 + 471. e^{-0,256. TDH}$	$0,256 \text{ h}^{-1}$
Fase II	$C(t)=50,0 + 473. e^{-0,300. TDH}$	$0,300 \text{ h}^{-1}$
Fase II	$C(t)=50,0 + 473. e^{-0,243. TDH}$	$0,243 \text{ h}^{-1}$
Fase III	$C(t)=50,0 + 506. e^{-0,280. TDH}$	$0,280 \text{ h}^{-1}$
Fase IV	$C(t)=50,0 + 494. e^{-0,264. TDH}$	$0,264 \text{ h}^{-1}$
Fase IV	$C(t)=50,0 + 486. e^{-0,328. TDH}$	$0,328 \text{ h}^{-1}$

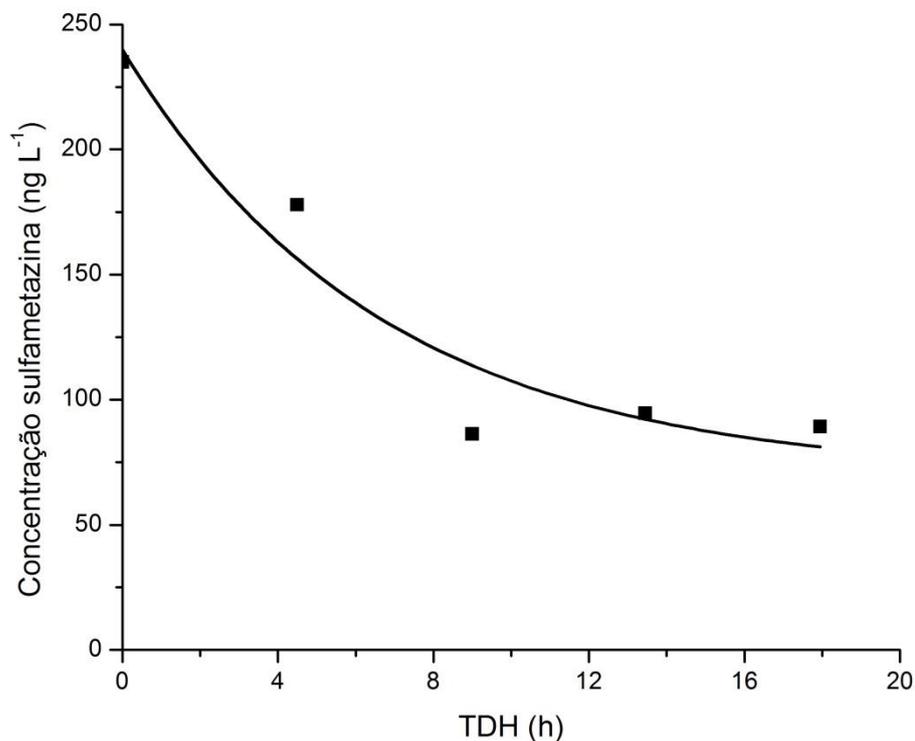
De acordo com o teste de Shapiro-Wilk, as amostras apresentaram distribuição normal. O teste ANOVA determinou que os valores de quatro fases do k^{app} não são estatisticamente diferentes. A média de k^{app} foi de $0,283 \pm 0,0303 \text{ h}^{-1}$.

A adição de SMZ em concentrações de 200 e 600 ng L^{-1} não prejudicou significativamente a remoção de DQO. No entanto, houve uma diminuição na taxa de remoção de DQO na fase II (400 ng L^{-1} de SMZ), k^{app} de $0,272 \pm 0,0403 \text{ h}^{-1}$. Os dois últimos perfis cinéticos estão relacionados a fase IV (800 ng L^{-1} SMZ). A diminuição no valor k^{app} foi esperada para repetir. No entanto, não ocorreu o esperado, uma vez que o k^{app} permaneceu o mesmo nas fases I e III, o que demonstra a não inibição de microorganismos ABFSB mesmo a uma concentração de 800 ng L^{-1} .

5.11. Cinética de degradação da sulfametazina

O mesmo procedimento utilizado para avaliar a cinética de DQO foi aplicado para SMZ, a Figura 19 mostra a remoção de SMZ de acordo com TDH.

Figura 19- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 200 ng L⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.



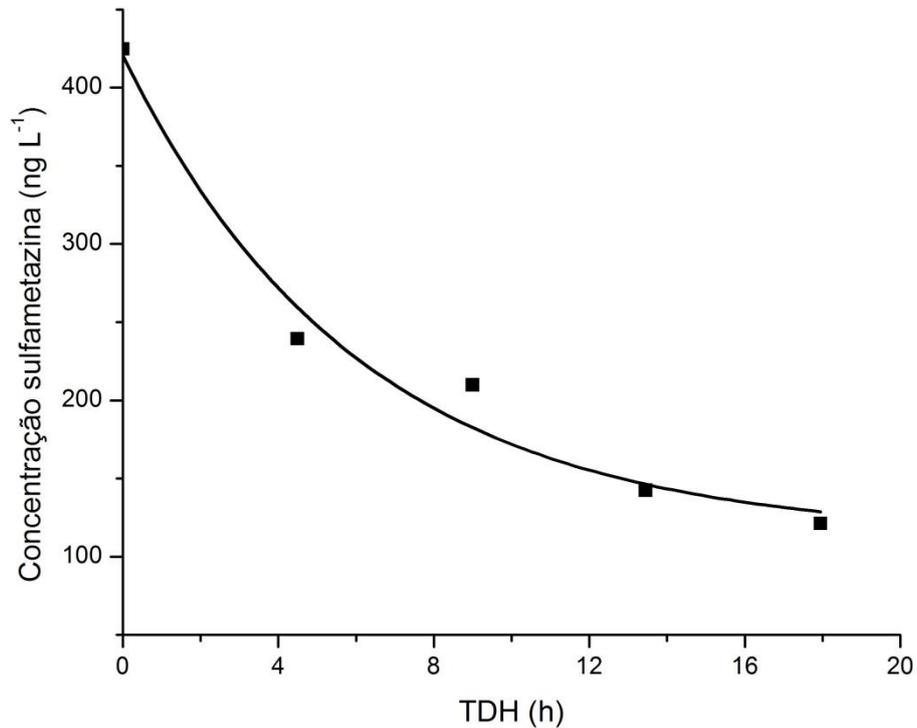
Fonte: Própria (2017)

A partir da curva traçada, obteve-se a Equação (7):

$$S(t) = 69,7 + 170. e^{-0,150. TDH}$$

Em que $S(t)$ é a concentração de sulfametazina de acordo com TDH. Assim, conclui-se que a constante cinética de remoção SMZ é de 0,150 h⁻¹, havendo um ajuste na curva de 85,4. Para a concentração de 400 ng L⁻¹, ilustra-se na Figura 20, o perfil cinético feito na 26^a semana de operação.

Figura 20- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 400 ng L⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.



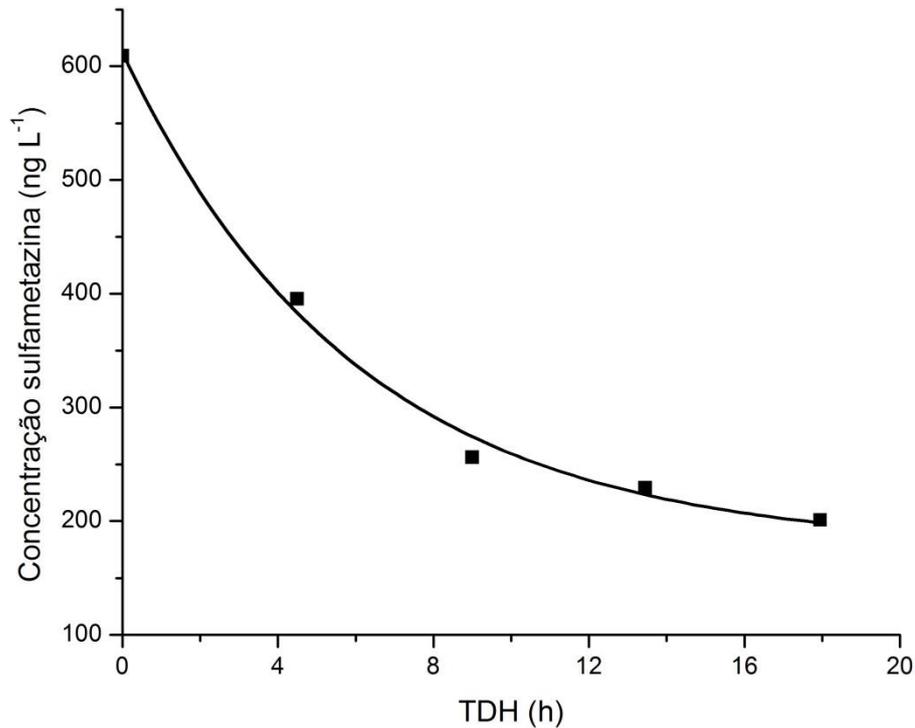
Fonte: Própria (2017).

A partir da curva traçada, obteve-se Equação (8):

$$S(t) = 113 + 308 \cdot e^{-0,165 \cdot TDH}$$

A constante cinética de remoção para a sulfametazina é de 0,165 h⁻¹, havendo um ajuste na curva de 95,8. Para a concentração de 600 ng L⁻¹, ilustra-se na Figura 21, o perfil cinético feito na 30^a semana de operação.

Figura 21- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 600 ng L⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.



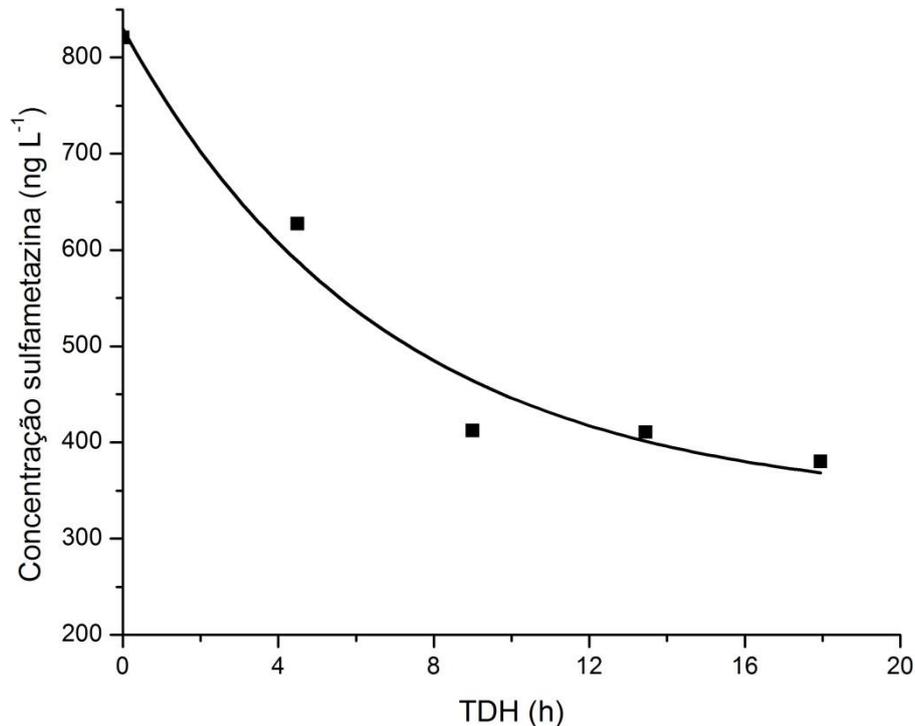
Fonte: Própria (2017)

A partir da curva traçada, obteve-se a Equação (9):

$$S(t) = 176 + 435 \cdot e^{-0,166 \cdot TDH}$$

A constante cinética foi de 0,166 h⁻¹, havendo um ajuste na curva de 99,1. Para a concentração de 800 ng L⁻¹, ilustra-se na Figura 22, o perfil cinético feito na 37ª semana de operação.

Figura 22- Perfil cinético de remoção da SMZ na concentração de 800 ng L⁻¹ pelo TDH nos pontos intermediários de coleta do biorreator.



Fonte: Própria (2017).

A partir da curva traçada, obteve-se a Equação (10):

$$S(t) = 334 + 495 \cdot e^{-0,149 \cdot TDH}$$

A constante cinética de remoção para o antibiótico é de 0,149 h⁻¹, havendo um ajuste na curva de 93,7. A Tabela 7 mostra os perfis espaciais da remoção cinética SMZ (k^{SMZ}) e o coeficiente ajustado respectivo (R^2).

Tabela 7- Equações cinéticas e as constantes cinéticas aparente de primeira ordem da remoção de SMZ (k^{SMZ}).

	Equação	Constante cinética (k^{SMZ})	Ajuste (R^2)
Fase I	$S(t) = 69,7 + 170 \cdot e^{-0,150 \cdot TDH}$	0,150 h ⁻¹	85,4
Fase II	$S(t) = 113 + 308 \cdot e^{-0,165 \cdot TDH}$	0,165 h ⁻¹	95,8
Fase III	$S(t) = 176 + 435 \cdot e^{-0,166 \cdot TDH}$	0,166 h ⁻¹	99,1
Fase IV	$S(t) = 334 + 495 \cdot e^{-0,149 \cdot TDH}$	0,149 h ⁻¹	93,7

De acordo com o teste de Shapiro-Wilk, as amostras apresentaram distribuição normal. O teste de ANOVA determinou que os quatro valores de k^{SMZ} não são estatisticamente diferentes. A média de k^{SMZ} foi de $0,158 \pm 0,0093 \text{ h}^{-1}$.

A k^{SMZ} não varia significativamente, portanto, não houve a ocorrência de inibição da atividade microbiana. Além disso, a SMZ é removida nos estágios iniciais do ABFSB, o que pode indicar a possível aplicação de um menor TDH sem a perda de eficiência de remoção. No entanto, ao analisar os gráficos do comportamento do pH e da produção de ácidos orgânicos voláteis no biorreator, percebe-se que ainda há processos de degradação de compostos orgânicos pela digestão anaeróbia dos microrganismos.

Devido às baixas concentrações de SMZ no biorreator, a atividade microbiológica não foi reduzida e manteve-se estável, como observado nos perfis cinéticos e também pelo k^{app} e pelo k^{SMZ} . Ambas as constantes podem ser comparadas devido à resistência à transferência de massa inalterada em cada fase, portanto, as modificações estão apenas relacionadas à cinética.

As constantes de remoção cinética de DQO foram maiores do que os valores para a constante cinética de SMZ, indicando uma remoção de DQO mais rápida do que a SMZ, o que pode ser relacionado com a estrutura molecular complexa da SMZ e, também, por ser um composto recalcitrante. Além disso, o mesmo comportamento foi observado por Oliveira et al. (118), que avaliou a remoção de SMZ por lodo granular anaeróbio usando biorreatores em batelada. Verificou-se que a biodegradação de SMZ foi afetada pela existência de DQO. A cinética de degradação de SMZ e DQO possui diferentes constantes cinéticas aparentes de primeira ordem. Então, a remoção de DQO e SMZ não estão associadas, mas isso não significa que o co-metabolismo não ocorra.

Há estudos que relatam sobre a faixa de concentração em que as sulfonamidas começam a ter algum efeito na digestão anaeróbia. De acordo com Ahmad et al. (119), ocorreu a inibição de microrganismos sobre a atividade de redução de nitrato devido à concentração presente de SMZ, sendo de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$. No entanto, Fountoulakis et al. (120) relataram que não houve inibição da metanogênese pelo antibiótico sulfametoxazol até mesmo em altas concentrações, como 400 mg L^{-1} .

Portanto, nesse estudo em que houve a presença de concentrações baixas de SMZ no biorreator, da ordem de ng L^{-1} , não houve a redução das atividades microbiológicas, mantendo-se, assim, conforme observado nos perfis cinéticos e nas constantes k^{app} e k^{SMZ} .

6 CONCLUSÃO

O biorreator ABSFB, operado a 30°C e com TDH de 24 horas, possui uma remoção significativa de DQO mesmo em diferentes níveis de concentração de SMZ em esgoto *lab-made*. A remoção da matéria orgânica, medida pela análise de DQO foi de $89,26 \pm 4,022$ % para o efluente bruto e $91,01 \pm 0,0884$ % para o efluente filtrado. Além disso, o ABSFB possui uma remoção média de SMZ de $52,4 \pm 2,60$ %. A remoção de DQO e SMZ ocorreu de acordo com um modelo cinético de primeira ordem, apresentando-se uma constante cinética aparente média (k^{app}) de $0,283 \pm 0,0303$ h⁻¹ e (k^{SMZ}) de $0,158 \pm 0,0093$ h⁻¹ para DQO e SMZ, respectivamente. Devido a uma mínima variação na constante de remoção de SMZ e DQO, o ABSFB exibe a ausência de um efeito de inibição mesmo com o aumento da concentração de SMZ. O ABSFB, portanto, pode ser considerado um biorreator potencial para remover baixas concentrações a nível de ng L⁻¹ de contaminantes emergentes comumente presentes em estações de tratamento de águas residuárias. De acordo com a cinética de remoção de DQO e SMZ, o biorreator pode ser operado com TDH de 8 horas sem perder eficiência, o que é interessante para aplicações em grande escala.

REFERÊNCIAS

- (1) YANG, Y. et al. Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: a review. **Science of the Total Environment**, v. 596, p. 303-320, 2017.
- (2) CARVALHO, I. T.; SANTOS, L. Antibiotics in the aquatic environments: a review of the European scenario. **Environment International**, v. 94, p. 736–757, 2016.
- (3) ONESIOS K. M.; YU, J. T.; BOUWER, E. J. Biodegradation and removal of pharmaceuticals and personal care products in treatment systems: a review. **Biodegradation**, v. 20, p. 441–66, 2009.
- (4) BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518–1532, 2011.
- (5) DOLAR, D. et al. Removal of emerging contaminants from municipal wastewater with an integrated membrane system, MBR–RO. **Journal of Hazardous Materials**, v. 239–240, p. 64– 69, 2012.
- (6) STUMPF, M. et al. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, p. 135-141, 1999.
- (7) KÜMMERER, K.; HENNINGER, A. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. **Clinical Microbiologic Infection**, v. 9, p. 1203–1214, 2003.
- (8) GRACIA-LOR, E. Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. **Chemosphere**, v. 87, p. 453– 462, 2012.
- (9) EVGENIDOU, E. N.; KONSTANTINOU, I. K.; LAMBROPOULOU, D. A. Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: a review. **Science of the Total Environment**, v. 505, p. 905–926, 2015
- (10) KOLPIN, D. W. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999–2000: a national reconnaissance. **Environmental Science Technology**, v. 36, p. 1202–1211, 2002.
- (11) ZORITA, S.; MÅRTENSSON, L.; MATHIASSON, L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 2760– 2770, 2009.
- (12) ALMEIDA, G. A.; WEBER, R. R. Fármacos na Represa de Billings. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 6, p. 7-13, 2005.

- (13) JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Aquatic Environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. **Water Research**, v. 36, p. 5013-5022, 2002.
- (14) DA SILVA, B. F. et al. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. **Chemosphere**, v. 85, p. 1331–1339.
- (15) FERNÁNDEZ, C.; BELTRÁN, E. M.; TARAZONA, J. V. Pharmaceutical's effects in the environment. **Encyclopedia of Toxicology**, p. 844–848, 2014.
- (16) NIKOLAOU, A.; MERIC, S.; FATTA, D. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, p. 1225–1234, 2007.
- (17) BARNES, K. K. et al. 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, 2008.
- (18) FOCAZIO, M. J. et al. A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States-II) untreated drinking water sources. **Science of the Total Environment**, v. 402, p. 201–216, 2008.
- (19) TAMTAM, F. et al. Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. **Science of the Total Environment**, v. 393, p. 84–95, 2008.
- (20) JIANG, L. et al. Occurrence, distribution and seasonal variation of antibiotics in the Huangpu River, Shanghai, China. **Chemosphere**, v. 82, p. 822–828, 2011.
- (21) HOMEM, V.; ALVES, A.; SANTOS, L. Development and validation of a fast procedure to analyze amoxicillin in river waters by direct-injection LC-MS/MS. **Journal Chemistry Education**, v. 91, p. 1961–1965, 2014.
- (22) TONG, L. et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment of Jiangnan Plain, central China. **Science of the Total Environment**, v. 497-498, p. 180–187, 2014.
- (23) VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. 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, 2012.
- (24) FRÉDÉRIC, O.; YVES, P. Pharmaceuticals in hospital wastewater: their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent. **Chemosphere**, v. 115, p. 31–39, 2014.
- (25) CHRISTOU, A. et al. The potential implications of reclaimed wastewater reuse for irrigation on the agricultural environment: the knowns and unknowns of the fate of

- antibiotics and antibiotic resistant bacteria and resistance genes—a review. **Water Research**, v. 123, p. 448–467, 2017.
- (26) SANDERSON, H. et al. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. **Toxicology**, v. 203, p. 27-40, 2004.
- (27) BOTTONI, P.; CAROLI, S.; CARACCILO, A. B. Pharmaceuticals as priority water contaminants. **Toxicology Environmental Chemistry**, v. 92, p. 549–565, 2010.
- (28) EBELE, A. J.; ABOU-ELWAFAB ABDALLAH, M.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, v. 3, p. 1–16, 2017.
- (29) KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. **Chemosphere**, v. 75, p. 417–434, 2009.
- (30) SUI, Q. et al. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: a review. **Emerging Contaminants**, v. 1, p. 14–24, 2015.
- (31) ACCINELLI, C. et al. Effects of the antimicrobial agent sulfamethazine on metolachlor persistence and sorption in soil. **Chemosphere**, v. 63, p. 1539–1545, 2006.
- (32) BARAN, W. et al. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. **Journal Hazard Mater**, v. 196, p. 1-15, 2011.
- (33) HRUSKA, K.; FRANEK, M. Sulfonamides in the environment: a review and a case report. **Veterinary Medical (Praha)**, v. 57, p. 1-35, 2012.
- (34) MOHRING, S.A.I. et al. 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, 2009.
- (35) CHUNHUI, Z. et al. Antibiotics in WWTP discharge into the Chaobai River, Beijing. **Archives of Environmental Protection**, v. 42, p. 48–57, 2016.
- (36) DEEGAN, A. et al. Treatment options for wastewater effluents from pharmaceutical companies. **International Journal Environmental Science Technology**, v. 8, p. 649–666, 2011.
- (37) OLIVEIRA, G. H. D.; SANTOS-NETO, A. J.; ZAIAT, M. Removal of the veterinary antimicrobial sulfamethazine in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass (HAIB) reactor subjected to step changes in the applied organic loading rate. **Journal of Environmental Management**, v. 204, p. 674-683, 2017.
- (38) MOCKAITIS, G. **Remoção de Cd²⁺ e Cu²⁺ de águas residuárias utilizando biorreator anaeróbio contínuo de leito fixo ordenado**. Tese (Dissertação) – Escola de

Engenharia de São Carlos (LPB-SHS-EESC), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

- (39) NETO, C. O. A.; CAMPOS, J. R. Introdução. In: CAMPOS, J. R. (Coord). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: PROSAB, 1999. p. 1-28.
- (40) FORESTI, E. et al. Fundamentos do tratamento anaeróbio. In: CAMPOS, J. R. (Coord). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: PROSAB, 1999. p. 29-52.
- (41) DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources: an introduction**. 2 ed. Weinheim: Wiley-Vch, 2011.
- (42) VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos: um manual para regiões de clima quente**. Epgraf, Campina Grande, p. 240 , 1994.
- (43) KHANAL, S. K. **Anaerobic biotechnology for bioenergy production**. Cingapura: Wiley-Blackwell, 2009.
- (44) GAO, L. et al. Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China. **Chemosphere**, v. 86, p. 665-671, 2012.
- (45) LI, B.; ZHANG, T. Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process. **Environmental Science Technology**, v. 44, p. 3468-3473, 2010.
- (46) KOVALOVA, L. et al. Hospital wastewater treatment by membrane bioreactor: performance and efficiency for organic micropollutant elimination. **Environmental Science Technology**, v. 46, p. 1536-1545, 2012.
- (47) ZAIAT, M. ; VIEIRA, L. G. T.; FORESTI, E. Liquid-Phase Mass Transfer in Fixed-Bed of Polyurethane Foam Matrices Containing Immobilized Anaerobic Sludge. **Biotechnology Techniques**, v. 10, n.2, p. 121-126, 1996.
- (48) ALANIS, A. J. Resistance to antibiotics: Are we in the post-antibiotic era? **Archives of Medical Research**, v. 36, p. 697–705, 2005.
- (49) GRADMANN, C. Magic bullets and moving targets: Antibiotic resistance and experimental chemotherapy, 1900-1940. **Dynamis**, v. 31, p. 305–321, 2011.
- (50) MOORE, F.D. The advent of antibiotics: episodes from the early days of the “miracle drugs”. **Surgery**, v. 126, p. 83–84, 1999.
- (51) AMINOV, R.I. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. **Frontiers in Microbiology**, v. 1, p. 1–7, 2010.
- (52) SCHLIPKÖTER, U.; FLAHAULT, A. Communicable diseases: achievements and challenges for public health. **Public Health Review**, v. 32, p. 90–119, 2010.

- (53) STRAAND, J. et al. antibiotic development and resistance. **International Encyclopedia Public Health**, p. 200–211, 2008.
- (54) WHO, 2014. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance** (Geneva). Disponível em: < <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>>. Acesso em: 7 set. 2017.
- (55) WHO, 2017. **Antimicrobial resistance**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Acesso em: 10 out. 2017.
- (56) PRICE, O. R. et al. Improving emissions estimates of home and personal care products ingredients for use in EU risk assessments. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 6, n. 4, p. 677–684, 2010.
- (57) BOXALL, A. et al. 2012. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions? **Environmental Health Perspect**, v. 120, n. 9, p. 1221–1229.
- (58) LAMBROPOULOU, D. A.; NOLLET, L. M. Transformation products of emerging contaminants in the environment: analysis, processes, occurrence, effects and risks. **John Wiley and Sons**, 2014.
- (59) LUO, Y. L. et al. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 473, p. 619–641, 2014.
- (60) PETROVIĆ, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **TrAC Trends Analytical Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 685–696, 2003.
- (61) MOMPELAT, S.; LE BOT, B.; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environmental International**, v. 35, n. 5, p. 803–814, 2009.
- (62) AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão de literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013.
- (63) KIM, K. R. et al. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment. **Water Air Soil Pollution**, v. 214, n. 1–4, p. 163–174, 2011.
- (64) MONTFORTS, M. H. M. M. **Environmental Risk Assessment for Veterinary Medicinal Products**. Part 1. Other Than GMO-containing and Immunological Products. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands, 1999.

- (65) KIMURA, K.; HARA, H.; WATANABE, Y. Elimination of selected acidic pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors. **Environmental Science Technology**, v. 41, n. 10, p. 3708–3714, 2007.
- (66) FICK, J. et al. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 28, n. 12, p. 2522–2527, 2009.
- (67) AWAD, Y.M. Veterinary antibiotics contamination in water, sediment, and soil near a swine manure composting facility. **Environmental Earth Science**, v. 71, n. 3, p. 1433–1440, 2014.
- (68) VAN BOECKEL, T. P. et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 18, p. 5649–5654, 2015.
- (69) MARTÍNEZ, J. L.; COQUE, T. M.; BAQUERO, F. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, p. 116–123, 2015.
- (70) DRILLIA P. On the occasional biodegradation of pharmaceuticals in the activated sludge process: The example of the antibiotic sulfamethoxazole. **Journal of Hazardous Materials**, v. 122, p. 259–265, 2005.
- (71) SARMAH A. K.; MEYER M. T.; BOXALL A. B. A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, v. 65, p. 725–59, 2006.
- (72) WISE, R. Antimicrobial resistance: priorities for action. **Journal Antimicrobial Chemother**, v. 49, p. 585 – 586, 2002.
- (73) HOGBERG, L. D.; HEDDINI, A.; CARS, O. . **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 31, n. 11, p. 509-515, 2010.
- (74) DING, C.; HE, J. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. **Applied Microbiology, Biotechnol**, v. 87, p. 925-941, 2010.
- (75) MARTINEZ, J. L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. **Science**, v. 321, n. 80, p. 365-367, 2008.
- (76) STOLL, C. et al. Prevalence of clinically relevant antibiotic resistance genes in surface water samples collected from Germany and Australia. **Environmental Science Technology**, v. 46, p. 9716-9726, 2012.
- (77) ANDERSSON, D. I. Persistence of antibiotic resistant bacteria. **Current Opinion Microbiology**, v. 6, p. 452–456, 2003.
- (78) DAVIES, J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. **Science**, v. 264, p. 375–382, 1994.

- (79) LIVERMORE, D. M. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, p. 11–23, 2003.
- (80) ALLEN, H. K. et al. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. **National Reviews Microbiology**, v. 8, p. 251-259, 2010.
- (81) PU, Y. et al. Enhanced efflux activity facilitates drug tolerance in dormant bacterial cells. **Molecular Cell**, v. 62, p. 284-294, 2016.
- (82) LANZKY, P. F.; HALTING-SØRENSEN, B. The toxic effect of the antibiotic metronidazole on aquatic organisms. **Chemosphere**, v. 35, n. 11, p. 2553-2561, 1997.
- (83) GARCIA-GALAN, M. J.; DIAZ-CRUZ, M. S.; BARCELO, D. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, 2008.
- (84) WANG, J. et al. Effects of thermophilic composting on oxytetracycline, sulfamethazine, and their corresponding resistance genes in swine manure. **Environmental Science Processes Impacts**, v. 17, p. 1654–1660, 2015.
- (85) MA, J. W. et al. Soil microbial systems respond differentially to tetracycline, sulfamonomethoxine, and ciprofloxacin entering soil under pot experimental conditions alone and in combination. **Environmental Science Pollution Research**, v. 21, p. 7436–7448, 2014.
- (86) VILA-COSTA, M. et al. Degradation of sulfonamides as a microbial resistance mechanism. **Water Research**, v. 115, p.309-317, 2017.
- (87) THIELE-BRUHN, S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—A review. **Journal Plant Nutrition Soil Science**, v. 166, p. 145–167, 2003.
- (88) GAO, Y. et al. Factor affecting sonolytic degradation of sulfamethazine in water, **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 1401–1407, 2013.
- (89) GARCIA-GALAN, M. J.; et al. Application of fully automated online solid phase extraction-liquid chromatography electrospray-tandem mass spectrometry for the determination of sulfonamides and their acetylated metabolites in groundwater. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, p. 795-806, 2011.
- (90) HUANG, C. H. Assessment of potential antibiotic contaminants in water and preliminary occurrence analysis. **Journal Contemporary Water Research & Educational**, v. 120, n. 1, p. 4, 2011.
- (91) JELIĆ, A. Occurrence and elimination of pharmaceuticals during conventional wastewater treatment. In: Guasch, H., Ginebreda, A., Geiszinger, A. (Eds.), **Emerging and priority pollutants in rivers: bringing science into river management plans**. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 1–23, 2012.

- (92) QIAO, J. P. et al. Rapid Commun. **Mass Spectrometry**, v. 18, p. 3142, 2003.
- (93) ZWIENER, C.; RICHARDSON, S. D. Analysis of disinfection by-products in drinking water by LC–MS and related MS techniques. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 613-621, 2005.
- (94) DIMPE, K. M.; NOMNGONGO, P. N. Current sample preparation methodologies for analysis of emerging pollutants in different environmental matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 82, p. 199–207, 2016.
- (95) MOCKAITIS, G. Continuous anaerobic bioreactor with a fixed-structure bed (ABFSB) for wastewater treatment with low solids and low applied organic loading content. **Bioprocess Biosystems Engineering**, v. 37, p. 1361–1368, 2014.
- (96) ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A.; FORESTI, E. Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo Para Tratamento de Águas Residuárias: Concepção e Avaliação Preliminar de Desempenho. **Rev Bras Eng Química**, v. 11, p. 33–42, 1994.
- (97) TORRES, P. **Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgoto sanitário sob diferentes condições de operação**. 1992. 185 f. Dissertação. (Mestrado em Ciência) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.
- (98) APHA. (2005). **Standard methods for the examination of water and wastewater 21st**. Washington, D.C: American Public Health Association/American Water Works Association/ Water Environment Federation.
- (99) DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. Volatile acids by direct titration. **Journal WPCF**, v. 33, p. 356-365, 1961.
- (100) RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal WPCF**, v. 58, p. 406-411, 1986.
- (101) ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. 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, 2014.
- (102) APHA. (1998). **Standard methods for the examination of water and wastewater 21st**. Washington, D.C: American Public Health Association/American Water Works Association/ Water Environment Federation.
- (103) LIMA GOMES, P. C. F. 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, 2015.

- (104)LIMA, D. M. F.; ZAIAT, M. The influence of the degree of back-mixing on hydrogen production in an anaerobic fixed-bed reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 9630-9635, 2012.
- (105)ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; CABRAL, A. K. A. Desenvolvimento de reator anaeróbio horizontal de leito fixo para tratamento de águas residuárias. **Cad. Eng. Sanitária e Ambient.**, v. 2, p. 47-53, 2000.
- (106)VON SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de águas Residuárias. Introdução à qualidade das águas e ao tratamentode esgotos.** 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 1996. v.1.
- (107)GUTIERREZ, O. et al. Effects of long-term pH elevation on the sulfate-reducing and methanogenic activities of anaerobic sewer biofilms. **Water Research**, v. 43, p. 2549–2557, 2009.
- (108)HUANG, Z.; ONG, S. L.; NG, H. Y. Performance of submerged anaerobic membrane bioreactor at different SRTs for domestic wastewater treatment. **Journal of Biotechnology**, v. 164, p. 82– 90, 2013.
- (109)HÜLSEN, T. Domestic wastewater treatment with purple phototrophic bacteria using a novel continuous photo anaerobic membrane bioreactor. **Water Research**, v. 100, p. 486-495, 2016.
- (110)HU, D. et al. Effect of the high cross flow velocity on performance of a pilot-scale anaerobic membrane bioreactor for treating antibiotic solvent wastewater. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 47–56, 2017.
- (111)ZHOU, L. et al. New insights into comparison between synthetic and practical municipal wastewater in cake layer characteristic analysis of membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 934–940, 2017.
- (112)SOUZA, M. E. Fatores que influenciam na digestão anaeróbia. **Revista DAE**, v. 4, n. 137, p. 8-94, 1984.
- (113)FORESTI, E. **Fundamentos do processo de digestão anaeróbia.** In: Anais III Taller y Seminario Latinoamericano: tratamiento anaerobio de aguas residuales. Montevideo, Uruguay, p. 97-110. 1994.
- (114)SPEECE, R. E. Anaerobic biotechnology for the industrial wastewater treatment. **Environmental Science Technology**, v.17, n.9, p. 416–427, 1983.
- (115)AYDIN, S.; INCE, B.; INCE, O. Inhibitory effect of erythromycin, tetracycline and sulfamethoxazole antibiotics on anaerobic treatment of a pharmaceutical wastewater. **Water Science Technology**, v. 71, p. 1620–1628, 2015.
- (116)SHI, X.; LEONG, K. Y.; NG, H. Y. Anaerobic treatment of pharmaceutical wastewater: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1238–1244, 2017.

- (117) BATT, A. L.; KIM, S.; AGA, D. S. Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations. **Chemosphere**, v. 68, n. 3, p. 428-435, 2007.
- (118) OLIVEIRA, G. H. D.; SANTOS-NETO, A. J.; ZAIAT, M. Evaluation of sulfamethazine sorption and biodegradation by anaerobic granular sludge using batch experiments. **Bioprocess Biosystems Engineering**, v. 39, p. 115-124, 2016.
- (119) AHMAD, M. et al. Inhibitory Effect of Veterinary Antibiotics on Denitrification in Groundwater: A Microcosm Approach. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1-7, 2014.
- (120) FOUNTOULAKIS, M. et al. Toxic Effect of Pharmaceuticals on methanogenesis. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 335-340, 2004.