



FERNANDA FAGALI PLAZZA

Efeitos proporcionados à biomassa em sistemas de tratamento de esgotos por lodos ativados pelos fármacos levamisol, trimetropim e sulfadiazina.

Campinas

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E URBANISMO

Fernanda Fagali Piazza

Efeitos proporcionados à biomassa em sistemas de tratamento de esgotos por lodos
ativados pelos fármacos levamisol, trimetropim e sulfadiazina.

Dissertação apresentada à Comissão de Pós Graduação da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, na área de concentração de Saneamento e Ambiente.

Orientador: Alexandre Nunes Ponezi

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ALUNA FERNANDA FAGALI PLAZZAE ORIENTADA
PELO PROFESSOR ALEXANDRE NUNES PONEZI.

Campinas

2013

iii

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

P699e Piazza, Fernanda Fagali, 1980-
Efeitos proporcionados à biomassa em sistemas de tratamento de esgotos por lodos ativados pelos fármacos levamisol, trimetropim e sulfadiazina / Fernanda Fagali Piazza. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Alexandre Nunes Ponezi.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo.

1. Lodo ativado. 2. Tratamento de esgoto. 3. Farmacos. I. Ponezi, Alexandre Nunes. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Effects caused by drugs: levamisole, trimethoprim and sulfadizine in biomass of the activated sludge wastewater treatment system

Palavras-chave em inglês:

Activated sludge

Wastewater treatment

Pharmaco

Área de concentração: Saneamento e Ambiente

Titulação: Mestra em Engenharia Civil

Banca examinadora:

Alexandre Nunes Ponezi [Orientador]

Edson Aparecido Abdul Nour

Peterson Bueno de Moraes

Data de defesa: 16-08-2013

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Civil

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E
URBANISMO

EFEITOS PROPORCIONADOS À BIOMASSA EM
SISTEMAS DE TRATAMENTO DE ESGOTOS POR LODOS
ATIVADOS PELOS FÁRMACOS LEVAMISOL,
TRIMETROPIM E SULFADIAZINA

Fernanda Fagali Piazza

Dissertação de Mestrado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:



Prof. Dr. Alexandre Nunes Ponezi

Presidente e Orientador/UNICAMP



Prof. Dr. Edson Aparecido Abdul Nour

UNICAMP



Prof. Dr. Peterson Bueno de Moraes

UNICAMP

Campinas, 16 de Agosto de 2013.

Resumo

PLAZZA, Fernanda Fagali. **Efeitos proporcionados à biomassa em sistemas de tratamento de esgotos por lodos ativados pelos fármacos levamisol, trimetropim e sulfadiazina.** Campinas: Faculdade de Engenharia Civil Arquitetura e Urbanismo - UNICAMP, 2013. 74p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Civil, UNICAMP, 2013.

A biomassa de uma estação de tratamento de lodo ativado é capaz de se adaptar ao efluente recebido, mesmo quando esse contém contaminantes específicos no meio. Fármacos são considerados contaminantes emergentes e lançados no sistema de tratamento a partir de descargas de estações de tratamento de águas residuais pela indústria (pontual) e na aplicação no solo pelo esterco (difusa) gerado pelos animais, como uma mistura de metabolitos e formas ativas. Para a realização deste trabalho foram escolhidos os antibióticos: sulfadiazina e trimetropim, e o anti-helmíntico: levamisol; devido: produção em larga escala e efeito quimioterápico provável na biomassa de estações de tratamento de efluentes. Os ensaios realizados conforme OECD: 209/2010 inibição da respiração do lodo ativado e 303/2001 simulação de tratamento com lodos ativados, mostraram que a taxa de inibição do lodo (ensaio 209/2010) foi proporcional à concentração utilizada (0,005 mg L⁻¹ a 20,0 mg L⁻¹) para a sulfadiazina, levamisol e trimetropim respectivamente tanto para o lodo com origem de estação doméstica convencional como para o lodo de estação de efluentes da indústria farmacêutica (industrial), sendo este último o que apresentou menor inibição. Os ensaios 303/2001 realizados nas concentrações de 1, 5 e 10 mg L⁻¹ mostraram que o lodo industrial apresentou os melhores resultados de biodegradação sendo observada uma remoção abaixo do limite de detecção da cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (CG-MS) para o levamisol e trimetropim. A sulfadiazina não foi biodegradada durante o processo. Ensaio de toxicidade do efluente gerado pelo ensaio 303/2001 utilizando *Vibrio fischeri* como organismo-teste mostraram que estes não apresentam toxicidade.

Palavra Chave: Lodo ativado, tratamento de esgoto, fármacos.

ABSTRAT

*The biomass of a wastewater treatment activated sludge is able to adapt to the effluent, even when it contains specific contaminants in the middle. Emerging Drugs are considered contaminants and discharged into the treatment discharges from sewage treatment plants wastewater industry (off), and applied the manure into the soil (diffuse) generated by animals, such as a mixture of metabolites and active forms. For this work were chosen drugs sulfadiazine, trimethoprim and levamisole due to: large-scale production and chemotherapeutic effect likely in biomass treatment plant effluents and domestic industry. Tests performed OECD 209/2010 respiration inhibition of activated sludge and 303/2001 simulating activated sludge treatment, showed that the rate of inhibition of the sludge test (209/2010) was proportional to the concentration used (0.005 mg to 20.0 mg L⁻¹) for sulfadiazine, levamisole, and trimethoprim respectively both for domestic and industrial sludge, the latter being the one with less inhibition. The tests 303/2001 performed at concentrations of 1, 5 and 10 mg L⁻¹ showed that the industrial sludge showed the best results being observed biodegradation removal below the limit of detection (GC-MS) for levamisole, and trimethoprim. Sulfadiazine was not biodegraded in the process. Toxicity tests of the effluent generated by the test 303/2001 *Vibrio fischeri* using as test organisms showed that these did not exhibit toxicity.*

SUMÁRIO

1.	Introdução	1
2.	Objetivos	4
3.	Revisão bibliográfica	5
3.1	Tratamento biológico	5
3.1.1	Bactérias.....	8
3.1.2	Protozoários.....	10
3.1.3	Oxidação da matéria orgânica.....	11
3.1.4	Biomassa – inóculo – lodo.....	13
3.1.5	Caracterização do lodo.....	14
3.1.6	Sistema de tratamento de efluente por lodo ativado.....	15
3.1.7	Microbiologia de lodos ativados.....	17
3.2	Fármacos	20
3.2.1	Levamisol	21
3.2.2	Sulfadiazina	23
3.2.3	Aspectos ambientais e ecotoxicológicos	25
3.2.4	Trimetropim.....	27
3.2.4.1	Aspectos ambientais e ecotoxicológicos	29
4.	Materiais e Métodos.....	31
4.1	Fármacos	31
4.2	Inóculo	31
4.3	Branco.....	31
4.4	Ensaio de biodegradabilidade.....	32
4.5	Metodologia OECD 209/2010 - Lodo ativado – teste de inibição de respiração.	33
4.6	Metodologia OECD 303/2001- teste de simulação de tratamento em lodo aerado.....	35
4.6.1	Análises de Cromatografia	36
4.6.2	Teste de Toxicidade Microtox®	37
5.	Resultados e Discussão.....	40
5.1	Avaliação do efluente industrial	40
5.2	Ensaio de inibição de respiração	40
5.2.1	Ensaio de inibição de respiração com Sulfadiazina.....	41
5.2.2	Ensaio de inibição de respiração com Trimetropim	42
5.2.3	Ensaio de inibição de respiração com Levamisol	44
5.3	Teste simulação de tratamento em reatores de lodo ativado.....	45
5.3.1	Ensaio com Sulfadiazina lodo ativado industrial (LIND).....	45
5.3.2	Ensaio com Sulfadiazina lodo ativado doméstico (LDM).....	49
5.3.3	Ensaio com Trimetropim lodo ativado industrial (LIND).....	52

5.3.4	Ensaio com Trimetopim lodo ativado doméstico (LDOM).....	54
5.3.5	Ensaio com Levamisol lodo ativado industrial (LIND).....	56
5.3.6	Ensaio com Levamisol lodo ativado doméstico (LDOM).....	58
5.3.7	Ensaio de toxicidade com <i>Vibrio fisheri</i>	60
6.	Conclusões	62
7.	Referências Bibliográficas.....	64

Dedicatória

Dedico à família presente e futura.

Agradecimento

Obrigada Deus por tudo que o Senhor me proporciona!

Especialmente ao Professor Alexandre e equipe do laboratório da microbiologia.

Aos parceiros de trabalho, incentivadores e grandes colaboradores: Matusa, José Maria, Equipe EHS e todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa realização.

Querida Rafaela pela doação de tempo e conhecimento. Amiga Daniele pelo incentivo e carinho nos momentos difíceis.

Agradeço ao Adilson Sartoratto do Laboratório de Química Orgânica e Farmacêutica pela paciência e suporte nas análises e Giovani Brota do Labsan da FEAGRI por compartilhar seu conhecimento e equipamentos.

Equipe da SANASA - ETE Samambaia pelo pronto atendimento sempre que solicitada.

Agradeço também aos meus amigos, parentes, meus pais e querido Leo por todo zelo e paciência nesse período.

EPÍGRAFE

“Todo ser humano precisa saber que a maior felicidade que se pode sentir na vida é aquela que a gente saboreia quando consegue, verdadeiramente, fazer a felicidade de alguém.”

Mokiti Okada

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Predominância relativa de microrganismos durante o tratamento aeróbio dos esgotos. Fonte: Von Sperling (1996).....	7
Figura 2 - Assimilação das matérias solúveis e em suspensão.	10
Figura 3 - Representação esquemática das inter-relações entre absorção, distribuição, ligação, metabolismo e excreção de um fármaco em seu local de ação.....	21
Figura 4 – Gráfico do percentual de inibição de respiração dos lodos ativados industrial (LIND) e doméstico (LDOM) em função das concentrações da sulfadiazina no teste....	41
Figura 5 – Gráfico do percentual de inibição de respiração dos lodos ativados industrial (LIND) e doméstico (LDOM) em função das concentrações do trimetropim no teste.....	43
Figura 6 - Gráfico do percentual de inibição de respiração dos lodos ativados industrial (LIND) e doméstico (LDOM) em função das concentrações do levamisol no teste.....	44
Figura 7 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo industrial na presença de sulfadiazina nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L ⁻¹	46
Figura 8 - Quantificação da sulfadiazina por cromatografia (inicial e final) no efluente LIND nas concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L ⁻¹	48
Figura 9 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo doméstico na presença de sulfadiazina nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L ⁻¹	49
Figura 10 – Quantificação da sulfadiazina por cromatografia (inicial e final) no efluente LDOM nas concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L ⁻¹	51
Figura 11 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo industrial na presença de trimetropim nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L ⁻¹	52
Figura 12 – Quantificação do trimetropim por cromatografia (inicial e final) no efluente do LIND nas concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L ⁻¹	53
Figura 13 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo doméstico na presença de trimetropim nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L ⁻¹	54
Figura 14 – Quantificação do trimetropim por cromatografia (inicial e final) no efluente LDOM nas concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L ⁻¹	55
Figura 15 – Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo industrial na presença de levamisol nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L ⁻¹	56
Figura 16 – Quantificação do levamisol por cromatografia (inicial e final) no efluente LIND nas concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L ⁻¹	57
Figura 17 – Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo doméstico na presença de levamisol nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L ⁻¹	58
Figura 18 – Quantificação do levamisol por cromatografia (inicial e final) no efluente do LDOM nas concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L ⁻¹	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Principais microrganismos presentes nos esgotos, de importância no tratamento biológico	6
Tabela 2 Fatores do decaimento bacteriano.	13
Tabela 3 Agrupamento de organismos de diversos gêneros presentes nos sistemas de lodos ativados	19
Tabela 4 Principais características do Levamisol.....	22
Tabela 5 Principais características da Sulfadiazina	24
Tabela 6 Principais características do Trimetropim.....	28
Tabela 7 Parâmetros de quantificação do equipamento	37
Tabela 8 Diluições utilizadas no ensaio de toxicidade	38
Tabela 9 Interpretação aproximada do resultado do Índice Volumétrico do Lodo.....	47
Tabela 10 Resultados com organismo teste <i>Vibrio fischeri</i> dos fármacos levamisol, sulfadiazina e trimetropim obtidos no ensaio Microtox®	60

LISTAS DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina trifosfato
C	Carbono
CO ₂	Gás carbônico
CPQBA	Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EC	Concentração de Efeito
ETE	Estação de Tratamento de Efluente
FDA	Food and Drug Administration dos Estados Unidos
CG-MS	Cromatografia Gasosa acoplada ao espectro de massas
H	Hidrogênio
H ₂ O	Água
HSDB	Hazardous Substance Data Bank
TIC	Carbono Inorgânico Total
IVL	Índice Volumétrico do Lodo
LDOM	Lodo de procedência de ETE doméstica
LIND	Lodo de procedência de ETE industrial
N	Nitrogênio
O	Oxigênio
OD	Oxigênio Dissolvido
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
P	Fósforo
PABA	Ácido para-aminobenzóico
pH	Potencial de Hidrogênio
RNA	Acido Ribonucléico
SIM	(Selected Ion Monitoring)
SS	Sólidos Suspensos

SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
ThC	Carbono Orgânico Teórico
TOC	Carbono Orgânico Total
tR	Tempo de resposta
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
USP	United State Pharmacopeial Convention, Inc.

1. Introdução

Nos últimos anos o aumento do uso de produtos químicos diversos na agricultura e pecuária (antibióticos, carrapaticidas, inseticidas), aquicultura (antibióticos e fungicidas) e na saúde humana (diversos tipos de compostos ativos), tornou-se uma crescente preocupação da comunidade científica devido ao seu potencial de causar efeitos indesejáveis ao meio ecológico principalmente o aquático e com possibilidade de atingir os humanos por contaminação indireta.

O tratamento do esgoto em Estações de Tratamento de Efluentes (ETE) geralmente tem como principal finalidade a remoção de patogênicos e nutrientes. Fármacos e outros químicos podem ser removidos durante o tratamento, mas sua eliminação é variada (AGA, 2008).

Recentemente, o foco da análise ambiental deslocou-se dos contaminantes clássicos, tais como os poluentes orgânicos persistentes, em direção as "contaminantes emergentes" detectados em vários ambientes. Contaminantes emergentes são definidos como compostos que não são atualmente abrangidos pelos regulamentos existentes da qualidade da água, não foram previamente estudados, e tem um alto potencial de ameaça aos ecossistemas ambientais e a saúde humana. Estão inclusos nesta lista os produtos farmacêuticos, drogas de abuso e produtos de cuidados pessoais (BILA e DEZOTTI, 2003).

Segundo publicação de Aga (2008), são detectadas concentrações variáveis destes contaminantes nos efluentes brutos e tratados. Estas concentrações podem variar de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$. Vários estudos têm avaliado a remoção desses fármacos e produtos de cuidados pessoais em maior grau de detalhes, mas um indicador do total de remoção e eficiência das estações de tratamento de efluentes ainda não são claros.

Embora os tratamentos de esgoto possam eliminar alguns compostos ou substâncias químicas do efluente líquido por processos de biodegradação ou adsorção ao lodo os tratamentos não removem completamente a atual recarga dos compostos emergentes no ambiente (AGA, 2008).

Pesquisas mostram compostos farmacêuticos sendo encontrados nas estações de tratamento de efluentes, apesar de oxidados por processos de desinfecção, degradação biológica ou a sorção em materiais sólidos como: partículas coloidais, compostos húmicos e lodo. Embora os fármacos estejam presentes no efluente em partes por bilhão ou partes por trilhão, eles podem ser encontrados nos lodos em concentrações muito mais elevadas (partes por milhão) (BILA e DEZOTTI, 2003).

Dentre os compostos farmacêuticos, os agentes antimicrobianos são amplamente utilizados na medicina humana e veterinária para prevenir ou tratar infecções bacterianas. Além disso, aplicações veterinárias incluem o uso de agentes antimicrobianos como aditivos alimentares em doses subterapêuticas para melhorar a eficiência alimentar e promover o crescimento (AGA, 2008).

Antibióticos são um dos grupos mais problemáticos dos fármacos, uma vez que a sua utilização a mais de quatro décadas tem levado a seleção de bactérias resistentes, que pode comprometer a eficácia de antibióticos para o tratamento de infecções humanas ou mesmo animal (BILA e DEZOTTI, 2003).

Para realização desse estudo foi levado em consideração à utilização em larga escala de medicamentos de efeitos antibióticos e anti-helmínticos para uso na medicina veterinária (sulfadiazina, trimetopim e levamisol). Estas substâncias podem entrar no ambiente por meio de um grande número de vias, mas principalmente a partir de descargas de estações de tratamento de águas residuais pela indústria produtora (contaminação pontual) e esgoto (contaminação difusa) gerado pelos animais, onde as substâncias são transformadas apenas parcialmente no corpo e, portanto, são excretados como uma mistura de metabolitos e também formas ativas.

A sulfadiazina e o trimetropim são fármacos, com características antibióticas largamente utilizadas no Brasil, tanto na indústria farmacêutica humana quanto veterinária. O levamisol é conhecido como um anti-helmíntico utilizado em medicamentos para o combate aos vermes.

O critério usado para determinar a escolha desses fármacos foi:

- Princípio ativo dos fármacos;
- Quantidade, em litros de medicamentos produzidos, tendo como componentes da fórmula esses princípios ativos;
- Número de lotes produzidos (o que determina o número de lavagem nos tanques e reatores)

Este trabalho foi elaborado com a proposta de avaliação do comportamento das biomassas de sistemas de tratamento de esgoto sanitário doméstico e industrial (lodos ativados) frente a um efluente contendo fármacos de uso veterinário com propriedades antibióticas e anti-helmínticas.

Para o desenvolvimento da pesquisa, a biomassa foi coletada de duas fontes distintas: lodo de uma estação de tratamento de efluentes industrial onde este apresenta características de adaptabilidade às substâncias em estudo, o qual será denominado LIND. A empresa que forneceu o lodo adaptado está situada na região de Campinas, e tem como atividade principal a produção de vacinas e medicamentos farmacêuticos para uso veterinário. A mesma empresa nos forneceu as matrizes de estudo dos fármacos em questão. O lodo doméstico coletado é de origem de uma estação de tratamento de esgoto do município de Campinas e será denominado LDOM. A Estação de Tratamento de Esgoto Samambaia está localizada na região Sudeste de Campinas numa área de 7,0 hectares. Esta estação tem a capacidade de tratar até 150 litros de esgoto por segundo de uma região onde vivem cerca de 60 mil habitantes.

2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o potencial de biodegradação ou remoção das substâncias: levamisol, trimetropim e sulfadizina por meio de ensaios de biodegradabilidade previstos pela OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*), a fim de se avaliar seu impacto em estações de tratamento de esgoto.

Outro propósito do estudo é ter embasamento para possíveis intervenções em cenários futuros na Estação de Tratamento de Efluentes Industrial, buscando melhorias para o processo de tratamento do efluente da indústria farmacêutica.

Para se alcançar estes objetivos foi avaliado o grau de capacidade de adaptação de uma biomassa específica em sistemas de lodos ativados (domestico e industrial) com a introdução desses fármacos por metodologias internacionalmente reconhecidas que avaliam taxa de respiração e inibição do lodo e a degradação direta do fármaco, com características da evolução do tratamento e paralelamente avaliar a toxicidade da substância por meio de organismos-teste *Vibrio-fischeri*.

3. Revisão bibliográfica

3.1 Tratamento biológico

O princípio básico do tratamento biológico segundo Von Sperling (1996b) consiste em que o tratamento do esgoto ocorra inteiramente por mecanismos biológicos. Estes processos biológicos reproduzem de certa maneira, os processos naturais que ocorrem em um corpo d'água após o lançamento de despejos.

Segundo este mesmo autor, no corpo d'água, a matéria orgânica é convertida em produtos mineralizados inertes por mecanismos puramente naturais, caracterizando assim o chamado fenômeno da autodepuração. A introdução da matéria orgânica em um corpo d'água resulta, indiretamente, no aumento do consumo de oxigênio dissolvido. Isso se deve ao processo de estabilização da matéria orgânica realizado pelas bactérias decompositoras presentes no meio, as quais utilizam o oxigênio disponível no meio líquido para sua respiração. Assim os compostos orgânicos são convertidos em compostos inertes e não prejudiciais no ponto de vista ecológico. Em uma estação de tratamento de esgotos os mesmos fenômenos ocorrem, mas a diferença é que há em paralelo a introdução de tecnologia onde propicia um ambiente com condições controladas (controle de eficiência) e em taxas mais elevadas (solução mais compacta).

A compreensão da microbiologia do tratamento dos esgotos é, portanto essencial. Os principais organismos envolvidos no tratamento dos esgotos são as bactérias, protozoários, fungos, algas e helmintos. Destes, as bactérias são, sem dúvida, os mais importantes na estabilização da matéria orgânica.

A população microbiana envolvida nos processos aeróbios é constituída basicamente por bactérias e protozoários. Outros organismos, como fungos e rotíferos podem ser eventualmente encontrados, mas sua importância é menor. A capacidade dos fungos de sobreviver em faixas de pH reduzidas e com pouco nitrogênio faz com que os

mesmos possam ser importante no tratamento de certos despejos industriais (VON SPERLING, 1996b).

No entanto, fungos de estruturas filamentosas podem prejudicar a sedimentabilidade do lodo, reduzindo a eficiência do processo. Os rotíferos são eficientes no consumo de bactérias dispersas e pequenas partículas de matéria orgânica. De maneira geral, pode-se dizer que a diversidade de espécies dos vários microorganismos componentes do lodo é baixa (VON SPERLING, 1996b). Os principais microorganismos no tratamento de esgotos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Principais microorganismos presentes nos esgotos, de importância no tratamento biológico

Microrganismo	Descrição
Bactérias	Organismos unicelulares Apresentam-se em várias formas e tamanhos São principais responsáveis pela estabilização da matéria orgânica Algumas bactérias são patogênicas
Protozoários	Organismos unicelulares sem parede celular A maioria é aeróbia ou facultativa Alimentam-se de bactérias, algas e outros microorganismos São essenciais no tratamento biológico para a manutenção de um equilíbrio entre os diversos grupos Alguns são patogênicos
Fungos	Organismos aeróbios, multicelulares, não fotossintéticos, heterotróficos São também de grande importância na decomposição da matéria orgânica Podem crescer em condições de baixo pH

Fonte: Silva e Mara (1979), Tchobanoglous e Schroeder (1985), Metcalf e Eddy (1991)

Os Principais microorganismos envolvidos e sua predominância em relação ao tempo variam conforme a Figura 1, que apresenta a seqüência de predominância relativa dos principais microorganismos envolvidos no tratamento aeróbio de esgotos.

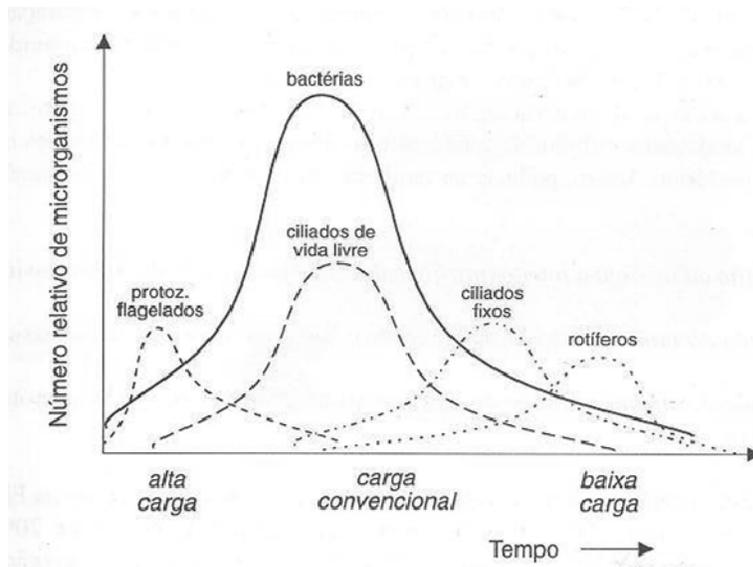


Figura 1 - Predominância relativa de microrganismos durante o tratamento aeróbio dos esgotos. Fonte: Von Sperling (1996)

As interações ecológicas na comunidade microbiana fazem com que o aumento de um grupo de microorganismos seja acompanhado pelo declínio de outra população, face a característica seletiva exercida pelo meio em transformação. Imediatamente após a introdução dos esgotos no reator biológico, a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) remanescente (matéria orgânica) encontra-se em seu ponto máximo. O número de bactérias é ainda reduzido, e os protozoários do tipo ameba podem ser encontrados.

Esses são ineficientes na competição por alimento, sendo encontrados principalmente no início do funcionamento de reatores. Devido a grande disponibilidade de substrato, a população bacteriana cresce. As amebas são então substituídas por protozoários flagelados que, devido a sua mobilidade são mais eficientes na competição pelo alimento disponível. Estes protozoários flagelados são característicos de sistemas de alta carga. Com o passar do tempo e o decréscimo do material orgânico disponível, protozoários ciliados substituem os flagelados, já que os primeiros são capazes de sobreviver a concentrações menores de alimentos. Este ponto caracteriza a operação dos sistemas de carga convencional, onde convive um grande número de ciliados de vida livre, o número máximo de bactérias e uma baixa concentração de matéria

orgânica (DBO remanescente). Em longos tempos de retenção, característicos dos sistemas de baixa carga, a matéria orgânica disponível é mínima, e as bactérias são consumidas por ciliados e rotíferos (MCKINNEY, 1962).

3.1.1 Bactérias

As bactérias são organismos unicelulares procariontes (ausência de núcleo definido), podendo apresentar-se isoladamente ou em agregados, formando colônias de aspecto característico, como filamentosas, em formas de cachos e outros. A classificação das bactérias quanto à forma inclui as seguintes principais categorias: cocos, bastonetes e espirio/espiroquetas. O tamanho da célula varia com o grupo: 0,5 a 1,0 μm de diâmetro para os cocos; 0,5 a 1,0 μm de largura por 1,5 a 3,0 μm de comprimento para os bastonetes; 0,5 a 5,0 μm de largura por 6 a 15 μm de comprimento para as espiraladas. As bactérias possuem ainda uma parede celular mais ou menos rígida, e podem apresentar ou não flagelos para locomoção. A sua reprodução se dá principalmente por meio de reprodução binária, além de formação de esporos e reprodução sexuada (minoria) (VON SPERLING, 1996b).

Considerando que a principal função do sistema de tratamento é a remoção de DBO, as bactérias heterotróficas são os principais agentes deste mecanismo. No entanto além de desempenharem o papel na depuração da matéria orgânica, as bactérias possuem a propriedade de se aglomerar em unidades estruturais, como flocos, biofilmes ou grânulos (JORDÃO e PESSOA, 1995).

Além da remoção da matéria orgânica carbonácea, o tratamento do esgoto pode incorporar ainda outros objetivos, a consecução dos quais depende de grupos específicos de bactérias. Assim, pode-se ter também, entre outros, os seguintes fenômenos:

- Conversão da amônia a nitrito (nitrificação): bactérias autótrofas quimiossintetizantes;

- Conversão de nitrito a nitrato (nitratação): bactérias nitrificantes quimiossintetizantes;
- Conversão de nitrato a nitrogênio gasoso (desnitrificação): bactérias heterótrofas facultativas;

Aproximadamente 80% da célula bacteriana são compostas por água e 20% de matéria seca. Da matéria seca, 90% são orgânicas e 10% inorgânica. Fórmulas amplamente utilizadas para caracterizar a fração orgânica das células bacterianas são:

- $C_5H_7O_2N$ sem incluir o fósforo
- $C_{60}H_{87}O_{23}N_{12}P$ incluindo o fósforo

(METCALF e EDDY, 1991).

Segundo METCALF e EDDY (1991) em qualquer das duas formulações, a relação C:H:O:N é a mesma. Um aspecto importante é de que todos estes componentes devem ser obtidos do meio, e a falta de algum deles pode limitar o crescimento da bactéria.

A utilização do substrato disponível no meio pelas bactérias se dá em função do tamanho relativo da partícula a ser utilizada. Basicamente, pode-se considerar as duas principais frações da matéria orgânica:

- Fração facilmente biodegradável
- Fração de degradação lenta

Num esgoto doméstico típico, a maior parte da matéria orgânica está na forma solúvel mais facilmente degradável. Devido a diminutas dimensões dos compostos solúveis, os mesmos podem penetrar na célula bacteriana através da membrana celular. Dentro da célula, a matéria orgânica solúvel é consumida com auxílio das endoenzimas. Já os compostos orgânicos de maiores dimensões e fórmulas mais complexas devem sofrer atuação fora das células, de forma a que sejam transformados em uma forma

assimilável pela bactéria. Esta atuação se dá pelas exoenzimas numa reação de hidrólise. Na hidrólise não se considera a utilização de energia, não havendo, portanto a utilização de aceptores de elétrons. O produto final da hidrólise passa a se apresentar na forma facilmente biodegradável, penetrando pela membrana celular para dentro da célula, onde é consumido de forma similar a matéria solúvel (VON SPERLING, 1996b). A Figura 2 representa de forma esquemática o mecanismo de conversão da matéria particulada em matéria solúvel.

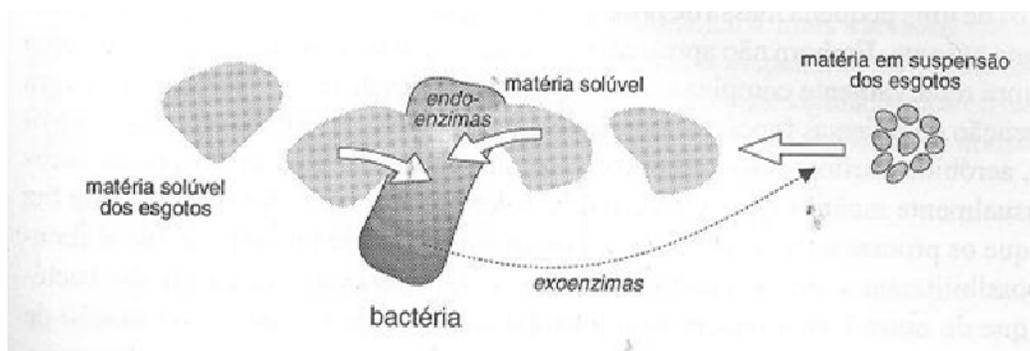


Figura 2 - Assimilação das matérias solúveis e em suspensão.
Fonte: Von Sperling (1996b)

Os requisitos ambientais das bactérias variam com a espécie. Como exemplo tem-se que as bactérias envolvidas no mecanismo da nitrificação (bactérias autrótofas quimiossintetizantes) são muito mais sensíveis as condições ambientais que as bactérias heterótrofas envolvidas na estabilização da matéria orgânica carbonácea. De maneira geral, a taxa ótima de crescimento das bactérias ocorre dentro de faixas de temperatura e pH relativamente limitadas, embora sua sobrevivência possa ocorrer dentro de faixas bem mais amplas (VON SPERLING, 1996b).

3.1.2 Protozoários

O grupo dos protozoários compreende organismos unicelulares, eucariotas, constituídos de uma pequena massa de protoplasma. A parede celular encontra-se

freqüentemente ausente. Embora não apresentem diferenciação celular, alguns possuem uma estrutura relativamente complexa, com algumas regiões diferenciadas na célula para a execução de diversas funções. A maioria é representada por organismos heterotróficos aeróbios estritos. A sua reprodução se dá por divisão binária. Os protozoários são usualmente maiores que as bactérias e podem se alimentar das mesmas. Isto faz com que os protozoários constituam-se em importantes patamares na pirâmide alimentar, possibilitando que organismos maiores se alimentem indiretamente das bactérias, que de outra forma seriam uma forma inacessível de alimento. Em função de algumas características estruturais, e principalmente do mecanismo de locomoção, os protozoários podem ser divididos em vários grupos, sendo os de principal interesse os seguintes: amebas, flagelados e ciliados.

As principais atuações dos protozoários no tratamento de esgoto são:

- Consumo de matéria orgânica, dada a sua natureza heterotrófica;
- Consumo de bactérias livres e participação na formação de flocos;

Embora os protozoários contribuam para remoção da matéria orgânica dos esgotos, sua principal atuação no tratamento (por processos como lodos ativados) se dá pela atividade predatória que exercem sobre as bactérias livremente suspensas no meio líquido. Neste sentido, as bactérias que não participam do floco, mas que se encontram em suspensão no meio, não são normalmente removidas na decantação final. E assim sendo, elas contribuem para deterioração do efluente final em termos de sólidos em suspensão, matéria orgânica (das próprias bactérias) e mesmo patogênicos. A atuação dos protozoários sobre essas bactérias contribui, portanto, para a melhoria da qualidade do efluente final (VON SPERLING, 1996b).

3.1.3 Oxidação da matéria orgânica

A introdução de matéria orgânica em um corpo d'água resulta, indiretamente, no consumo de oxigênio dissolvido. Tal se deve aos processos de estabilização da matéria

orgânica realizados pelas bactérias decompositoras, as quais utilizam o oxigênio disponível no meio líquido para sua respiração.

Em termos ecológicos, a repercussão mais nociva da poluição de um corpo d'água por matéria orgânica é a queda nos níveis de oxigênio dissolvido, causada pela respiração dos microorganismos envolvidos na depuração dos esgotos. O impacto estendido a toda comunidade aquática, e cada redução nos teores de oxigênio dissolvida é seletiva para determinadas espécies.

O oxigênio dissolvido (OD) tem sido utilizado tradicionalmente para a determinação do grau de poluição e de autodepuração em cursos d'água. A sua medição é simples, e seu teor pode ser expresso em concentrações, quantificáveis e passíveis de modelagem matemática (VON SPERLING, 1996a).

A oxidação da matéria orgânica corresponde ao principal fator de consumo de oxigênio. Entretanto a oxidação da matéria orgânica ocorre em ambiente (metabolismo) anaeróbio.

O consumo de OD se deve à respiração dos microorganismos decompositores, principalmente as bactérias heterotróficas aeróbias.

A equação simplificada da oxidação matéria orgânica na presença de oxigênio é:



As bactérias, na presença de oxigênio, convertem a matéria orgânica a compostos simples e inertes, como água e gás carbônico. Com isto, elas tendem a crescer e se reproduzir, gerando mais bactérias enquanto houver disponibilidade de alimento

(matéria orgânica) e oxigênio no meio (VON SPERLING, 1996a). Os fatores do decaimento bacteriano pode ser visualizada na Tabela 2.

Tabela 2 Fatores do decaimento bacteriano.

Fatores Físicos	Luz solar (radiação ultravioleta) Temperatura Adsorção Floculação Sedimentação
Fatores físicos químicos	Efeitos osmóticos (salinidade) pH Toxicidade química Potencial redox
Fatores biológicos e bioquímicos	Falta de nutrientes Predação Competição

Fonte: Von Sperling (1996)

3.1.4 Biomassa – inoculo – lodo

A biomassa (inoculo) presente nos sistemas de tratamento biológico pode ser dividida nos seguintes grupos em termos da sua viabilidade: resíduo inerte e biomassa ativa (VON SPERLING, 1996b).

- O resíduo inerte é formado pelo decaimento do lodo envolvido no tratamento do esgoto. Esse decaimento pode se dar por diversos mecanismos, os quais incluem o metabolismo endógeno, morte, predação e outros. Como resultados são gerados produtos de degradação lenta, bem como produtos particulados, inertes ao ataque biológico.
- O inoculo ativo é aquele responsável pela degradação biológica da matéria. Em função da fonte de carbono, a biomassa pode ser dividida em heterotrófico e autotrófico.

Biomassa ativa heterotrófica: A fonte de carbono dos organismos heterotróficos é a matéria orgânica carbonácea. A biomassa heterotrófica utiliza a matéria carbonácea rapidamente biodegradável (solúvel). Parte da energia associada a essas moléculas é incorporada à biomassa, enquanto que o restante é utilizado para fornecer energia para síntese. No tratamento aeróbio o crescimento da biomassa heterotrófica dá-se em condições aeróbias ou anóxicas, sendo bem baixos em condições anaeróbias. As bactérias heterotróficas utilizam o nitrogênio na forma de amônia para síntese e o nitrogênio na forma de nitrato como aceptor de elétron. O decaimento da biomassa heterotrófica gera, além do resíduo inerte, também matéria orgânica carbonácea e nitrogenada de degradação lenta. Tais necessitam sofrer posteriormente o processo de hidrólise, para que se convertam a matéria rapidamente biodegradável, a qual pode ser novamente utilizada pela biomassa heterotrófica e autotrófica.

Biomassa ativa autotrófica: A fonte de carbono dos organismos autotróficos é o gás carbônico. A biomassa autotrófica utiliza a amônia como fonte de energia. Em condições aeróbias, estas bactérias utilizam a amônia no processo de nitrificação, em que a mesma é convertida a nitrito e em seguida a nitrato. Similarmente aos organismos heterotróficos, o decaimento da biomassa autotrófica gera, além de resíduo inerte, também matéria orgânica carbonácea e nitrogenada de degradação lenta. Tais necessitam sofrer posteriormente o processo de hidrólise, para que se convertam matéria rapidamente biodegradável, a qual pode ser novamente utilizada pela biomassa heterotrófica e autotrófica.

3.1.5 Caracterização do lodo

Conforme Von Sperling (1996b), devido ao grau de dificuldade na caracterização dos sólidos biológicos e do substrato, a unidade de massa das células microbianas é normalmente expressa em termos de sólidos em suspensão (SS), uma vez que a biomassa é constituída de sólidos que se encontram em suspensão na fase líquida do reator biológico. No entanto, nem toda massa de sólido participa da conversão do substrato orgânico, havendo uma fração inorgânica que não desempenha funções em

termos do tratamento biológico. Assim, a biomassa é também freqüentemente expressa em termos de sólidos em suspensão voláteis (SSV). Estes representam a fração orgânica da biomassa, já que a matéria orgânica pode ser volatizada, ou seja, convertida a gás por combustão (oxidação).

As concentrações de SSV no lodo dos reatores têm sido utilizadas para estimar a concentração dos microorganismos decompositores da matéria orgânica. A fração de sólido pode ser relacionada e produzir informação importante, como é o caso da relação SSV/SS, que representa o grau de mineralização do lodo.

Assim, os sólidos em suspensão voláteis podem ser ainda divididos em uma fração ativa e uma fração não ativa. A fração ativa é a que tem real participação na estabilização do substrato. A principal limitação à utilização dos sólidos ativos no projeto e controle operacional de uma estação relaciona-se à dificuldade da sua medição. Existem processos indiretos, baseados em DNA, ATP, proteínas e outros, mas nenhum se compara à simplicidade da determinação direta dos sólidos em suspensão voláteis.

3.1.6 Sistema de tratamento de efluente por lodo ativado

Existem diversas variantes no processo de lodo ativado, dentre elas estão a idade do lodo, o tipo de fluxo (contínuo ou batelada) e a origem do efluente a ser tratado no reator (e etapas antecedentes). No reator ocorrem as reações bioquímicas de remoção da matéria orgânica e, em determinadas condições, da matéria nitrogenada. A biomassa se utiliza do substrato presente no esgoto para se desenvolver (VON SPERLING, 1997).

No reator aerado ocorrem reações bioquímicas de remoção da matéria orgânica e, em determinadas condições, de nitrogênio e de fósforo (VON SPERLING, 1997). A biomassa se utiliza do substrato presente no esgoto afluente para se desenvolver. Parte dos sólidos sedimentados no fundo do reator permanece ou em caso de fluxo contínuo

se recircula no sistema, a fim de se manter uma desejada concentração de biomassa no mesmo, a qual é responsável pela elevada eficiência do sistema.

Em virtude da recirculação do lodo, a concentração de sólidos em suspensão no tanque de aeração é bastante elevada. Nestes, o tempo de detenção do líquido (tempo de detenção hidráulica) é baixo, da ordem de horas, implicando em que o volume do reator seja bem reduzido. No entanto, devido à recirculação dos sólidos, estes permanecem no sistema por um tempo superior ao do líquido. O tempo de retenção dos sólidos é denominado tempo de retenção celular ou idade do lodo, a qual é definida como a relação entre a quantidade de lodo biológico existente no reator e a quantidade de lodo biológico removida do sistema de lodos ativados por dia. É esta maior permanência dos sólidos no sistema que garante a elevada eficiência dos sistemas de lodos ativados, já que a biomassa tem tempo suficiente para metabolizar praticamente toda a matéria orgânica dos esgotos.

No Brasil, adota-se a idade de lodo na faixa de 4 a 10 dias para sistemas de lodo ativado convencional. Porém, pesquisas realizadas por Callado e Foresti (2002) e Santos (2005) mostraram que reatores em batelada sequenciais podem ser operados com idades de lodo maiores mantendo-se alta eficiência na remoção de DBO e nutrientes, isto porque a idade do lodo depende da natureza do efluente bruto e das condições operacionais do sistema de tratamento. Ainda segundo Santos et al (2005), o reator operado em bateladas sequenciais é capaz de suportar variações na concentração de sólidos suspensos voláteis, na composição do esgoto bruto e na taxa de consumo de oxigênio sob diferentes idades do lodo sem comprometer a qualidade do efluente final.

A diferença do sistema de lodos ativados de aeração prolongada (fluxo contínuo) para o sistema convencional é que a biomassa permanece mais tempo no reator (18 a 30 dias), porém continua recebendo a mesma carga de DBO.

No sistema de lodos ativados de fluxo intermitente (batelada) há apenas uma unidade e todas as etapas de tratamento do esgoto ocorrem dentro do reator. Estas passam a

ser sequências no tempo e não mais unidades distintas. A biomassa permanece no tanque e não havendo necessidade de sistema de recirculação de lodo. Um sistema de lodos ativados fluxo intermitente possui ciclos bem definidos de operação. São estes: enchimento, reação, sedimentação, esvaziamento e repouso. Em sistemas que recebem esgotos de forma contínua, como por exemplo as estações que recebem esgotos domésticos, há a necessidade de ser ter mais de um tanque de aeração trabalhando em paralelo. Pois um tanque que esta no ciclo de decantação não pode estar recebendo esgotos e para isso deve haver um outro tanque que esteja no ciclo de enchimento. Este sistema pode funcionar tanto como um de lodos ativados convencional como um de aeração prolongada (VON SPERLING, 1997).

Ainda em algumas instalações, o efluente após tratamento secundário, passa por algum processo de filtração granular ou desinfecção, para remoção de material não sedimentável e destruição de patógenos (tratamento terciário).

3.1.7 Microbiologia de lodos ativados

A biomassa pode ser composta por diversos tipos e espécies de microorganismos como: protozoários, bactérias, fungos, leveduras e micrometazoários (CETESB, 1989 apud COLETTI, 1997).

Em sistemas de lodos ativados apenas a microfauna é encontrada, pois a turbulência, em razão da aeração, não permite o desenvolvimento de organismos maiores. A turbidez decorrente do material em suspensão provoca a ausência de luz, evitando o desenvolvimento de algas. Com relação à microbiota, encontram-se normalmente vários tipos de bactérias e, as vezes, fungos e leveduras. Representando a microfauna encontram-se protozoários e micrometazoários (rotíferos e pequenos vermes) (CETESB, 1989 apud COLETTI, 1997).

As bactérias são os organismos de maior importância, uma vez que são elas as maiores responsáveis pela estabilização da matéria orgânica e pela formação de flocos,

por meio da conversão da matéria orgânica biodegradável em novo material celular, CO₂, água, e outros produtos inertes. Os fungos são elementos indesejáveis ao tratamento, pois dificultam a boa formação do floco, tendo em geral, forma filamentosa. Os protozoários não contribuem diretamente para a estabilização da matéria orgânica, assim como os rotíferos; estes quase não existem no processo de lodos ativados, mas já aparecem na modalidade de aeração prolongada (JORDAO e PESSOA, 1995)

A microfauna de um sistema de lodos ativados em operação normal é quase sempre bastante diversificada, sendo composta por diferentes grupos de organismos, onde cada um possui varias espécies. Quando uma microfauna é dominada por uma espécie ou grupo, e quase sempre indicação de desequilíbrio trófico, proporcionada pela existência de fatores limitantes que impedem o desenvolvimento da maioria das outras espécies favorecendo o crescimento de formas mais tolerantes a tais fatores. Os fatores limitantes comuns são geralmente a presença de carga de cheque devido a descarga tóxica, subcarga ou sobrecarga, forte descarte de lodo e insuficiência na aeração (MADONI, 1994). Na Tabela 3, estão agrupados os organismos dos diversos gêneros representantes da microfauna, frequentemente encontrados no processo de lodo ativado.

Tabela 3 Agrupamento de organismos de diversos gêneros presentes nos sistemas de lodos ativados

Classe ciliada - protozoários	
Ciliados livre-natantes	<i>Paramecium, Colpidium, Litonotus, Trachelophyllum, Amphileptus, Chilodonella</i>
Ciliados pedunculados	<i>Vorticella, Charchesium e as suctórias Acineta e Podophrya</i>
Ciliados livres, predadores do floco	<i>Aspidisca, Euplotes, Stylonychia, Oxytricha</i>
Classe Mastigophora - flagelados	<i>Bodo, Cercobodo, Mona sp., Oicomona sp., Euglena sp., Cercomona sp., Peranema</i>
Classe Sarcodina - amebas	<i>Amoeba, Arcella, Actinophrys, Vahlkampfi, Astramoeba, Diffugia, Cochiopodium</i>
Classe Rotífera – rotíferos	<i>Philodina, Rotária, Epiphanes</i>
Classe Nematoda-nematóides	<i>Rhabditis</i>
Classe Filo Anelida- anelídeos	<i>Aelosoma</i>

Fonte: Silva, 2001

3.2 Fármacos

Para produzir seus efeitos característicos, um fármaco deve estar presente em concentrações apropriadas em seus locais de ação. Embora sejam evidentemente proporcionais à quantidade de substância administrada, as concentrações de fármaco ativo, não ligado (livre) obtida também dependem da extensão e da taxa de sua absorção, sua distribuição (que reflete principalmente a ligação relativas as proteínas plasmáticas e teciduais), seu metabolismo (biotransformação) e sua excreção (GOODMAN e GILMAN, 2005).

A absorção descreve a taxa de saída do fármaco de seu local de administração e a extensão em que isso ocorre. No entanto, a principal preocupação é o parâmetro denominado biodisponibilidade, em vez da absorção. Biodisponibilidade é um termo utilizado para indicar a extensão em que a fração de uma dose de um fármaco alcança o seu local de ação ou um líquido biológico a partir do qual o fármaco tem acesso ao seu local de ação.

Após absorção ou administração na circulação sistêmica, o fármaco se distribui nos líquidos intersticial e intracelular, processo que reflete diversos fatores fisiológicos e propriedades físico-químicas específicas de cada fármaco. Processo este conhecido como farmacodinâmica. Esses fatores de distribuição são representados na Figura 3.

Os fármacos são eliminados do corpo inalterados pelo processo de excreção ou convertidos em metabolitos. O rim é o órgão mais importante para excreção de fármacos e seus metabolitos. As substancias excretadas nas fezes são principalmente fármacos não absorvidos, ingeridos por via oral ou metabolitos excretados na bile ou secretados diretamente para o trato intestinal e, subseqüentemente, não absorvidos. (GOODMAN e GILMAN, 2005).

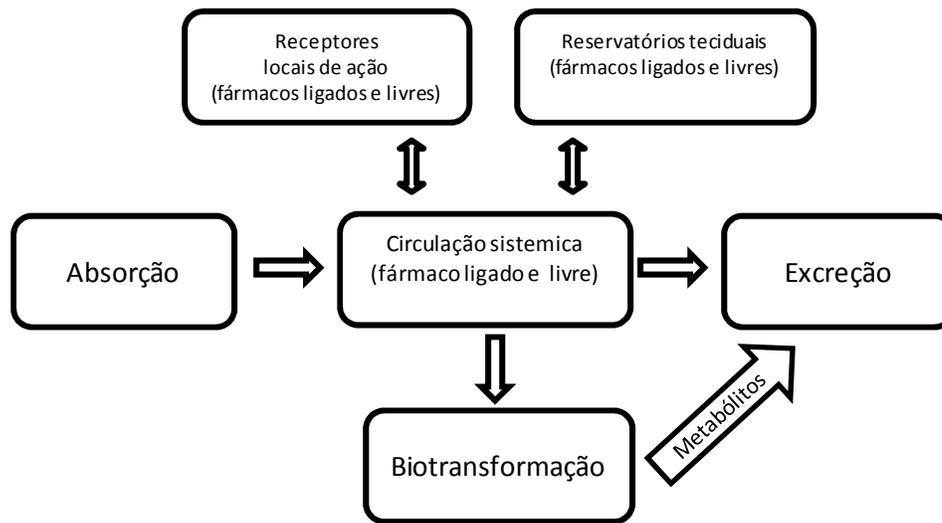


Figura 3 - Representação esquemática das inter-relações entre absorção, distribuição, ligação, metabolismo e excreção de um fármaco em seu local de ação.
 Fonte: Goodman e Gilman (2005)

Os fármacos foram selecionados após análise da programação de produção no ano de 2012 e estudo da produção dos mesmos em 2011 em uma indústria farmacêutica veterinária, escolhidos pela alta frequência de lotes produzidos, bem como volume em litros e seus efeitos quimioterápicos impactantes sobre microorganismos.

3.2.1 Levamisol

O Levamisol é um fármaco imunoestimulante e anti-helmíntico, derivado sintético do tretamisol, descoberto pela Janssen Farmacêutica em 1966 (GOODMAN e GILMAN, 2005).

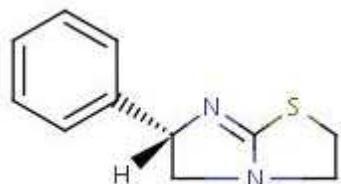
Segundo o guia de fármacos e seus processos da *United States Pharmacopeial Convention, Inc.* (USP), aprovado pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América (FDA), o levamisol (cloridrato de), é um pó cristalino branco ou quase branco. Totalmente solúvel em água, solúvel em álcool, pouco solúvel em cloreto de metileno, praticamente insolúvel em éter. As principais características físico-químicas do Levamisol podem ser visualizadas na Tabela 4.

Tabela 4 Principais características do Levamisol

Número CAS 14769-73-4

C₁₁H₁₂N₂S

Molécula



Propriedades Físicas	Valor	Unidade	Temp ° C
Peso molecular	204,29	g/mol	
log P (octanol-água)	1,84	(adimensional)	
Solubilidade em água	1120	mg/L	25
Pressão de Vapor	1,11E-04	mm Hg	25
Constante de Lei de Henry	4,03E-10	atm·m ³ /mol	25
DQO 1mg/L	2,98 mg/DQO L ⁻¹		

Fonte: *Toxicology Data Network, 2012*

Para Silva (2006) algumas características da farmacocinética e farmacodinâmica são:

- **Vias de administração:** Oral e intravenosa.
- **Absorção no organismo:** Rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal.
- **Distribuição no organismo:** Distribui-se por vários tecidos atingindo concentrações séricas máximas após uma a duas horas da administração oral. Possui meia-vida plasmática de 4h sendo eliminado rapidamente do organismo.
- **Excreção:** Urina, fezes e trato respiratório.
- **Local e mecanismo de ação:** O mecanismo de ação do fármaco se dá pela inibição seletiva da atividade enzimática no músculo do parasita. Os fármacos impedem a conversão de furamato em succinato causando a paralisia do verme.
- **Efeitos:** Possui efeito paralisante específico para os nematóides não causando alterações no metabolismo dos mamíferos

Embora seja um anti-helmíntico, o levamisol pode aumentar o efeito protetor de algumas vacinas e a remissão tumoral. É estimulante da imunidade mediada por linfócitos T que, além disso, normaliza a função dos leucócitos polimorfonucleares, linfócitos e fagócitos caso haja previamente imunodepressão ou imunodeficiência. Sofre

intensa biotransformação hepática e seus metabólitos são eliminados pelos rins e uma pequena fração (5%) pelas fezes. (SOUSA et al., 2005).

Informações sobre os aspectos de distribuição e contaminação ambiental bem como informações ecotoxicológicas deste fármaco não foi possível de ser verificar em bases de dados disponível da literatura científica.

3.2.2 Sulfadiazina

A Sulfadiazina é um quimioterápico antibacteriano, pertence a um grupo de antibióticos chamados os sulfonamidas.

Segundo Goodman e Gilman, 2005, as sulfonamidas foram os primeiros agentes quimioterápicos eficazes a serem utilizados por via sistêmica na prevenção e na cura de infecções bacterianas em seres humanos. A considerável importância de sua descoberta para medicina e a saúde e sua ampla utilização subsequente refletiram-se rapidamente no acentuado declínio observado nos índices de morbidade e mortalidade das doenças infecciosas tratáveis.

O advento da penicilina e, posteriormente, de outros antibióticos diminuiu a utilidade das sulfonamidas, de modo que, no momento ocupam um lugar pequeno no uso terapêutico humano. Entretanto, a introdução da combinação de trimetopim e sulfametoxazol, em meados da década de 70, resultou na maior utilização das sulfonamidas na profilaxia e/ou no tratamento de infecções microbianas específicas.

As sulfonamidas possuem ampla faixa de atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Entretanto, nos últimos anos, tornou-se comum o desenvolvimento de cepas resistentes, de modo que a utilidade desses fármacos declinou correspondentemente. Em geral, a sulfonamidas só exercem efeito bacteriostático, e os mecanismos de defesa celular e humoral do hospedeiro são indispensáveis para a erradicação final da infecção (GOODMAN e GILMAN, 2005).

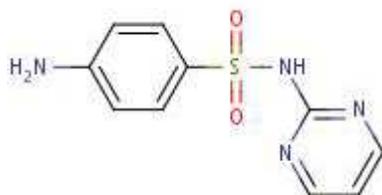
Segundo o guia de fármacos e seus processos da *United States Pharmacopeial Convention, Inc.* (USP), aprovado pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América (FDA), a sulfadiazina é um pó branco, ou levemente amarelo, sem odor e estável na temperatura e pressão padrão. Ao ter exposição da luz, alteração de cor pode ser observada. Totalmente solúvel em meio ácido, em soluções de potássio e hidróxidos de sódio e amônia. Parcialmente solúvel em álcool e acetona, pouco solúvel em sangue humano a 37°C e insolúvel em água. As principais características físico-químicas do Sulfadiazina podem ser visualizadas na Tabela 5.

Tabela 5 Principais características da Sulfadiazina

Número CAS 68-35-9

C₁₀H₁₀N₄O₂S

Molécula



Propriedades Físicas	Valor	Unidade	Temp ° C
Peso molecular	250,278	g/mol	
Ponto de fusão	255,5	°C	
pKa Constante de dissociação	6,36	(adimensional)	
log P (octanol-água)	-0,09	(adimensional)	
Solubilidade em água	77	mg/L	25
Pressão de vapor	4,31E-08	mm Hg	25
Constante de Lei de Henry	1,58E-10	atm-m ³ /mol	25
DQO 1mg/L	2,50 mg.DQO L ⁻¹		

Fonte: *Toxicology Data Network, 2012*

Para Goodman e Gilman, 2005 algumas características da farmacocinética e farmacodinâmica são:

- **Via de administração:** Via oral.
- **Absorção no organismo:** Sofre rápida absorção pelo trato gastrintestinal, com obtenção de concentrações sanguíneas máximas de 3-6 horas após administração de uma dose única.

- **Excreção:** São eliminadas do organismo em parte na forma de fármaco inalterado e em parte como produtos metabolitos. É facilmente excretada pelos rins tanto na forma livre quanto na acetilada, rapidamente no início e, a seguir, mais lentamente no decorrer de um período de dois a três dias.
- **Mecanismo de ação e efeitos:** Para crescer e multiplicar, as células bacterianas necessita produzir o material genético (DNA) com a produção de ácido fólico (folato). As sulfonamidas são análogos estruturais e antagonistas competitivos do ácido para-aminobenzoico (PABA), impedindo assim sua utilização normal pelas bactérias para síntese de ácido fólico. As células bacterianas não podem utilizar o ácido fólico fornecidos pela dieta. Assim, a sulfadiazina funciona impedindo a utilização do folato, impedindo sua multiplicação e propagação da infecção (Health Magazines UK, 2012).

3.2.3 Aspectos ambientais e ecotoxicológicos

Exposição humana: a exposição humana da sulfadiazina ocorre de duas maneiras: pela exposição ocupacional por inalação e contato dermal e, segundo os dados de vigilância a população em geral pode ser exposta a sulfadiazina por meio da ingestão de alimentos, água potável e, ingestão de medicamentos contendo sulfadiazina. (CDC, 2013).

Disposição ambiental: a produção e utilização da sulfadiazina como um antibiótico de uso humano e veterinário pode resultar em sua liberação para o meio ambiente através de vários fluxos de resíduos. **Ambiente terrestre:** pelas características físico-químicas desta molécula, é esperado que a sulfadiazina apresente grande mobilidade no solo e baixa volatilização. Uma vez exposta nesta matriz ambiental, assim como outros agentes antimicrobianos a sulfadiazina não são facilmente biodegradadas e persisti em solos. (BOREEN et al., 2004; MEYLAN et al., 1991; BIALK et al., 2005).

Ambiente aquático: uma vez exposta no ambiente aquático a sulfadiazina não é adsorvida pelos sólidos suspensos nem pelo sedimento. Geralmente os agentes antimicrobianos como a sulfadiazina não são facilmente biodegradadas neste ambiente. As sulfadiazinas podem persistir na massa líquida por até 20 dias (meia-vida), e o processo de hidrólise não é esperado. A sulfadiazina geralmente eliminada da matrix aquática por processo de fotodegradação sendo esta uma importante etapa na sua redução ambiental. (MEYLAN et al., 1991; FRANKE et al., 1994; MEYLAN et al., 1999; BIALK et al., 2005; LAM et al., 2004).

Biodegradação ambiental: sistema aeróbio - Em geral, antibióticos como as sulfadiazinas não são facilmente biodegradados e podem persistir nos solos e água. BIALK et al. (2005). Em ensaios realizados por Al-Ahmad et al. (1999) utilizando testes de frascos fechados e um inóculo de lodo de esgoto não foi observada sua degradação, indicando que este composto não é removido em tratamento de esgotos. Em outro estudo realizado por Boxall et al. (2004) foi verificado por meio do teste OECD 301 D que a sulfadiazina não apresentou ser biodegradável em 40 dias.

Bioconcentração ambiental: em ensaios realizados com peixe e pela sua classificação química a sulfadiazina apresenta um fator de bioacumulação 3 sugerindo que seu potencial de bioacumulação em organismos aquáticos é baixa. (MEYLAN et al., 1999; FRANKE et al., 1994).

Concentração em águas: conforme reportado por Stackelberg et al. (2004) a sulfadiazina não é encontrada na água final de plantas de tratamento de água convencional. Neste trabalho foi avaliada a presença desta substância em uma planta para o atendimento de 850.000 pessoas e uma vazão de 2,34m³/s. **Águas superficiais:** vários trabalhos citados na literatura científica apontam a presença desta substância em águas superficiais em várias regiões do mundo. As concentrações são variadas e sua detecção está na ordem de 0,05 a 1,9 µg L⁻¹. (KOLPIN et al., 2002; KOLPIN et al., 2004;

HALLING-SORENSEN et al., 1998; STAN et al., 1997; DEBSKA et al., 2004; FERRARI et al., 2004; RICHARDSON et al., 1985).

Efluentes: o mesmo se aplica para os efluentes gerados em estações de tratamento de esgoto onde as concentrações são variadas e diferentes conforme os países analisados. As concentrações variam de 2,0 a 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$. (ANDDREOZZI et al., 2003; MIAO et al., 2004; TERNES, 2001; BARNES et al., 2004, FERRARI et al., 2004).

3.2.4 Trimetropim

O trimetropim é um dos agentes mais ativos que exercem efeito sinérgico com uma sulfonamida. Os microorganismos Gram-negativos e Gram-positivos são em sua maioria sensíveis ao trimetropim; todavia, pode se verificar o desenvolvimento de resistência quando o fármaco é utilizado isoladamente.

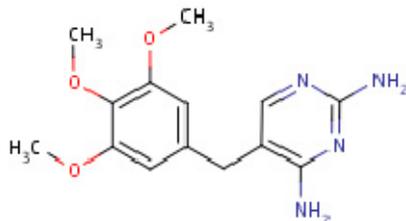
Segundo o guia de fármacos e seus processos da *United States Pharmacopeial Convention, Inc.* (USP), aprovado pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América (FDA), o trimetropim tem sua coloração branco a cor de creme, cristais inodoros, ou pó cristalino. Solúvel em álcool benzílico; moderadamente solúvel em clorofórmio e em metanol; ligeiramente solúvel em álcool e em acetona; muito pouco solúvel em água; praticamente insolúvel em éter e em tetracloreto de carbono. As principais características físico-químicas do Trimetropim podem ser visualizadas na Tabela 6.

Tabela 6 Principais características do Trimetropim.

Número CAS 738-70-5

C₁₄H₁₈N₄O₃

Molécula



Propriedades físicas	Valor	Unidade	Temp. °C
Peso molecular	290	g/mol	
Ponto de fusão	199-203	°C	
log P (octanol-água)	0,91	(adimensional)	
pKa Constante de dissociação	7,12	(adimensional)	20
Solubilidade em água	400	mg/L	25
Pressão de vapor	9,88E-09	mm Hg	25
Constante de Lei de Henry	2,39E-14	atm-m ³ /mole	25
DQO 1mg/L	2,53 mg.DQO L ⁻¹		

Fonte: *Toxicology Data Network, 2012*

Para Goodman e Gilman, 2005 algumas características da farmacocinética e farmacodinâmica são:

- **Via de administração:** via oral.
- **Excreção:** Cerca de 60% do trimetopim administrado é excretado na urina em 24 horas, assim como seus metabolitos.
- **Absorção no organismo:** É absorvido pelo trato gastrintestinal, com obtenção de concentrações sanguíneas máximas em 2 horas após administração de uma dose única.
- **Mecanismo de ação:** poderoso inibidor competitivo seletivo da diidrofolato redutase microbiana, a enzima que reduz o diidrofolato em tetraidrofolato. Essa forma reduzida do ácido fólico é necessária para as reações de transferência de um carbono. Por conseguinte, a administração simultânea de sulfonamida e trimetopim induz bloqueios seqüenciais na via de síntese do tetraidrofolato do microorganismo, a partir de moléculas precursoras. A expectativa de que essa combinação poderia produzir efeitos antimicrobianos sinérgicos foi comprovada tanto *in situ* quanto *in vivo*.

3.2.4.1 Aspectos ambientais e ecotoxicológicos

Exposição humana: a exposição humana do trimetropim ocorre de duas maneiras: pela exposição ocupacional por inalação e contato dermal e, segundo os dados de vigilância a população em geral pode ser exposta ao trimetropim por meio da ingestão de medicamentos contendo trimetropim. (CDC, 2013).

Disposição ambiental: a produção e utilização do trimetropim como um antibiótico de uso humano e veterinário pode resultar em sua liberação para o meio ambiente através de vários fluxos de resíduos. **Ambiente terrestre:** pelas características físico-químicas desta molécula, é esperado que o trimetropim apresente grande mobilidade no solo e baixa volatilização. Uma vez exposto nesta matriz ambiental, é esperado que o seja biodegradado lentamente (meia vida), cerca de 100 dias sob condições anaeróbias ou aeróbias no sedimento. (HEKTOEN et al., 1995; PERRIN, 1965; MEYLAN, 1991).

Ambiente aquático: uma vez exposto no ambiente aquático o trimetropim não é adsorvido pelos sólidos suspensos nem pelo sedimento. Experimentos indicaram que o trimetropim não é facilmente biodegradado neste ambiente. O trimetropim geralmente eliminado da matrix aquática por processo de fotodegradação sendo esta uma importante etapa na sua redução ambiental.

(HANSCH et al., 1995; FJELDE, 1993; MEYLAN, et al., 1999).

Biodegradação ambiental: Quando incorporado em sedimentos com profundidade de 6 a 7 cm, sua biodegradação pode ser persistente, com uma meia vida aproximada de 100 dias. A meia vida em sedimentos de superfície são cerca de 75 dias (HEKTOEN et al., 1995). Verificou-se ser estável na água do mar, durante 20 semanas, quando exposto a UV (FJELDE, 1993).

Bioconcentração ambiental: em ensaios realizados com peixe e pela sua classificação química o trimetropim apresenta um fator de bioacumulação 3 sugerindo

que seu potencial de bioacumulação em organismos aquáticos é baixa. (MEYLAN et al., 1999; FRANKE et al., 1994).

Concentração em águas: conforme reportado por Hirsch et al. (1999) o trimetropim foi detectado em 10 de 52 corpos de água amostrados na Alemanha, com uma concentração máxima de $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$. Nos Estados Unidos, uma pesquisa geológica conduzida entre 1999 a 2000, em mais de 139 lançamentos, mostrou detecção do trimetropim em pelo menos 27, 4% das amostras (KOLPIN et al., 2002). Águas superficiais: No estudo de Hirsch et al. (1999) não foi detectado a presença do trimetropim em 59 amostras de água subterrânea coletadas na Alemanha.

Efluentes: segundo Hirsch et al. (1999) foi detectado em 9 de 10 ETE na Alemanha, com uma concentração média de $0,32 \mu\text{g L}^{-1}$.

4. Materiais e Métodos

4.1 Fármacos

Todos os fármacos estudados neste trabalho foram cedidos por empresa de fabricação de medicamentos veterinários da região de Campinas, em grau de pureza analítica maior que 99% representados por: Cloridrato de levamisol, Trimetropim e Sulfadiazina. As concentrações utilizadas dos fármacos no presente estudo foram estipuladas segundo informações da literatura científica da presença destes compostos em corpos d'água como também estimadas por meio de análises cromatográficas da própria linha de águas residuárias da empresa.

4.2 Inóculo

Para os ensaios propostos neste trabalho foram utilizados dois tipos de biomassas presentes em sistema de lodos ativados, a fim de se avaliar o efeito dos produtos químicos em diferentes condições de operação. O primeiro foi o lodo ativado condicionado proveniente do sistema de tratamento industrial identificado como (LIND) cedidos pela indústria de fabricação de medicamentos veterinários e o segundo proveniente de um sistema de tratamento de esgoto municipal identificado como (LDOM) proveniente de uma planta de tratamento – ETE-Samambaia (Sanasa), ambas localizadas no município de Campinas/ São Paulo.

4.3 Branco

Em todos os ensaios, um branco foi utilizado, sendo este preparado de forma idêntica as amostras de cada experimento, sem adição dos fármacos, substâncias de referência ou inibidoras. O branco é uma estrutura do experimento, fiel ao da metodologia, para controle e melhor interpretação dos resultados obtidos nas outras amostras estudadas.

4.4 Ensaios de biodegradabilidade

Para a realização dos ensaios propostos, as metodologias utilizadas foram obtidas da OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*).

As diretrizes da OECD propõem métodos de ensaios de substâncias químicas, internacionalmente reconhecidos os quais são adotados por laboratórios governamentais e particulares, indústrias, universidades e diversas outras entidades. As metodologias cobrem os testes para as propriedades físico-químicas de produtos químicos, efeitos na saúde humana, efeitos ambientais, e da degradação e acúmulo ambiental.

Para determinar o grau de degradação e os efeitos das substâncias (fármacos) na biomassa originária das estações de tratamento de esgoto, foram selecionados os ensaios mencionados abaixo:

- Ensaio 209 (2010) OECD - Teste de inibição de respiração;
- Ensaio 303 (2001) OECD - Teste de simulação de tratamento em lodo aerado.

Juntamente com o Ensaio 303 foram utilizadas análises complementares seguindo os procedimentos propostos pelo Standard Methods APHA (2005) onde foram avaliados: oxigênio dissolvido (OD): Método 4500-O; temperatura: Método 2550; pH: Método 4500-H; demanda química de oxigênio (DQO): Método 5220-D, série de sólidos (SST e SSV): Método 2540-B-G; índice volumétrico de lodo (IVL): Método 2710-D.

Ensaios de concentração da substância no efluente (avaliação por cromatografia) e toxicidade da substância (ensaio com *Vibrio fischeri* - Microtox®) foram realizados a partir das amostras coletadas no ensaio 303.

4.5 Metodologia OECD 209/2010 - Lodo ativado – teste de inibição de respiração.

A metodologia descreve o teste para determinar os efeitos de substâncias em estudo nos microorganismos presentes no lodo em tratamento de esgoto, medindo sua taxa de respiração sob condições definidas na presença de diferentes concentrações da substância teste. O propósito do teste é providenciar uma rápida imagem dos efeitos da substância teste aos microrganismos da biomassa em estudo.

Para determinação dos resultados, é necessária a aplicação das equações descritas na metodologia, conforme abaixo:

Taxa de consumo de O₂

$$R = \frac{(Q1 - Q2)}{\Delta t \times 60} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

Q1 – Concentração de Oxigênio lida no início do experimento (mg/L)

Q2 – Concentração de Oxigênio lida no fim do experimento (mg/L)

Δt – intervalo de tempo usado (minutos)

Taxa de respiração específica

$$R_s = \frac{R}{SS} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

R – Taxa de consumo de O₂

SS – Sólidos Suspensos (concentração mg/L)

Percentual de inibição total

$$IT = 1 - \left[\frac{(RT - RTA)}{RTB} \right] \times 100\% \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

RT – Taxa de consumo de O₂ total

RTA – Taxa de consumo de O₂ para a amostra do abiótico

RTB – Taxa de consumo de O₂ do branco do experimento

Para a condução dos experimentos, os lodos ativados (3,0 g.L⁻¹) foram previamente lavados com solução salina 0,85%, centrifugados (10.000 m.s²) por três vezes, e resuspenso em 250 mL da mesma solução e mantido sob aeração antes do uso. Frascos de vidros (Béqueres) de 1000 mL foram utilizados onde foram adicionados 250 mL da biomassa, 16 mL de efluente sintético, e os fármacos nas concentrações de (0,005 mg L⁻¹; 0,01 mg L⁻¹; 0,1 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹ e 20,0 mg L⁻¹). As taxas de respiração do lodo foram medidas por meio de um oxímetro (Orion, modelo 3 star) inicialmente e após 3 horas de aeração constante a um fluxo de 0,7 L.minuto.

A água residuária sintética: Peptona 16,0 g; Extrato de carne 11,0 g; Uréia 3,0 g; Difosfato de potássio K₂HPO₄ 2,8 g; Cloreto de sódio NaCl 0,7 g; Cloreto de Cálcio CaCl₂.2H₂O 0,4 g; Sulfato de magnésio MgSO₄.7H₂O 0,2 g; diluída em 1000 mL de água destilada e o pH corrigido para 7,5±0,5.

Nesta metodologia a inibição do fármaco no lodo ativado esta diretamente relacionada com o resultado obtido no ensaio do branco. Espera-se que o branco seja o melhor resultado encontrado em termos de taxa de respiração, pois não existe a interferência da substância teste.

Para garantir que fatores diferentes de consumo de oxigênio da respiração não sejam errôneos na obtenção da porcentagem de inibição, também foram utilizados os resultados obtidos nos ensaios abióticos (água residuárias sintética, fármacos nas mesmas concentrações, sem inóculo), descontando do ensaio de cada substância, conforme metodologia.

Como controle positivo do ensaio foi utilizado uma substância de referência, Sulfato de cobre (II) pentahidratado nas concentrações de 58 mg.L⁻¹, 100 mg.L⁻¹ e 180 mg.L⁻¹, pesada diretamente nos recipientes de ensaio e adicionado 250 mL de água destilada, 16 mL de água residuária sintética e 250 ml da solução de lodo ativado.

Os resultados obtidos nesse ensaio são indicadores apropriados para determinar as concentrações das substâncias nos testes de biodegradabilidade (Ensaio 303 (2001) OECD).

4.6 Metodologia OECD 303/2001- teste de simulação de tratamento em lodo aerado

Para a realização dos ensaios foram utilizados reatores biológicos de bancada com objetivo de determinar a eliminação ou degradação primária e final de compostos orgânicos solúveis por microorganismos aeróbios em um sistema de teste continuamente operado e simulando o processo de lodos ativados.

Quatro unidades de teste foram operadas em batelada, em paralelo em condições idênticas de processo, alteradas apenas pela adição de fármaco em 3 concentrações distintas: 1; 5,0 e 10,0 mg.L⁻¹. Para verificar o rendimento dos reatores foi feito uma unidade de controle (branco), onde o fármaco não foi adicionado.

As unidades (reatores biológicos) consistiam em béquers de 2000 mL preenchidos com 1000 mL de efluente sintético e 200 mL de lodo, (3,0 g.L⁻¹ – peso seco) totalizando um volume de operação de 1200mL.

As unidades foram aeradas continuamente com ar comprimido atmosférico proveniente de um compressor central com um fluxo de 0,7L.min. A operação dos reatores foi realizada com um período de reação de 12 horas e período de decantação de 15 minutos. Após este período o sobrenadante foi retirado por sifonamento e as amostras coletadas para as análises posteriores. O lodo permaneceu nos reatores para uma nova

recarga. Após esta operação os reatores foram novamente preenchidos sob as mesmas condições, e realizada uma nova batelada. A fim de se fazer uma análise representativa os reatores foram operados por 3 dias consecutivos com amostragem inicial e final do processo.

Água residuária sintética: Solução A: Fosfato de potássio KH_2PO_4 8,5 g; Difosfato de potássio K_2HPO_4 21,75 g; Fosfato dissódico desidratado $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 33,40 g; Cloreto de amônio NH_4Cl 0,5 g dissolvida em 1000 mL de água destilada. Solução B: Cloreto de Cálcio CaCl_2 27,50 g em 1 litro de água. Solução C: sulfato de magnésio $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22,50 g em 1 litro de água. Solução D: Cloreto de Ferro $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,25 g em 1 litro de água. O efluente sintético então foi gerado a partir de 10 ml da solução A em 800 ml de água destilada e adição de 1 mL de cada solução B, C e D. O pH da solução final foi ajustado a $7,5 \pm 0,5$.

Os parâmetros de controle dos reatores foram determinados conforme previstos pela metodologia do Standard Methods APHA (2005), onde foram avaliados: evolução do oxigênio dissolvido (OD): Método 4500-O; temperatura: Método 2550; pH: Método 4500-H; demanda química de oxigênio (DQO): Método 5220-D, série de sólidos (SST e SSV): Método 2540-B-G; índice volumétrico de lodo (IVL): Método 2710-D.

4.6.1 Análises de Cromatografia

Para o acompanhamento da biodegradação dos fármacos foram realizadas análises cromatográficas objetivando quantificar os fármacos presentes nas amostras coletadas no ensaio 303.

As análises cromatográficas foram realizadas com o auxílio de um Cromatógrafo a gás Agilent, modelo HP-6890 acoplado a detetor seletivo de massas Agilent, modelo HP-5975, nas seguintes condições: Coluna capilar: HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm); Temperaturas: injetor = 250°C, coluna = 110°C, 5°C/min, 280°C (6 min), detetor = 300°C; Volume injetado: 1,0 μL ; Vazão do gás de arraste (He): 1,0 mL/min. Para a

quantificação dos fármacos o equipamento foi operado no modo SIM (Selected Ion Monitoring), obtendo os seguintes parâmetros:

Tabela 7 Parâmetros de quantificação do equipamento

<i>Molécula</i>	<i>Íon de quantificação</i>	<i>Íons de identificação</i>
Levamisol (tR = 20,1 min)	148	204, 73 e 101
Sulfadiazina (tR = 30,2 min)	185	186, 92, 65 e 108
Trimetoprim (tR = 30,8 min)	290	259, 275, 243 e 123

Conforme adequações do laboratório, o volume coletado das amostras para realização do ensaio foi de 50 mL. A técnica utilizada para a obtenção dos analitos foi por separação líquido-líquido, adicionando 90 mL de diclorometano como agente separador da fase orgânica em três etapas. Em seguida a amostra passou pelo processo de evaporação do solvente e concentrando com o auxílio de um rotaevaporador 25°C, até a secura. O material obtido foi resuspenso em 2mL de metanol, e retirada uma alíquota de 1µL para injeção no equipamento.

4.6.2 Teste de Toxicidade Microtox®

Para o ensaio de determinação da toxicidade das substâncias foi utilizado o método 8050 B (APHA, 2005), utilizando o equipamento Microtox® - “*microtox acute toxicity test*”.

Para o ensaio de toxicidade foi utilizado o equipamento Microtox®, modelo 500 Analyzer, conforme metodologia indicada, foi realizada a diluição a partir de uma amostra, obtendo dez diluições, partindo do volume de 1000 µL do efluente retirado no final dos períodos do ensaio 303 e na concentração 10 mg L⁻¹, para cada substância nas duas fontes distintas de biomassa, efluente doméstico e efluente industrial.

A maior concentração das diluições foi 81,9%, como segue na Tabela 8 as diluições utilizadas a partir do racional de cálculo abaixo:

Volume da amostra = 1000 µL

Volume do reagente = 100 µL

$$\frac{1000}{(1000+100)} = 0,91$$

Equação 5

Obtendo uma amostra com diluição de 91%.

900 µL da amostra a 91% foi transferida para 100 µL do reagente

$$\frac{900}{(900+100)} = 0,90$$

Equação 6

Assim, para a diluição representada pelo numero 10, a concentração foi de 81,90%, conforme equação 7.

$$91\% \times 0,90 = 81,9\%$$

Equação 7

Tabela 8 Diluições utilizadas no ensaio de toxicidade

<i>Diluição</i>	<i>Concentração da amostra %</i>
10	81,90
9	40,95
8	20,48
7	10,24
6	5,12
5	2,56
4	1,28
3	0,64
2	0,32
1	0

Para início do teste, foi necessária a do organismo teste liofilizado, reagindo com o solvente por pelo menos 15 minutos. Após a ativação, ocorre a distribuição do organismo teste (*Vibrio fischeri*) nas diluições anteriormente preparadas.

5. Resultados e Discussão

5.1 Avaliação do efluente industrial

Para a avaliação das concentrações dos fármacos no efluente gerado pela indústria no processo de lavagem dos reatores após sua formulação e envase do medicamento este foi coletado no dreno de saída do reator no primeiro despejo, para as drogas analisadas, em diferentes lotes de produção.

Para o levamisol foram obtidas concentrações variando de 2,0 mg L⁻¹ até 87,35 mg L⁻¹.

A sulfadiazina os resultados variaram de 2,0 mg L⁻¹ até 154 2,0 mg L⁻¹.

Para o trimetropim, foi realizada uma análise da concentração no efluente e o resultado obtido foi de 83,0 mg L⁻¹.

Os valores obtidos foram avaliados por cromatografia, conforme item 4.6.1

Devido a falta de tendência das concentrações obtidas no ensaio para determinar a concentração dos fármacos na água de lavagem dos tanques da indústria farmacêutica, bem como os estudos da literatura, as concentrações testadas nas metodologias aplicadas variaram de: 0,005mgL⁻¹ a 20mgL⁻¹.

5.2 Ensaio de inibição de respiração

Para o ensaio OECD 209/2010 – Teste de inibição de respiração, com lodo ativado, as concentrações dos fármacos utilizadas para o experimento foram 0,005 mg L⁻¹; 0,01 mg L⁻¹; 0,1 mg L⁻¹; 1,0 mg L⁻¹; 2,0 mg L⁻¹ e 20,0 mg L⁻¹, totalizando 6 concentrações testadas.

Todas as concentrações analisadas são apresentadas nas figuras 04 a 06. Como o experimento foi montado em triplicata, valores utilizados nos cálculos da Equação 4 foram a leitura média de cada concentração, leitura dos abióticos e média das leituras dos brancos. Os gráficos foram elaborados agrupando a substância teste e o tipo de inoculo utilizado.

Pela metodologia utilizada também é possível a obtenção de resultados de ECx, entretanto não foi aplicada para a finalidade.

A seguir serão apresentados os resultados para cada substância teste. Os valores gráficos estão apresentados em log (concentração) em função do percentual de inibição.

5.2.1 Ensaios de inibição de respiração com Sulfadiazina

Os ensaios de inibição de respiração realizados com a sulfadiazina são mostrados na Figura 4, representada em gráfico.

É considerada a taxa de inibição sempre com referência ao branco dos ensaios e os resultados mostram diferentes aspectos para cada concentração utilizada.

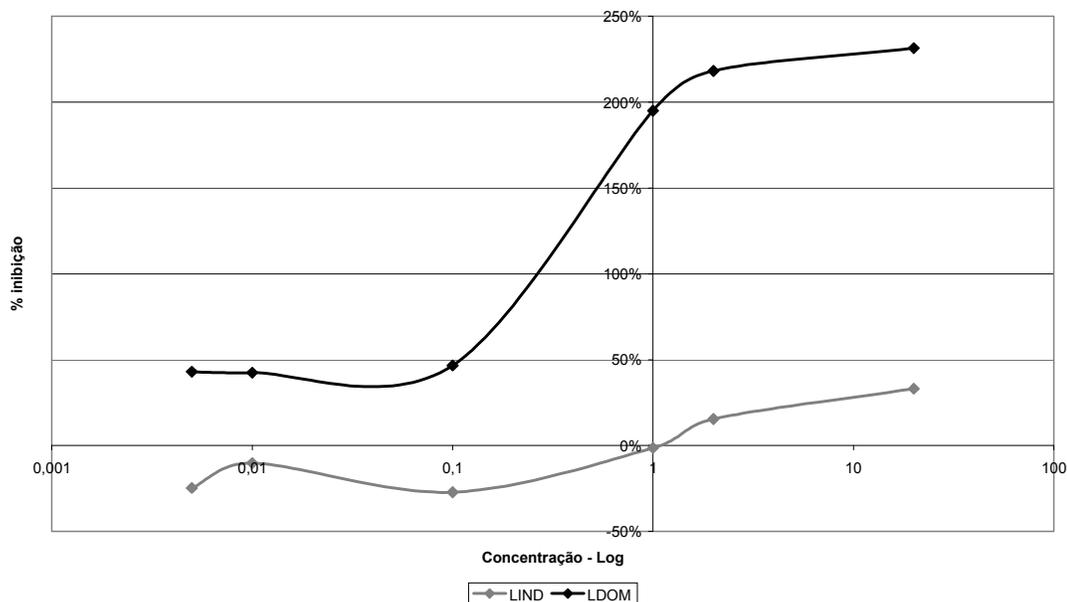


Figura 4 – Gráfico do percentual de inibição de respiração dos lodos ativados industrial (LIND) e doméstico (LDOM) em função das concentrações da sulfadiazina no teste.

Nota-se uma tendência a partir do gráfico com a curva de inibição da sulfadiazina, onde quanto maior a concentração do fármaco aplicada, maior é o percentual de inibição calculado.

A curva de inibição para o LDOM mostra que este lodo apresenta uma correlação de concentração com inibição mais acentuada quando comparado com os ensaios realizados com LIND, sendo apresentado uma taxa de inibição de 43% a uma concentração de $0,005 \text{ mg L}^{-1}$ e 231% na maior concentração utilizada 20 mg L^{-1} em relação ao branco.

Analisando a o comportamento da taxa de inibição do LIND, obtivemos resultados melhores inibição negativa - 25% na menor concentração e uma inibição máxima de 33% na maior concentração em relação ao branco. Implicando que os resultados apresentados com percentual negativo não ocorreram inibição da respiração.

Assim, para as baixas concentrações de sulfadiazina no LDOM podemos considerar que ainda teve o favorecimento do desenvolvimento da biomassa, entretanto aumentando a concentração da dose do fármaco, foi observado o efeito esperado do fármaco na biomassa.

5.2.2 Ensaio de inibição de respiração com Trimetropim

Os ensaios de inibição de respiração realizados com trimetropim são mostrados na Figura 5, representada em gráfico.

Como anteriormente mencionado, consideramos a taxa de inibição sempre com referência ao branco dos ensaios e os resultados mostram diferentes aspectos para cada concentração utilizada.

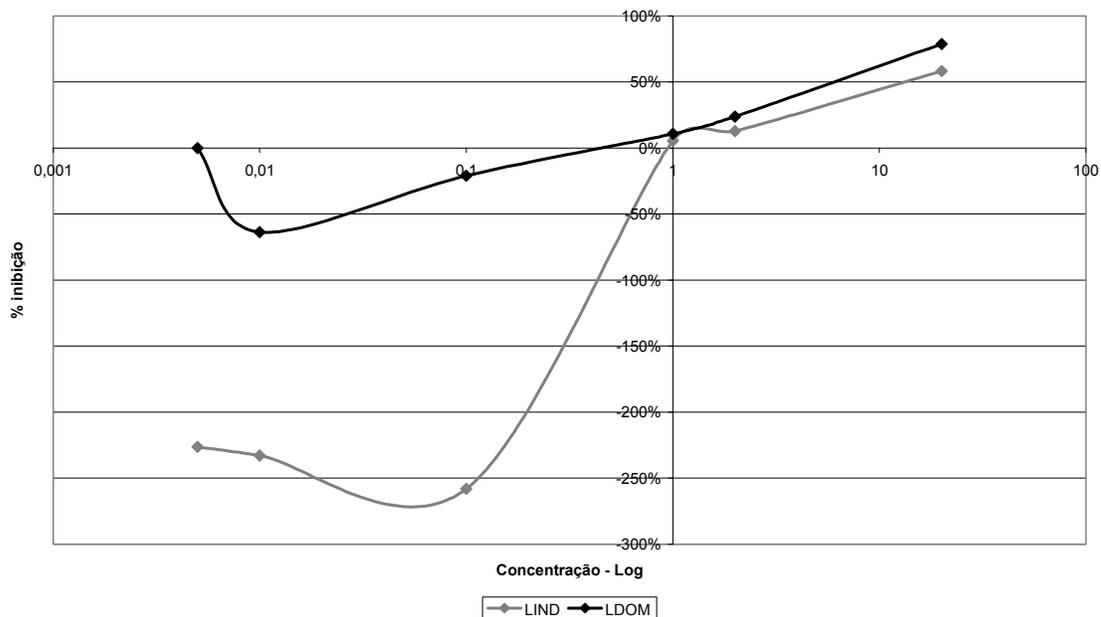


Figura 5 – Gráfico do percentual de inibição de respiração dos lodos ativados industrial (LIND) e doméstico (LDOM) em função das concentrações do trimetropim no teste.

Avaliando os resultados obtidos notamos que a curva de inibição do trimetropim é bem menor do que a resposta obtida no ensaio anterior para ambos os lodos. O lodo industrial (LIND) mostrou baixa ou nenhuma inibição frente a este composto com resultados de um porcentual negativo variando de - 230 a - 260% nas concentrações inferiores (0,005 mg L⁻¹; 0,01 mg L⁻¹) e uma pequena inibição observada de aproximadamente 50% na maior concentração (20 mg L⁻¹). Os dados referentes ao lodo doméstico (LDOM) mostraram resultados parecidos com uma inibição próxima a 0% nas duas concentrações inferiores (0,005 mg L⁻¹; 0,01 mg L⁻¹; 0,1 mg L⁻¹) e de aproximadamente 60% na maior concentração estudada em relação ao branco.

Notamos que somente as concentrações acima de 2,0 mg L⁻¹ teve o efeito esperado na biomassa, tanto no LIND como no LDOM. Estes resultados indicam que esta substância apresenta um potencial de biodegradação por estações de tratamento de esgoto.

5.2.3 Ensaios de inibição de respiração com Levamisol

Os ensaios de inibição de respiração realizados com levamisol são mostrados na Figura 6, representada em gráfico.

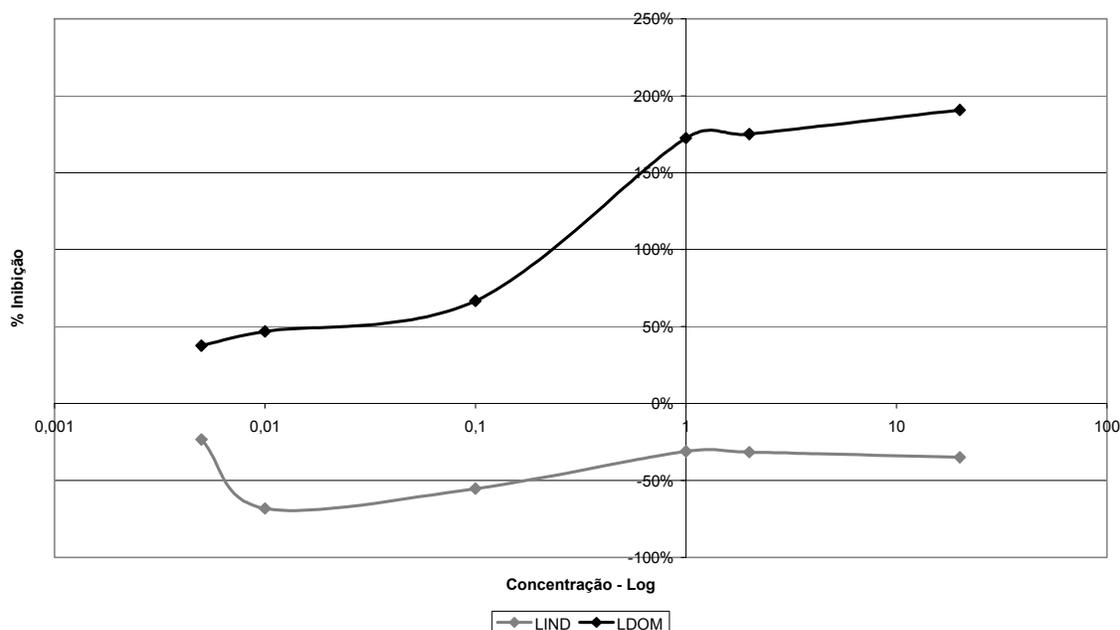


Figura 6 - Gráfico do percentual de inibição de respiração dos lodos ativados industrial (LIND) e doméstico (LDOM) em função das concentrações do levamisol no teste.

O levamisol apresenta curvas de inibição bastante distintas para cada tipo de lodo utilizado. Podemos notar no gráfico que quando esta substância é exposta ao lodo industrial (LIND), esta apresenta taxas de inibição negativas para todas as concentrações utilizadas. No entanto, comparando os resultados apresentados para o lodo doméstico (LDOM) este apresenta uma inibição de 50 a 200% na menor e maior concentração respectivamente frente ao branco.

Estes resultados indicam que o levamisol quando exposto a um lodo não adaptado pode não ser removido pelo reator como também apresenta um potencial tóxico ao lodo o qual pode reduzir sua eficiência pela inibição da atividade dos microorganismos presentes.

Os resultados obtidos indicam que os ensaios de inibição realizados com o lodo proveniente da indústria (LIND) apresentaram uma menor interferência na atividade da biomassa, mostrando uma maior adaptabilidade a estes compostos do que o lodo doméstico (LDOM), sugerindo que se o efluente industrial fosse encaminhado diretamente pela rede de esgoto a uma estação de tratamento de esgoto municipal (ETE) provavelmente ocorreria uma diminuição da eficiência do tratamento, principalmente com os compostos sulfadiazina e o levamisol.

5.3 Teste simulação de tratamento em reatores de lodo ativado

Para o ensaio de tratamento em reatores de lodo ativado, teste OECD 303/2001, objetivou-se determinar a degradação primária e final dos compostos orgânicos por microorganismos aeróbios, as concentrações avaliadas foram 1 mg L⁻¹, 5 mg L⁻¹ e 10 mg L⁻¹ dos fármacos: sulfadiazina, trimetropim e levamisol.

Os ensaios foram preparados de acordo com os procedimentos da diretriz para os lodos ativados (LIND e LDOM) e um fármaco por simulação em paralelo. Um branco foi preparado e submetido ao ensaio no mesmo intervalo de tempo.

A cada início e fim de batelada, alíquotas das amostras foram obtidas para realização dos testes propostos. As recargas de efluente sintético e dosagem dos fármacos eram realizadas nas mesmas condições iniciais. Ao total foram 3 ciclos de avaliação de 12 horas para cada fármaco.

5.3.1 Ensaio com Sulfadiazina lodo ativado industrial (LIND).

Nos ensaios com a sulfadiazina ocorreu uma diminuição nos valores obtidos de DQO em todas as concentrações utilizadas, mas sem uma tendência de redução conforme concentração estudada nos ciclos de reação. Os valores médios dos resultados de DQO podem ser observados na Figura 7.

O melhor resultado foi observado na concentração de 10mg L^{-1} com uma redução da DQO de 83%, seguido das concentrações de 1mg L^{-1} e 5mg L^{-1} com uma redução de DQO de 66% e 20% respectivamente. O branco apresentou uma remoção de DQO de 50%.

Denominado efluente inicial a amostra preparada no primeiro dia do experimento, logo após a mistura dos componentes, e efluente final, a amostra coletada na última batelada do experimento (terceiro dia), após submetida ao processo de simulação do tratamento de lodo ativado.

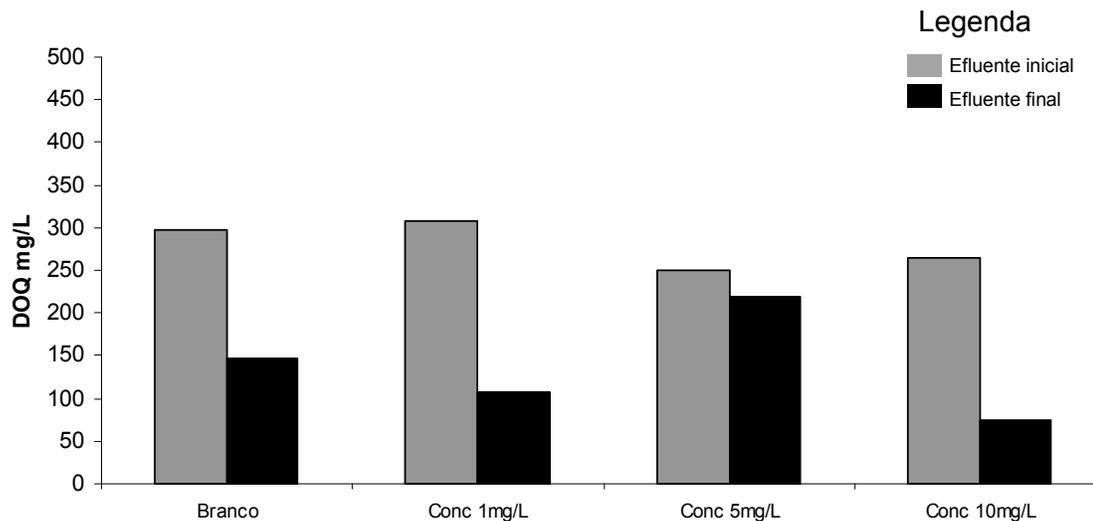


Figura 7 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo industrial na presença de sulfadiazina nas concentrações 1,0; 5,0 e 10mg L^{-1} .

Fato inesperado, pois devido às características da sulfadiazina que é um antibiótico que atua na inibição da enzima que produz ácido fólico, necessário para a síntese de precursores de DNA e RNA, no interior da célula bacteriana era esperado um resultado inverso do observado. Este fato pode estar relacionado pelo tipo de lodo ativado utilizado neste ensaio sendo este já adaptado para receber este tipo de efluente.

Segundo Ingerslev et al (2000), existe uma ligação direta entre a degradação da sulfadiazina com a fase de crescimento da biomassa – bactérias, e ainda que a taxa de degradação aumenta conforme a cada nova dosagem da sulfadiazina no experimento.

As análises complementares para verificar a eficiência do processo mostraram que a concentração do lodo (IVL) permaneceu estável nos três ciclos, com leituras médias de 220 mL/g com boa decantabilidade. No último ciclo de operação dos reatores foi observada um pequeno decaimento na concentração do lodo de 30 e 65 ml nas concentrações 1 e 5mg L⁻¹ respectivamente. O branco apresentou valores de IVL próximos aos observados com a presença do fármaco.

O IVL é definido como o volume ocupado por 1g de lodo após uma decantação de 30 minutos, e interpretando esse resultado, podemos dizer que quanto maior o seu valor, pior a sedimentabilidade do lodo, como relacionado na tabela 9.

Tabela 9 Interpretação aproximada do resultado do Índice Volumétrico do Lodo

Sedimentabilidade	Faixa de Valores do IVL mL/g
Ótima	0-50
Boa	50-100
Média	100-200
Ruim	200-300
Péssima	>300

Fonte: Von Sperling, 1997

Os sólidos suspensos foram analisados no primeiro ciclo – início e fim e no terceiro e último ciclo – início e fim dos experimentos, com semelhantes resultados, ficando os valores estabelecidos entre 0,9 a 1,4 mg L⁻¹. O SS do branco foi de 1,2 mg L⁻¹. A relação SSV/SS que caracteriza o grau de mineralização do lodo, os resultados obtidos não mostraram grande variação entre os ciclos para esta razão. Verificou-se a razão SSV/SS para o branco no ciclo inicial 0,66 e no ciclo final 0,41. Para as concentrações

1, 5 e 10 mg L⁻¹, da sulfadiazina tivemos 0,54; 0,21 e 0,83 no ciclo inicial e no ciclo final 0,77; 0,36 e 0,63 respectivamente. A relação SSV/SS nas concentrações 5 e 10 mg L⁻¹ tiveram um decaimento na estabilidade do lodo ao longo do experimento.

Segundo Von Sperling (1997), quanto menor o valor da relação, mais estabilizado encontra-se o lodo. Sistemas de aeração prolongada possuem relações SSV/SS entre 0,60 e 0,75, ao passo que sistemas de lodos ativados convencional possuem esta relação na faixa de 0,70 a 0,85.

A avaliação da concentração da sulfadiazina determinada nos reatores por análises cromatográficas após o enchimento e no final do período de reação é apresentada na Figura 8.

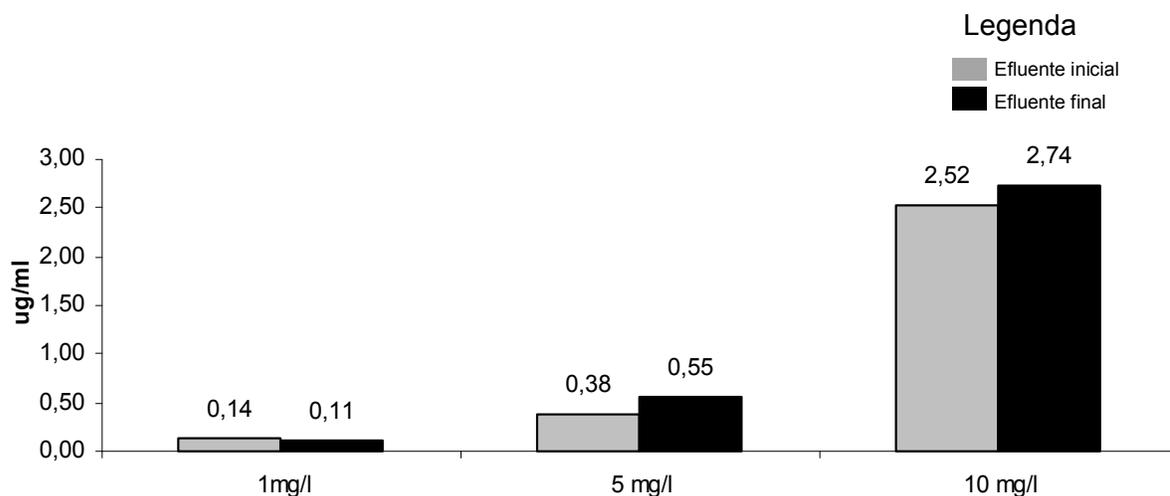


Figura 8 - Quantificação da sulfadiazina por cromatografia (inicial e final) no efluente LIND nas concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹

Os resultados mostram que a concentração de 1,0 mg L⁻¹ apresentou valor no efluente final menor que o efluente inicial em 21,5%, enquanto as concentrações 5,0 e 10 mg L⁻¹ foi observado um acúmulo do fármaco. Este aumento da concentração observada pode estar relacionado à perda de água dos reatores por evaporação.

Se desconsiderarmos este fato, podemos inferir que nestas concentrações (5,0 e 10 mg L⁻¹) não houve redução do fármaco permanecendo este no reator. Neste caso, os

valores observados na eficiência de remoção de DQO de 83, 66 e 20% para as concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹ respectivamente estão relacionadas a endogenia, onde as bactérias, para sobreviver, passam a utilizar de forma mais intensa nos seus processos metabólicos a própria matéria biodegradável das suas células, e esta redução de eficiência pode estar relacionada a inibição da sulfadiazina para a microbiota do lodo observada no ensaio OECD209.

5.3.2 Ensaio com Sulfadiazina lodo ativado doméstico (LDOM).

Nos ensaios com a sulfadiazina aplicada ao lodo doméstico mostrou uma redução no valor de DQO tanto no branco 94% e na concentração de 1 mg L⁻¹ 69%. Nas concentrações de 5,0 e 10,0 mg L⁻¹ foi observado um aumento de DQO nos ciclos de reação. Os valores médios dos resultados de DQO podem ser observados na Figura 9.

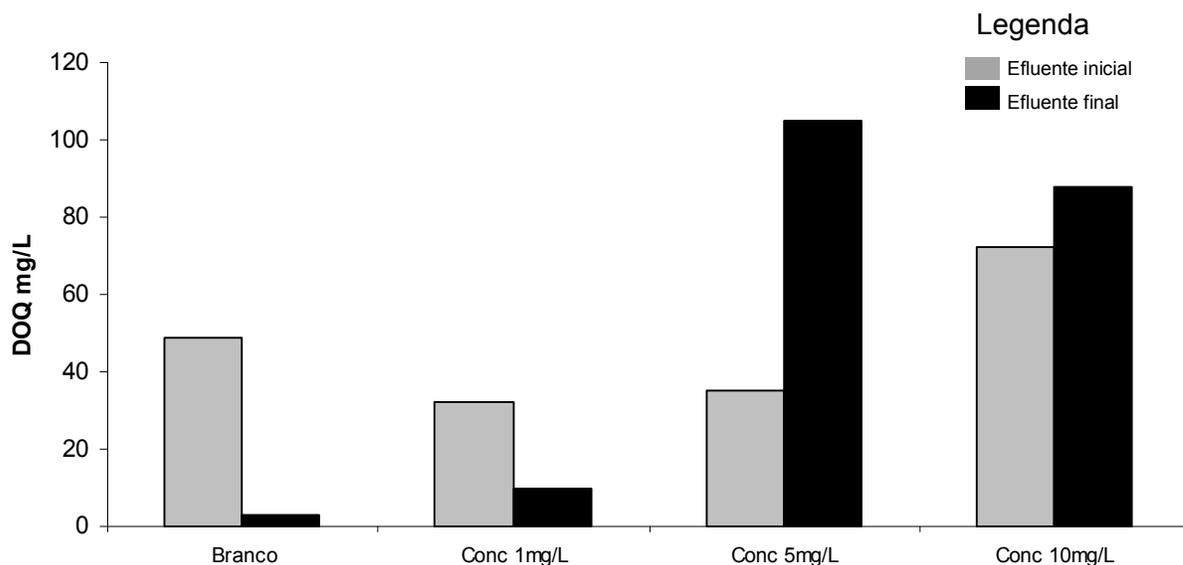


Figura 9 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo doméstico na presença de sulfadiazina nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L⁻¹

Uma possível explicação para este aumento da DQO nas maiores concentrações pode estar relacionada com a inibição dos microrganismos esperada pelo efeito da sulfadiazina na biomassa, devido seu princípio ativo bacteriostático.

As análises complementares realizadas para verificar a eficiência do processo mostraram que os valores de IVL durante o período de ensaio foram variáveis, tendo um decréscimo considerável em todas as concentrações, com resultado inicial de 437,50 mL/g e final de 83, 175 e 100 mL/g para as concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹ respectivamente. A experiência entre os que operam estações de tratamento por lodos ativados aponta que IVL maior que 200 mL/g costuma ser uma indicação de lodo de má qualidade e má sedimentabilidade. A literatura indica valores nesta ordem, em particular a publicação clássica sobre operação de estações de tratamento, o MOP-11 da WEF (1990).

Os sólidos suspensos foram analisados no primeiro ciclo – início e fim e no terceiro e último ciclo – início e fim do experimento, com semelhantes resultados, ficando os valores estabelecidos entre 4 a 12 mg L⁻¹ inclusive o branco. Para a relação SSV/SS os resultados obtidos mostraram uma diminuição nesta razão em todas as concentrações estudada. Verificou-se a razão SSV/SS para as concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹, de 0,75; 0,50 e 0,75 no ciclo inicial e no ciclo final 0,83; 0,83 e 0,81 respectivamente, indicando um aumento da mineralização da biomassa.

A avaliação da concentração da sulfadiazina determinada nos reatores por análises cromatográficas após o enchimento e no final do período de reação é apresentada na Figura 10.

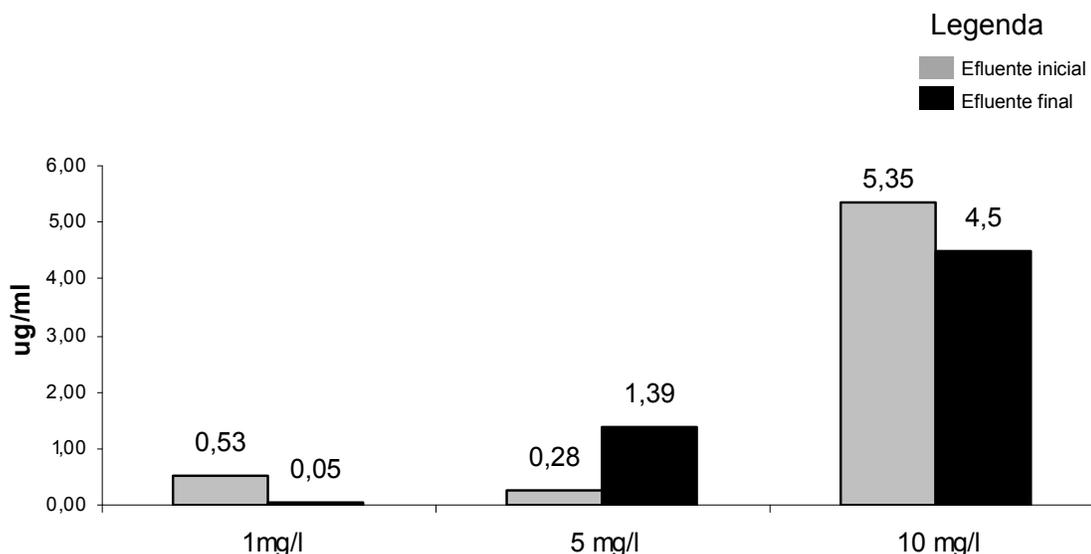


Figura 10 – Quantificação da sulfadiazina por cromatografia (inicial e final) no efluente LDOM nas concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹

Os resultados das análises cromatográficas mostraram uma redução inicial do fármaco em 90% para a concentração de 1,0 mg L⁻¹. Nas outras duas concentrações avaliadas foram observadas um aumento do fármaco e uma pequena redução de aproximadamente 16% da concentração inicial evidenciando a não degradação da droga.

Avaliando os resultados podemos concluir que a sulfadiazina foi praticamente biodegradada durante a realização dos ensaios na concentração de 1,0 mg L⁻¹ quando submetida ao processo de lodo ativado. Fato este comprovado pelas análises cromatográficas e DQO. As demais concentrações estudadas demonstram que a sulfadiazina não é removida e nem biodegradada pelo lodo e está presente no efluente final dos reatores.

5.3.3 Ensaios com Trimetropim lodo ativado industrial (LIND).

Nos ensaios realizados com o trimetropim frente ao LIND os resultados mostraram uma redução nos valores de DQO em todas as concentrações estudadas. Os valores médios dos resultados de DQO podem ser observados na Figura 11.

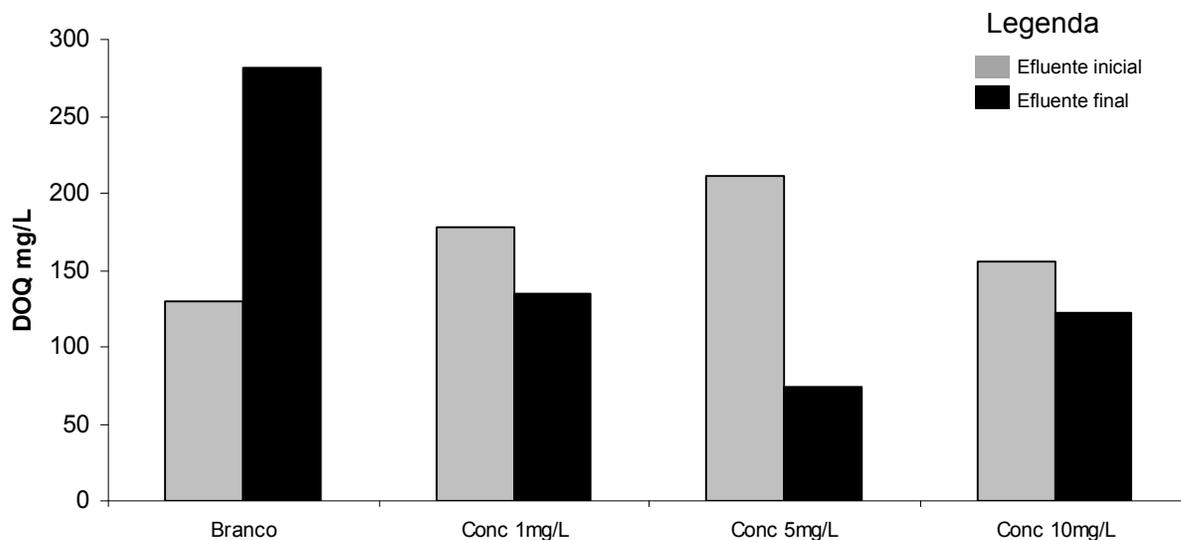


Figura 11 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo industrial na presença de trimetropim nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L⁻¹.

O melhor resultado foi observado na concentração de 5 mg L⁻¹ com uma redução da DQO de 65%, seguido das concentrações de 1,0 e 10 mg L⁻¹ com uma redução de DQO de 25% e 22% respectivamente. O branco apresentou um resultado não esperado de aumento da DQO.

Fato inesperado, pois devido às características do trimetropim que é um antibiótico inibidor da enzima na redutase microbiana era esperado um resultado inverso do observado. Este fato pode estar relacionado pelo tipo de biomassa utilizada neste ensaio sendo este já adaptado para receber este tipo de efluente.

As análises complementares mostraram que os valores de IVL durante o período de ensaio foram variáveis, mas dentro dos parâmetros considerados entre bom e ótimo

para o IVL, com resultado inicial de 29,69 e 19 ml/g para as concentrações 5 e 10 mg L⁻¹ e final de 64 e 43 ml/g respectivamente. No branco os resultados inicial e final foram 17,43 e 108,33 ml/g respectivamente.

Os sólidos suspensos foram analisados no primeiro ciclo – início e fim e no terceiro e último ciclo – início e fim do experimento, com semelhantes resultados, ficando os valores estabelecidos entre 0,12 a 1,09 mg L⁻¹. Para a relação SSV/SS os resultados obtidos indicaram uma diminuição em todas as concentrações estudada. Verificou-se a razão SSV/SS para as concentrações 1, 5 e 10 mg L⁻¹, de 0,80; 0,93 e 0,91 no ciclo inicial e no ciclo final 0,73; 0,58 e 0,45 respectivamente, diminuindo o grau de mineralização do lodo.

No ensaio da cromatografia, todas as concentrações estudadas apresentaram valores abaixo do limite de detecção do equipamento.

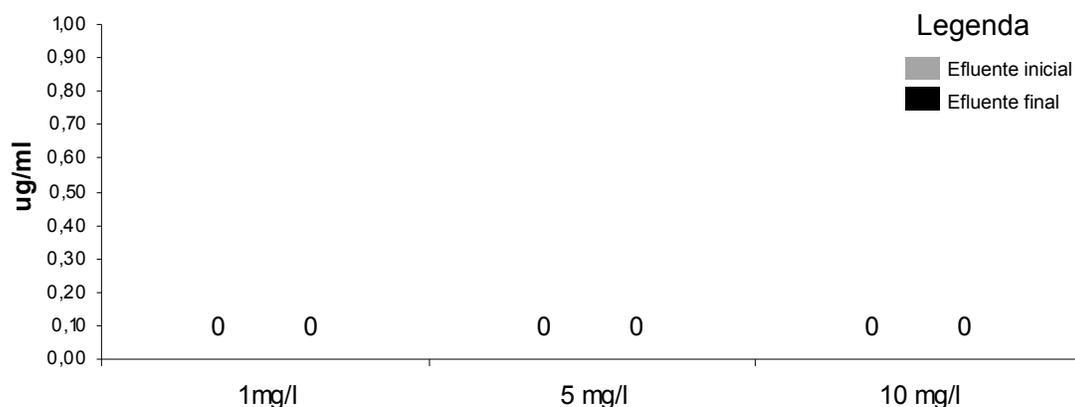


Figura 12 – Quantificação do trimetopim por cromatografia (inicial e final) no efluente do LIND nas concentrações de 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹.

Os resultados apresentados indicam que o trimetopim foi totalmente biodegradado ou removido pelo lodo ativado industrial durante os ciclos de processo. Fato este comprovado pelas análises cromatográficas. Os resultados apresentados pela remoção de DQO não foram capazes de indicar este fato e indicaram uma baixa eficiência de processo. Isso comprova que esta técnica analítica é de extrema importância nas

análises destes compostos. Segundo informações obtidas pelo ensaio 209 o trimetropim apresenta uma baixa inibição do lodo em baixas concentrações o que pode ter colaborado para o processo de biodegradação.

5.3.4 Ensaio com Trimetropim lodo ativado doméstico (LDOM).

Nos ensaios realizados com o trimetropim frente ao LDOM os resultados mostraram uma redução nos valores de DQO em todas as concentrações estudadas exceto na concentração de 5,0 mg L⁻¹. Os valores médios dos resultados de DQO podem ser observados na Figura 13.

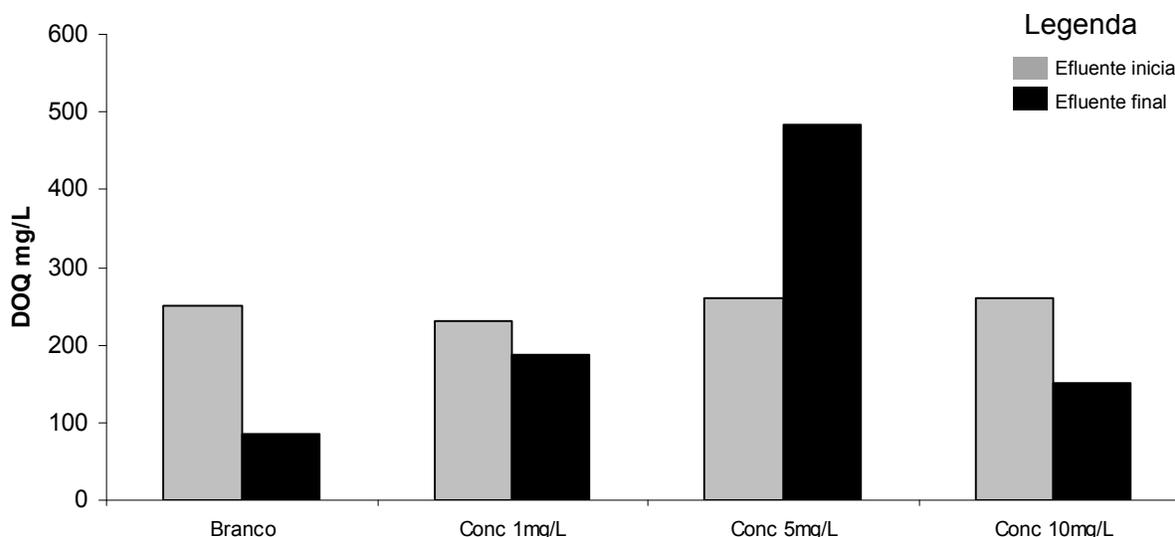


Figura 13 - Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo doméstico na presença de trimetropim nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L⁻¹

O melhor resultado foi observado nas concentrações de 10 e 1 mg L⁻¹ com uma redução da DQO de 42,30 e 18,70%, respectivamente. O branco apresentou uma redução de 66%.

Os valores de IVL durante o período de ensaio mostraram-se variáveis, tendo um aumento considerável em todas as concentrações, com resultado inicial de 200; 184,62;

218,18 e 300 mL/g para as amostras: branco e concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹ respectivamente. Os resultados finais foram 371,43; 321,43; 312,50 e 600 mL/g na mesma ordem, indicando perda de sua qualidade.

As análises de sólidos realizadas no primeiro ciclo – início e fim e no terceiro e último ciclo – início e fim do experimento, apresentaram um declínio dos valores de SS no terceiro ciclo. Para a relação SSV/SS os resultados obtidos mostraram um aumento desta razão em todas as concentrações estudada. Verificou-se a razão SSV/SS para as concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹, de 0,69; 0,81 e 0,62 no ciclo inicial e no ciclo final 0,71; 0,87 e 0,75 respectivamente. Para o branco o resultado inicial e final foram 0,66 e 0,71, que significa uma mineralização do lodo durante o experimento.

Os resultados das análises cromatográficas (Figura 14) mostraram uma redução inicial do fármaco em 52% para a concentração de 1,0 mg L⁻¹. Nas outras duas concentrações avaliadas foram observadas um aumento da concentração do fármaco evidenciando a não degradação da droga pelo lodo ativado doméstico.

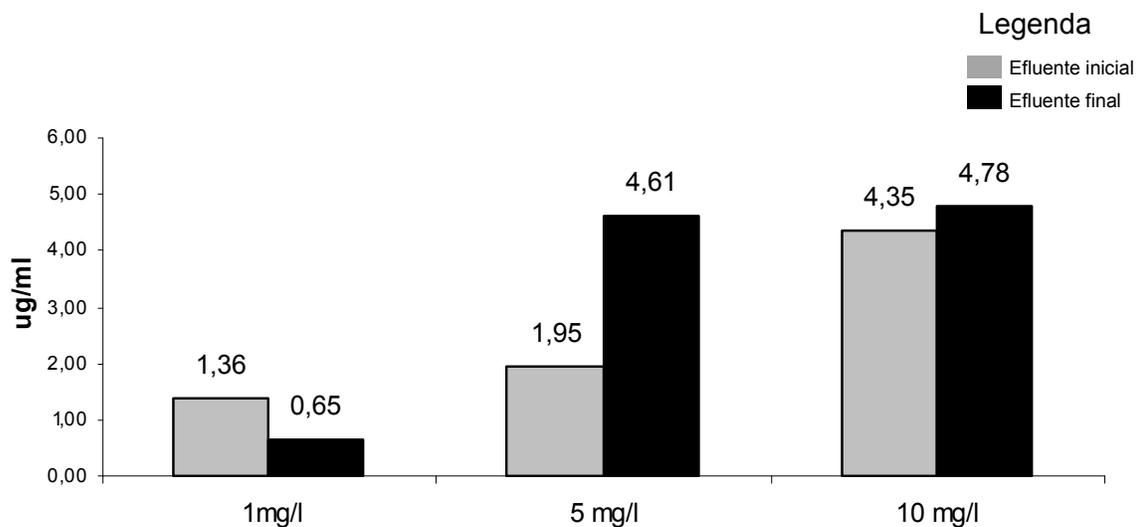


Figura 14 – Quantificação do trimetropim por cromatografia (inicial e final) no efluente LDOM nas concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹

Os resultados apresentados indicam que o trimetropim quando exposto ao lodo ativado doméstico não é passível de biodegradação em concentrações mais elevadas sendo apenas observada uma remoção de aproximadamente 50% na menor concentração, indicando que este fármaco não é passível de remoção em uma estação de tratamento de esgoto municipal.

5.3.5 Ensaios com Levamisol lodo ativado industrial (LIND).

Nos ensaios realizados com o levamisol frente ao LIND foi observado uma redução da DQO em todas as concentrações estudadas. Os valores médios dos resultados de DQO podem ser observados na Figura 15.

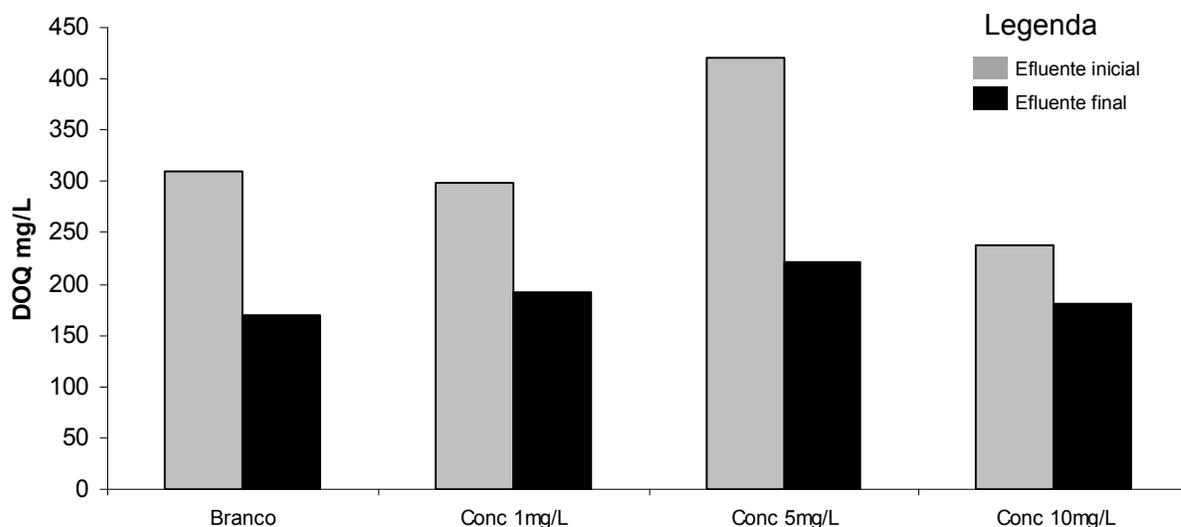


Figura 15 – Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo industrial na presença de levamisol nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L⁻¹

Podemos observar pelos resultados apresentados na Figura 15 que o levamisol apresenta valores de redução de DQO próximos ficando este na faixa de 29% em relação a DQO inicial para as concentrações de 1,0 e 10 mg L⁻¹. A maior redução observada foi para a concentração de 5,0 mg L⁻¹ onde esta redução foi de aproximadamente 47%.

Os valores de IVL durante o período de ensaio mostraram-se variáveis, tendo um aumento leve em todas as concentrações, com resultado inicial de 85,71 mL/g para todas as concentrações e 100 mL/g para o branco. Os valores finais observados foram de 103,6; 103,6 e 94,12 mL/g para as concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹ e 95,45 mL/g para o branco, caracterizando uma piora na qualidade da biomassa durante o teste.

As análises de sólidos foram realizadas no primeiro ciclo – início e fim e no terceiro e último ciclo – início e fim dos experimentos, com resultados semelhantes. Para a relação SSV/SS os resultados obtidos nesta razão tenderam ao aumento para todas as amostras, exceto concentração 1mg L⁻¹. Verificou-se a razão SSV/SS para as concentrações 1, 5 e 10 mg L⁻¹, foram 0,64; 0,64 e 0,50 no ciclo inicial e no ciclo final 0,57; 0,64 e 0,70 respectivamente. A razão SSV/SS do branco foi 0,58 para inicial e 0,81 para o último ciclo.

Os resultados das análises cromatográficas (Figura 16) mostraram que levamisol foi biodegradado durante os ciclos de ensaio utilizando o lodo industrial com valores abaixo do limite de detecção do equipamento.

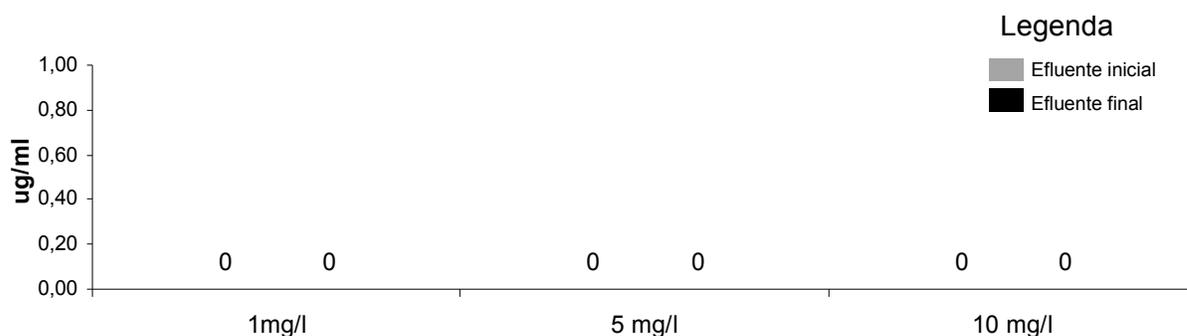


Figura 16 – Quantificação do levamisol por cromatografia (inicial e final) no efluente LIND nas concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹

O levamisol é um fármaco que tem como alvo os helmintos, e, portanto exerce dentre os fármacos estudados baixa relação de inibição ao lodo industrial. Fato este comprovado pelos ensaios 209 onde foi observada uma relação de inibição negativa.

5.3.6 Ensaios com Levamisol lodo ativado doméstico (LDOM).

Nos ensaios realizados com o levamisol frente ao LDOM foi observado uma redução da DQO em todas as concentrações estudadas. Os valores médios dos resultados de DQO podem ser observados na Figura 17.

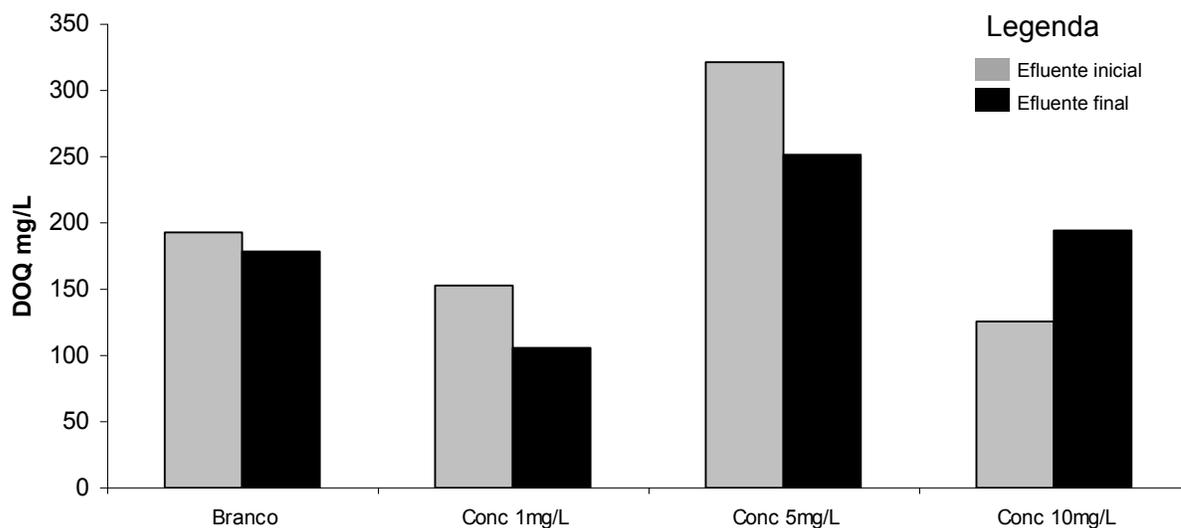


Figura 17 – Remoção de DQO (inicial e final) utilizando o lodo doméstico na presença de levamisol nas concentrações 1,0; 5,0 e 10 mg L⁻¹

Podemos observar pelos resultados apresentados na Figura 17 que o levamisol apresenta valores de redução de DQO distintos conforme a concentração utilizada. O melhor resultado foi observado na concentração de 1mg L⁻¹ com uma redução da DQO de 30,7%, seguido das concentrações de 5mg L⁻¹ com uma redução de DQO de 21,4%. A redução do parâmetro DQO no branco foi de 7,3% e a concentração 10 mg L⁻¹ não apresentou redução.

Os valores de IVL durante o período de ensaio mostraram-se variáveis, tendo uma melhora na sedimentabilidade do lodo em todas as concentrações, com resultado inicial de 475; 633,33 e 950 mL/g para as concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹ respectivamente. Os resultados finais foram 266,67; 400 e 187,50 mL/g na mesma ordem, mostrando uma adaptabilidade ao efluente e melhorando a estabilidade da biomassa.

Os sólidos suspensos foram analisados no primeiro ciclo – início e fim e no terceiro e último ciclo – início e fim do experimento. Para a relação SSV/SS os resultados obtidos nesta razão aumentaram em todas as concentrações estudadas. Verificou-se a razão SSV/SS para as concentrações 1, 5 e 10 mg L⁻¹, foi ,50; 0,33 e 0,50 no ciclo inicial e no ciclo final 0,50; 0,75 e 0,70 respectivamente.

No ensaio da cromatografia (figura 18), os resultados mostraram que na concentração 1mg L⁻¹ o levamisol foi removido do reator com valor abaixo do limite de detecção do equipamento. A concentração de 5mg L⁻¹ apresentou uma redução deste composto em aproximadamente 50% e na concentração de 10mg L⁻¹ não foi observada sua remoção.

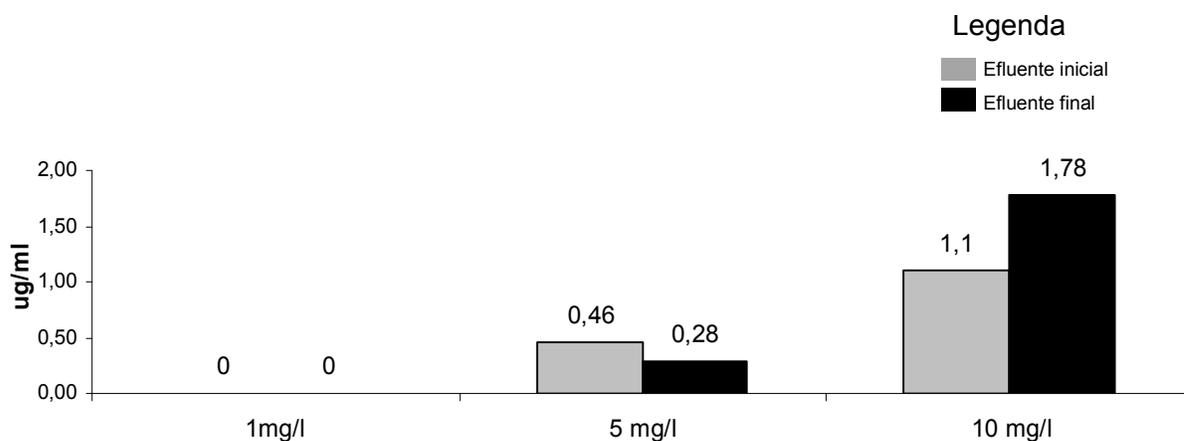


Figura 18 – Quantificação do levamisol por cromatografia (inicial e final) no efluente do LDOM nas concentrações 1,0, 5,0 e 10 mg L⁻¹

Estes resultados indicam que o levamisol frente a um lodo doméstico pode ser removido em baixas concentrações e em concentrações mais elevadas este não é removido do reator.

5.3.7 Ensaios de toxicidade com *Vibrio fischeri*

A bactéria *Vibrio fischeri* foi escolhida como organismo-teste para os ensaios devido ao princípio ativo das substâncias utilizadas neste estudo, principalmente a sulfadiazina e o trimetropim que são antibacterianos.

Foram analisadas as amostras obtidas do ensaio OECD 303, da concentração 10 mgL^{-1} a fim de determinara toxicidade dos fármacos. Também foram testados os fármacos na concentração 10 mgL^{-1} dissolvidos em água destilada, sem prévia preparação. Esses resultados não indicaram diminuição da bioluminescência nos organismos testes.

Os resultados apresentados na Tabela 10 indicam que a diminuição da bioluminescência da bactéria não foi alterada pelos efluentes dos reatores após o tratamento, indicando assim que durante este processo as moléculas dos fármacos ou seus princípios ativos foram modificadas ou biodegradadas implicando em um efluente que apresente baixa resistência microbiana principalmente aos organismos sensíveis a estas drogas.

Tabela 10 Resultados com organismo teste *Vibrio fischeri* dos fármacos levamisol, sulfadiazina e trimetropim obtidos no ensaio Microtox®

Amostra	Fármaco	Tempo de leitura da amostra	Diluição									
			Branco	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Biomassa Industrial	Levamisol	Tempo 0	90	92	98	99	97	91	101	100	101	103
		Tempo 15 min	118	110	126	123	125	125	145	174	196	196
	Sulfadiazina	Tempo 0	102	106	106	108	102	109	95	101	104	106
		Tempo 15 min	75	110	108	105	96	89	77	97	140	194
	Trimetropim	Tempo 0	112	89	92	90	97	92	92	84	83	85
		Tempo 15 min	126	73	70	82	98	112	139	169	169	169
Biomassa Domestica	Levamisol	Tempo 0	90	92	92	98	102	114	111	141	142	127
		Tempo 15 min	100	110	110	118	128	169	169	169	169	169
	Sulfadiazina	Tempo 0	106	81	75	119	103	171	105	88	105	101
		Tempo 15 min	117	97	87	132	121	190	125	119	170	172
	Trimetropim	Tempo 0	93	91	91	94	97	95	93	100	100	96
		Tempo 15 min	105	104	104	110	110	120	129	142	176	159

O ensaio de toxicidade com *Vibrio fischeri* é uma ferramenta importante na avaliação da eficácia do tratamento de efluentes, e de acordo com a metodologia utilizada, os resultados apresentados não caracteriza os fármacos como agentes causadores de efeitos tóxicos neste microorganismo.

6. Conclusões

Com base nos resultados obtidos nos experimentos concluímos que, respostas distintas puderam ser observadas entre as fontes de biomassa utilizadas. Para o desenvolvimento deste trabalho onde o lodo proveniente da fonte industrial apresentou uma melhor resposta aos testes de simulação de tratamento em lodo aerado na presença dos fármacos selecionados do que o lodo doméstico. Este resultado já era esperado uma vez que esta biomassa já está adaptada a este tipo de efluente nas mais diversas concentrações.

Dentre os fármacos estudados, a sulfadiazina foi o que mais interferiu nos ensaios de simulação de tratamento aeróbio, seguida pelo trimetropim e do levamisol. Apesar da sulfadiazina e o trimetropim apresentarem como princípio ativo a característica bacteriostática, não foi possível consolidar resultados de níveis de concentração adequadas para o tratamento, embora os resultados indiquem que quanto menor a concentração melhor o processo de biodegradação destas moléculas. A adaptabilidade da biomassa frente aos fármacos estudados nos remete as considerações preocupantes da geração de bactérias, resistentes aos efeitos quimioterápicos das drogas.

As análises cromatográficas indicam que os ensaios realizados com o lodo industrial apresentam níveis adequados de seus efluentes exceto para a sulfadiazina onde este demonstra a presença deste composto em quantidades variadas conforme a concentração inicial.

Os resultados de toxicidade não apresentaram efeitos tóxicos no organismo-teste indicando uma possível modificação da estrutura química das moléculas pelo tratamento.

Recomendações para estudos futuros:

Outros estudos devem ser conduzidos, com maior abrangência de substâncias e suas combinações a fim de se avaliar a evolução do tratamento.

Ensaio de antibiograma devem ser realizados a fim de se estimar se o efluente industrial apresenta realmente uma inativação do princípio ativo dos fármacos frente a bactérias sensíveis a estas drogas.

7. Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12.713 – Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). 2009

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 15411-3 – Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia aquática – Determinação de efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente) Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas. 2006

AGA, D., *Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems*. 1st ed. New York: CRC Press - Taylor e Francis Group. 2008

AL AHMAD, A., DASCHNER, F.D., KÜMMERER, K., *Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of wastewater bacteria*. Arch Environ Contam Toxicol 37:158–63. 1999

ALEXY, R., KÜMPE, T., KÜMMERER, K., *Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test*. Chemosphere: Volume 57, Issue 6: 505–512. 2004

AL-RIFAIA, J.H.; GABELISHA, C.L.; SCHÄFERA, A.I., *Occurrence of pharmaceutically active and non-steroidal estrogenic compounds in three different wastewater recycling schemes in Australia*. 2007

ANDREOZZI, R., RAFFAELE, M., NICKLAS, P., *Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment*. Chemosphere 50: 1319-1330. 2003

APHA/AWWA/WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21th ed. Washington, DC: American Public Health Association. 2005

ARASMITH, E. E. *Centrifuge, Operational Control Tests*. Linn-Benton Community College. Albany, Oregon. 1986

BARNES, K.K., CHRISTENSON, S.C., KOLPIN, D.W., FOCAZIO, M.J., FURLONG, E.T., ZAUGG, S.D., *Pharmaceuticals and other organic waste water contaminants within a leachate plume downgradient of a municipal landfill*. Ground Water Monit Remediat 24:119–26. 2004

BIALK, H.M., SIMPSON, A.J., PEDERSEN, J.A., *Cross-coupling of sulfonamide antimicrobial agents with model humic constituents*. Environmental Science e Technology, Vol.39: 4463-4473. 2005

BILA, D.M., DEZOTTI, M., *Fármacos no Meio Ambiente*. Química Nova, Vol 26, nº 4: 523-530. 2003

BOREEN, A.L., ARNOLD, W.A., MCNEILL, K., *Photochemical fate of sulfa drugs in the aquatic environment: sulfa drugs containing five-membered heterocyclic groups*. Environmental science e technology, Vol.38: 3933-40. 2004

BORGES, A.D.L., DEL PONTE, G., NETO, A.F., CARVALHO, I.. *Síntese de sulfadiazina e sulfadiazina de prata em escala semi-micro: prática experimental em síntese de fármacos*. Química Nova: vol.28, nº 4. 2005, disponível em <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422005000400030>

BOXALL, A.B.A., FOGG, L.A., BLACKWELL, P.A., KAY, P., PEMBERTON, E.J., CROXFORD, A., *Veterinay medicines in the environment*. Environ Contam Toxicol 180: 1-91. 2004

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman e Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. 11ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do

Brasil, 2007. 1821 p. Disponível em http://www.uft.edu.br/parasitologia/pt_BR/farmacos/ acessado em 04/jun/2012

CALLADO, N.H., FORESTI, E., Remoção biológica de fósforo em reator sequencial em batelada tratando esgoto sanitário sintético utilizando acetato como fonte externa de carbono. In: XXVIII CONGRESO INTERAMERICANA DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL. Anais... Cancun: AIDIS/ABES. 2002

CDC - *Center for Disease Control and Prevention*, informações disponíveis no link <http://www.cdc.gov/noes> acessadas em 07/ jun/ 2013

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Relatório de Qualidade das Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo 2001-2003. Série Relatórios CETESB – São Paulo: 106. 2004

CETESB - Norma Técnica L5.227. 2001

CETESB, (1989), *Microbiologia de Lodos Ativados*. São Paulo, 23p. COLETTI, F.J., (1997), Pós tratamento por lodos ativados de efluentes de um reator anaeróbio compartimentado no tratamento de esgostos sanitários. Dissertação (mestrado) – São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, USP. 1997

CHANGA, H.; HUA, J.; ASAMIB, M; KUNIKANEB, S., *Simultaneous analysis of 16 sulfonamide and trimethoprim antibiotics in environmental waters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 1190: 390–393. 2008

DEBSKA, J., KOT-WASIK, A., NAMIESNIK, J., *Fate and Analysis of Pharmaceutical Residues in the Aquatic Environment*. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, Volume 34, Issue 1: 51-67. 2004

DICK, R. I., VESILIND, P. A. *The Sludge Volume Index - What is it?* Journal WPCF, Julho. 1969

FARRÉ, M.; FERRER, I.; GINEBREDA, A.; FIGUERAS, M.; OLIVELLA, L.; TIRAPU, L.; VILANOVA, M.; BRACELO, D., *Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with Vibrio fischeri*, Journal of Chromatography A, 938: 187–197. 2001

FERRARI, B., MONS, R., VOLLAT, B., FRAYSSE, B., PAXEAUS, N., GIUDICE, R., POLLIO, A., GARRIC, J., *Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: Are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment?*. Environmental Toxicology and Chemistry, Volume 23, Issue 5: 1344–1354. 2004

FJELDE, S.; pp. 285-88 in *Residues Vet Drugs Food Proc Euroside Conf*. Haagmsa N et al, eds. Utrecht, Netherlands. 1993

FRANKE, C., STUDINGER, G., BERGER, G., BOHLING, E., BRUCKMANN, U., COHORS-FRESENBORG, D., JÖHNCKE, U., *The assessment of bioaccumulation*. Chemosphere 29, Issue 7: 1501–1514. 1994

GÓMEZA, M.J.; MARTINEZ, M.J.B.; LACORTEB, B.; FERNANDEZ-ALBAA, A.R; AGÜERAA, A., *Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast*. Chemosphere Volume 66, Issue 6: 993-1002. 2007

GOODMAN e GILMAN. *As bases farmacológicas da terapêutica*. [tradução da 10ª ed. original, Carla de Melo Vorsatz. et AL. Rio de Janeiro: McGraw-Hill. 2005

HALLING-SORENSEN, B., NORS NIELSEN, S., LANZKY, P.F., INGERSLEV, F., HOLTEN LÜTZHOFT, H.C., JORGENSEN, S.E., *Occurrence, fate and effects of*

pharmaceutical substances in the environment--a review. Chemosphere. Issue 36:357-93. 1998

HANSCH C. et al; *Exploring QSAR. Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants*. ACS Prof Ref Book. Heller SR, consult. ed., Washington, DC: Amer Chem Soc, 124. 1995

Hearst Magazines UK, informações disponíveis no link <http://www.netdoctor.co.uk/infections/medicines/sulfadiazine.html>, acessadas em 01/fev/2012

HEKTOEN, H., BERGE, J.A., HORMAZABAL, V., YNDESLAD, M., *Persistence of antibacterial agents in marine sediments*. Aquaculture 133: 175-84. 1995

HIRSCH, R., TERNES, T., HABERER, K., KRATZ, K.L., *Occurrence of antibiotics in the aquatic environment*. Science of the Total Environment, Volume 225, Issues 1 – 2: 109-118. 1999

HOMEMA, V.; SANTOS, L., *Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review*. Journal of Environmental Management. Volume 92, Issue 10: 2304–2347. 2011

INGERSLEV, F., HALLING-SORENSEN, B., *Biodegradability properties of sulfonamides in activated sludge*. Environmental Toxicology and Chemistry, Volume 19, Issue 10: 2467–2473. 2000

INGERSLEV, F.; TORÄNGB, L.; LOKEA, M.L; HALLING-SORENSEN, B.; NYHOLMB, N., *Primary biodegradation of veterinary antibiotics in aerobic and anaerobic surface water simulation systems*. Chemosphere: Volume 44, Issue 4: 865-872. 2001

JENKINS, D., RICHARD, M., DAIGGER, G., *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming*. Water Research Commission. South Africa. 1986

JENNINGS, V.L.K.; BRANDES, M.H.R.; BIRD, D.J., *Assessing Chemical Toxicity with the bioluminescent photobacterium (Vibrio fischeri): a comparison of three commercial systems*, Elsevier Science. 2001

JOHNSON, B.T., *Microtox® Acute Toxicity Teste*, Environmental Microbiology, Columbia Environmental Research Center, U. S. Geological Survey. 2005

JORDÃO, E.P, SANTOS, V.M.M, CONCEIÇÃO, J.R., SOBRINHO, P.A., Determinação do índice volumétrico de lodo numa concentração padrão. ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental I -115. 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. 1997

JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A., *Tratamento de Esgotos Sanitários*, 3ed, Rio de Janeiro: ABES. 1995

KAISER, K.L.E., *Correlations of Vibrio fischeri bacteria test data with bioassay data for other organisms*. Environmental Health Perspective. Supp., v.106, n.S2. 1998

KUMMERER, KLAUS, *Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I*. Department of Environmental Health Sciences, University Medical Center Freiburg, Breisacher Strasse, Germany. 2009

KNIE, J.L.W.; LOPES, E.W.B., *Teste com fotobactéria. Inibição da luminescência de Vibrio fischeri* in: *Testes ecotoxicológicos métodos técnicas e aplicações*, Florianópolis: FATMA/GAZ. ed. 1. Cap. 5: 179-221. 2004

KOLPIN, D.W., FURLONG, E., MEYER, M., THUMAN, E.M., ZAUGG, S., BARBER, L., BUXTON, H., *Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams: A National*. Environ. Sci. Technol. 2002, 36: 1202-1211. 1999-2000

KOLPIN, D.W., SKOPEC, M., MEYER, M.T., FURLONG, E.T., ZAUGG, S.D., *Urban contribution of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants to streams during differing flow conditions*. Science of the Total Environment 328: 119–130. 2004

LAM, M.W., YOUNG, C.J., BRAIN, R.A., JOHNSON, D.J., HANSON, M.A., WILSON, C.J., RICHARDS, S.M., SOLOMON, K.R., MABURY, S.A., *Aquatic persistence of eight pharmaceuticals in a microcosm study*. Environmental Toxicology and Chemistry: 1431–1440. 2004

LEE, S., KOOPMAN, B., BODE, H., JENKINS, D., *Evaluation of Alternative Sludge Settleability Indices*. Water Research. Volume 17. 1983

LÉO, V.F.; CAMPOS, D.F.; DABUS, D.M.M.I; LIMA, G.S.; TRENTIN, T.C.; NEGRI, D.; PEREIRA, D.M., Farmacocinética e Farmacodinâmica da associação das sulfas e trimetropim. REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA – ISSN: 1679-7353. Ano VII – Número 12. 2009

LOURENÇO, R.A.; SAVAZZI, E.A.; OLIVEIRA, D.P., Avaliação da eficiência do tratamento de efluentes industriais utilizando o teste toxicidade com bactérias luminescentes, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP. 2004

MADONI, P., *A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants, based on the microfauna analysis*, Water Research, V.38, n.1: 67-75. 1994

MCKINNEY, R.E., *Microbiology for Sanitary Engineers*, McGraw-Hill, New York, 1962.
METCALF e EDDY, *Wastewater engineering treatment disposal and reuse*, 3ed. New York: McGraw – Hill. 1991

MEYLAN, W.M., HOWARD, P.H., BOETHLING, R.S., ARONSON, D., PRINTUP, H., GOUCHIE, S., *Improved method for estimating bioconcentration/bioaccumulation factor from octanol/water partition coefficient*. Environmental Toxicology and Chemistry Volume 18, Issue 4: 664–672. 1999

MEYLAN, W.M., HOWARD, P.H., *Bond contribution method for estimating henry's law constants*. Environmental Toxicology and Chemistry Volume 10, Issue 10: 1283–1293. 1991

MIAO, X.S., BISHAY, F., CHEN, M., Metcalfe CD. 2004. *Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada*. Environ. Sci. Technol. 38: 3533–354. 2004

MOHLMAN, M. L., *The Sludge Index*. Sew. Works J., 6(1):119. 1934.

MOREL, M.B.C.B.; ZAGOTO, P.A., Sistema de qualidade laboratorial de ensaios toxicológicos in: Ecotoxicologia aquática princípios e aplicações, São Carlos: Rima, ed.1, cap. 9: 199-220. 2006

OECD *Test No. 301: Ready Biodegradability*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3. 1992 - OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264070349-en

OECD *Test No. 303: Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment -- A: Activated Sludge Units; B: Biofilms*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3. 2001 - OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264070424-en

OECD *Test No. 310: Ready Biodegradability - CO₂ in sealed vessels (Headspace Test)*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3. 2006 - OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264016316-en

OECD Test No. 209: *Activated Sludge, Respiration Inhibition Test (Carbon and Ammonium Oxidation)*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. 2010 - OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264070080-en

PARVEZ, S.; VENKATARAMAN, C.; MUKHERJI, S., *A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (Vibrio fischeri) for acute toxicity prediction of chemicals*, Environment International 32: 265 – 268. 2006

PERRIN, D.D., *Dissociation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution*. London, UK: Butterworth. 1965

REINTHALER, F.F.; POSCH, J.; FEIERL, G.; WÜST, G.; HAAS, D.; RUCKENBAUER, G.; MASCHER, F.; MARTH, E., *Antibiotic resistance of E. coli in sewage and sludge*. Elsevier - Water Research Volume 37, Issue 8: 1685–1690. 2003

RICHARDSON M.L., BOWRON J.M., *The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment — a review*. J Pharm Pharmacol 37:1–12. 1985

SANTOS, A.S., *Comportamento do reator seqüencial em batelada (RSB) sob estado estacionário dinâmico utilizando a idade do lodo como parâmetro de controle operacional*. 206 p. Tese (Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental). Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2005

SANTOS, A.V.; CYBIS, L.F.A.; GEHLING, G.R. *Balanço de massa no reator seqüencial em batelada (RSB) sob diferentes idades de lodo*. In: 23° CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Campo Grande. Anais - ABES. 2005

SEADON, J.K., *Sustainable waste management systems*. Journal of Cleaner Production 18: 1639-1651. 2010 Disponível em [journal homepage: www.elsevier.com/locate/jclepro](http://www.elsevier.com/locate/jclepro) em 23/09/2011

SILVA, G.H.R., Reator compartimentado anaeróbio/aeróbio tratando esgoto sanitário: desempenho e operação, dissertação de mestrado apresentada a Comissão de Pós Graduação da Faculdade de Engenharia Civil da Unicamp, Campinas/SP. 2001

SILVA, P., *Farmacologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2006. Disponível em http://www.uft.edu.br/parasitologia/pt_BR/farmacos/ acessado em 04/jun/2012

SILVA, S. A.; MARA, D. D.. Tratamento biológicos de águas residuárias: lagoas de estabilização. Rio de Janeiro, ABES. 140p. 1979

SOUSA, M.G.; TALIERI I.C.; JORGE A.T.B.; COSTA M.T., Reação farmacodérmica decorrente do uso do levamisol: relato de caso. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.57, supl. 2: 154-157. 2005

STACKELBERG, P.E., FURLONG, E.T., MEYER, M.T., ZAUGG, S.D., HENDERSON, A.K., REISSMAN, D.B., *Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant*. Science of the Total Environment 329: 99–113. 2004

STAN, H. J., HEBERER, K., *Pharmaceuticals in the Aquatic Environment*, in Suter, M. J. F. ed., Dossier Water Analysis. Analisis, 25: 20-23. 1997

TERNES, T. A., *Pharmaceuticals in surface waters*. Wasser e Boden 53: 9-14. 2001

TCHOBANOGLIOUS, G. e SCHROEDER, E.D., *Water Quality: Characteristics, Modeling, Modification*, Addison-Wesley Publishing Co, Estados Unidos, 1985

Toxicology Data Network - United States National Library of Medicine, informações disponíveis no link <http://toxnet.nlm.nih.gov/>, acessadas em 01/fev/2012

UMBUZEIRO, G.A.; RODRIGUES, P.F., O teste de toxicidade com bactérias luminescentes e o controle da poluição. *Ambiente técnico*, v.7: 1-5. 2004

United States Pharmacopeial Convention, Inc. (USP), aprovado pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América (FDA) - Guia de fármacos e seus processos, informações disponíveis no link <http://uspnf.com>, acessadas em 01/fev/2012

VON SPERLING, M., Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Volume 1 – Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgoto, 2 edição. 1996a

VON SPERLING, M., Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Volume 2 – Princípios básicos do tratamento de esgotos, 1 edição. 1996b

VON SPERLING, M., Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Volume 3 – Lodos Ativados, 2 edição. 1997

WANNER, J., *Activated Sludge Bulking and Foaming Control*. Technomic Publishing. 1994

WEF. *Activated Sludge* . FD-9. 1987

WEF. *Operation of Municipal Wastewater Treatment Plants*. MOP-11. 1990

WON-JIN, S., JI-WOO, L., EUNG-SUN, L., SUN-KYOUNG, S., SEUNG-RYUL, H., JEONG-EUN, O., *Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures*. *Chemosphere* 82: 179–186. 2010