

VANESSA RIANI OLMÍ SILVA

**EFEITO DE ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EM SUINOCULTURA
SOBRE A DIGESTÃO ANAERÓBIA DE EFLUENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586d
2007

Silva, Vanessa Riani Olmi, 1975-
Efeito de antibióticos utilizados em suinocultura
sobre a digestão anaeróbia de efluentes / Vanessa Riani
Olmi Silva – Viçosa, MG, 2007.
xviii, 99f. : il. ; 29cm.

Orientador: Ismael Maciel de Mancilha.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de
Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 84-92.

1. Águas residuais - Purificação. 2. Digestão anaeróbia.
3. Microorganismos - Efeito dos antibióticos. 4. Resíduos
de animais - Reaproveitamento. I. Universidade Federal
de Viçosa. II. Título.

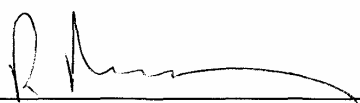
CDD 22.ed. 628.362

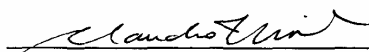
VANESSA RIANI OLMÍ SILVA

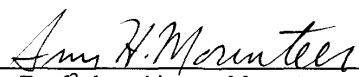
**EFEITO DE ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EM SUINOCULTURA
SOBRE A DIGESTÃO ANAERÓBIA DE EFLUENTES**

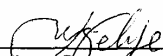
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

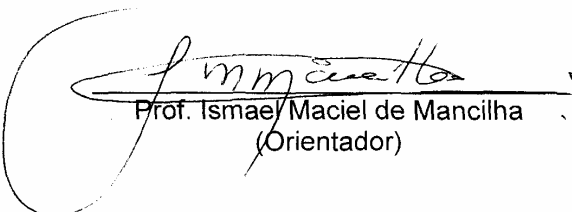
APROVADA: 22 de janeiro de 2007.


Prof. Frederico José Vieira Passos
(Co-Orientador)


Prof. Cláudio Mudado Silva
(Co-Orientador)


Profª Ann Honor Mounteer


Profª Maria das Graças de A. Felipe


Prof. Ismael Maciel de Mancilha
(Orientador)

Deus.

Aos meus pais, Alexandre e Joselina.

Ao meu marido, Maurício.

Às minhas irmãs, Alessandra e Cristina.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Tecnologia de Alimentos e ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Pomba, Setor de Agroindústria, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro.

Ao proprietário da granja de suínos do abatedouro Novo Suíno, professor Geraldo Martins Chaves, pela acolhida.

Aos *mestres* Ismael Maciel de Mancilha e Frederico José Vieira Passos, pela orientação, pela amizade e pelo apoio, neste e em vários momentos da minha vida acadêmica.

Ao professor Cláudio Mudado Silva, pelos ensinamentos, pelos conselhos e pelas sugestões.

À professora Ann Honor Munteer, pela amizade e pelas sugestões.

À professora Maria das Graças de Almeida Felipe, pelas valiosas contribuições.

Ao professor Carlos Henrique Osório Silva, pelo auxílio nas análises estatísticas e pelas sugestões.

Ao meu marido, Maurício, pela presença constante, pela compreensão e pela contribuição indispensável para a realização deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia e Processos Fermentativos do DTA/UFV, especialmente à Aline, Oswaldo, Alcinéia, Liliane e Tatiana, pelo auxílio, pelo carinho e pela amizade.

À minha ex-estagiária, ex-aluna e sempre amiga Vera, pela dedicação constante e pelo auxílio indispensável.

A todos os meus alunos e ex-alunos, em especial a Cleuber, Andrew, Daiany, Juliene e Thaiana, pela compreensão e pelo auxílio.

Aos amigos do Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Pomba, em especial Bruno, Roselir, Cristina, Mário, Fátima, Elisete, Roscelino, pela compreensão, pela amizade e pelo incentivo.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos.

Aos funcionários da granja de suínos do abatedouro Novo Suíno, pela acolhida e pelo auxílio na coleta das amostras.

Aos funcionários do Laboratório do Setor de Agroindústria do CEFET-RP, Rosélio e Marcélio, pela compreensão e pela amizade.

À minha família, em especial aos meus pais, às minhas irmãs e aos meus sogros, pelo carinho e pelo incentivo durante todas as etapas de minha vida.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o êxito deste trabalho.

BIOGRAFIA

VANESSA RIANI OLMI, filha de Alexandre Peixoto Olmi e Joselina Riani Olmi, nasceu no Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, em 16 de abril de 1975.

Em janeiro de 2000, graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em fevereiro de 2002, concluiu o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em nível de Mestrado, pela Universidade Federal de Viçosa.

Em abril de 2002, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em nível de Doutorado, pela Universidade Federal de Viçosa.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Impactos da geração de resíduos sobre a qualidade das águas.....	4
2.2. Suinocultura x meio ambiente	5
2.3. Classificação do tratamento de efluentes	6
2.4. Tratamento biológico de efluentes	7
2.4.1. Sistemas anaeróbicos de tratamento	8
2.4.1.1. Sistemas de tratamento anaeróbico de alta taxa	9
2.4.1.2. Parâmetros de controle operacional de um reator anaeróbico.....	12
2.4.1.3. Microbiologia da digestão anaeróbica.....	15
2.4.1.4. Métodos para a análise da diversidade microbiana	18
2.4.1.5. Fatores que afetam a digestão anaeróbica.....	21

	Página
2.5. Antibióticos	23
2.5.1. Mecanismos de ação e classificação dos antibióticos	23
2.5.2. Importância do emprego dos antibióticos em suinocultura ..	24
2.5.3. Alternativas disponíveis para substituição dos antibióticos ..	26
2.5.4. Características dos antibióticos avaliados no presente trabalho	30
2.5.5. Efeito de antibióticos sobre a digestão anaeróbica	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1. Procedimentos preliminares	35
3.1.1. Avaliação do efluente natural e meio sintético em reator UASB	35
3.1.2. Preparo e adaptação do inóculo	38
3.1.3. Reatores	39
3.1.4. Determinação da relação A/M	40
3.2. Avaliação do efeito inibitório dos antibióticos	41
3.2.1. Efeito individual	41
3.2.2. Efeito combinado	42
3.3. Métodos analíticos	42
3.4. Ajuste do modelo cinético e análise estatística	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1. Procedimentos preliminares	46
4.1.1. Avaliação do tratamento do efluente natural e meio sintético em reator UASB	46
4.1.2. Caracterização do inóculo	49
4.1.3. Determinação da concentração inicial do lodo	50
4.2. Avaliação do efeito inibitório dos antibióticos sobre a digestão anaeróbica	53
4.2.1. Avaliação do efeito inibitório individual dos antibióticos	53
4.2.1.1. Amoxicilina	53
4.2.1.2. Enrofloxacina	56
4.2.1.3. Gentamicina	58
4.2.1.4. Oxitetraciclina	61
4.2.1.5. Tilosina	63

	Página
4.2.2. Avaliação do efeito combinado dos antibióticos sobre a digestão anaeróbica.....	66
4.2.2.1. Avaliação do efeito da combinação de todos os antibióticos	66
4.2.2.2. Avaliação do efeito dos antibióticos combinados quatro a quatro	69
4.2.2.3. Avaliação do efeito dos antibióticos combinados três a três	71
4.2.2.4. Avaliação do efeito dos antibióticos combinados dois a dois	76
5. CONCLUSÕES	81
6. SUGESTÕES	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
APÊNDICE.....	93

LISTA DE QUADROS

		Página
1	Principais vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios	9
2	Classificação de antibióticos em relação à atividade sobre diferentes microrganismos	24
3	Composição do meio sintético	36
4	Quantidade de efluente gerado e coletado nos setores da granja	38
5	Carga biológica aplicada em cada reator UASB	39
6	Volumes de lodo e meio sintético adicionados ao reator para obtenção da relação A/M correspondente	40
7	Antibióticos utilizados no experimento	41
8	Concentração de cada antibiótico utilizada nas diferentes combinações	43
9	Características dos efluentes	47
10	Parâmetros operacionais e características dos efluentes após o tratamento	49

		Página
11	Características do lodo anaeróbio utilizado nos experimentos.....	50
12	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de amoxicilina	54
13	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de enrofloxacina.....	57
14	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de gentamicina.....	59
15	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de oxitetraciclina	62
16	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de tilosina	66
17	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios contendo combinações dos cinco antibióticos	68
18	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios contendo os cinco antibióticos combinados quatro a quatro.....	70
19	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios contendo os cinco antibióticos combinados três a três	74
20	Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica para os meios contendo os cinco antibióticos combinados dois a dois.....	78
1A	Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de amoxicilina	94
2A	Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de enrofloxacina.....	94
3A	Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de gentamicina.....	95
4A	Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de oxitetraciclina	95

	Página
5A Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de tilosina.....	96
6A Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações de todos os antibióticos avaliados.....	96
7A Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações dois a dois de todos os antibióticos avaliados	97
8A Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações três a três de todos os antibióticos avaliados.	98
9A Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações quatro a quatro de todos os antibióticos avaliados.....	99

LISTA DE FIGURAS

		Página
1	Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB	11
2	Seqüências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 1997).....	16
3	Estrutura do antibiótico amoxicilina	30
4	Estrutura do antibiótico enrofloxacin	31
5	Estrutura do antibiótico gentamicina	32
6	Estrutura do antibiótico oxitetraciclina.....	33
7	Estrutura do antibiótico tilosina	33
8	Representação esquemática (a) e fotográfica (b) dos reatores UASB utilizados	37
9	Representação esquemática (a) e fotográfica (b) dos reatores empregados	40
10	Variação da eficiência de remoção de DQO. A) carga biológica de 0,2 Kg DQO.Kg STV ⁻¹ .d ⁻¹ ; e B) carga biológica de 0,4 Kg DQO.Kg STV ⁻¹ .d ⁻¹	48

	Página
11 Variação da eficiência de remoção de DQO para diferentes relações A/M (sp = sem purga)	51
12 Variação de pH para diferentes relações A/M (sp = sem purga).....	52
13 Eficiência de remoção de DQO nos meios contendo diferentes concentrações de amoxicilina.....	53
14 Variação do pH nos meios contendo diferentes concentrações de amoxicilina	55
15 Eficiência de remoção de DQO nos meios contendo diferentes concentrações de enrofloxacina	56
16 Variação do pH nos meios contendo diferentes concentrações de enrofloxacina.....	58
17 Eficiência de remoção de DQO nos meios contendo diferentes concentrações de gentamicina	59
18 Variação do pH nos meios contendo diferentes concentrações de gentamicina.....	60
19 Eficiência de remoção de DQO nos meios contendo diferentes concentrações de oxitetraciclina.....	61
20 Variação do pH nos meios contendo diferentes concentrações de oxitetraciclina	63
21 Eficiência de remoção de DQO nos meios contendo diferentes concentrações de tilosina	64
22 Variação do pH nos meios contendo diferentes concentrações de tilosina.....	66
23 Avaliação da remoção de DQO nos meios contendo diferentes combinações dos cinco antibióticos testados. X = concentrações de 31,3, 25,0, 7,5, 25,0 e 11,0 mg.L ⁻¹ de amoxicilina, enrofloxacina, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, respectivamente	67
24 Variação do pH nos meios contendo diferentes combinações dos cinco antibióticos testados. X = concentrações de 31,3, 25,0, 7,5, 25,0 e 11,0 mg.L ⁻¹ de amoxicilina, enrofloxacina, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, respectivamente	69

25	Avaliação da remoção de DQO nos meios contendo diferentes combinações quatro a quatro dos antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L ⁻¹ ; E = enrofloxacin 25,0 mg.L ⁻¹ ; G = gentamicina 7,5 mg.L ⁻¹ ; O = oxitetraciclina 25,0 mg.L ⁻¹ ; e T = tilosina 11,0 mg.L ⁻¹	70
26	Variação do pH nos meios contendo diferentes combinações quatro a quatro dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L ⁻¹ ; E = enrofloxacin 25,0 mg.L ⁻¹ ; G = gentamicina 7,5 mg.L ⁻¹ ; O = oxitetraciclina 25,0 mg.L ⁻¹ ; e T = tilosina 11,0 mg.L ⁻¹	72
27	Avaliação da remoção de DQO nos meios contendo diferentes combinações três a três dos antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L ⁻¹ ; E = enrofloxacin 25,0 mg.L ⁻¹ ; G = gentamicina 7,5 mg.L ⁻¹ ; O = oxitetraciclina 25,0 mg.L ⁻¹ ; e T = tilosina 11,0 mg.L ⁻¹	73
28	Variação de pH nos meios contendo diferentes combinações três a três dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L ⁻¹ ; E = enrofloxacin 25,0 mg.L ⁻¹ ; G = gentamicina 7,5 mg.L ⁻¹ ; O = oxitetraciclina 25,0 mg.L ⁻¹ ; e T = tilosina 11,0 mg.L ⁻¹	75
29	Avaliação da remoção de DQO nos meios contendo diferentes combinações dois a dois dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L ⁻¹ ; E = enrofloxacin 25,0 mg.L ⁻¹ ; G = gentamicina 7,5 mg.L ⁻¹ ; O = oxitetraciclina 25,0 mg.L ⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L ⁻¹	77
30	Variação do pH nos meios contendo diferentes combinações dois a dois dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L ⁻¹ ; E = enrofloxacin 25,0 mg.L ⁻¹ ; G = gentamicina 7,5 mg.L ⁻¹ ; O = oxitetraciclina 25,0 mg.L ⁻¹ ; e T = tilosina 11,0 mg.L ⁻¹	79

RESUMO

SILVA, Vanessa Riani Olmi, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2007. **Efeito de antibióticos utilizados em suinocultura sobre a digestão anaeróbia de efluentes.** Orientador: Ismael Maciel de Mancilha. Co-orientadores: Frederico José Vieira Passos e Cláudio Mudado Silva.

Os sistemas anaeróbios de tratamento de resíduos são viáveis, por diversos fatores, como o baixo custo e o aproveitamento energético do biogás gerado. Porém, o processo de digestão anaeróbia ainda não está totalmente esclarecido, principalmente devido ao desconhecimento sobre a toxicidade apresentada pela microbiota anaeróbia presente no lodo em relação a diversos compostos. Para o caso de efluentes oriundos de suinoculturas, os principais compostos que podem provocar a inibição desses microrganismos são os antibióticos, amplamente utilizados, tanto para fins terapêuticos e profiláticos, quanto como promotores de crescimento. Neste estudo, avaliou-se o efeito de alguns antibióticos, normalmente empregados em suinocultura, sobre a microbiota responsável pelo processo de digestão anaeróbia de efluentes, cujo experimento foi dividido em três etapas. Na primeira etapa, foi avaliada a possibilidade de utilização de um meio sintético em substituição ao efluente natural de suinocultura, a fim de evitar o efeito dos antibióticos possivelmente

presentes, como também as variações normalmente observadas nesse tipo de efluente. Os dois meios foram comparados quanto ao comportamento e à estabilidade ao serem tratados em reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (reatores UASB), empregando-se dois níveis de cargas biológicas para cada meio (0,2 e 0,4 kg DQO.kg STV⁻¹.d⁻¹). Os resultados mostraram que os reatores com meio sintético apresentaram comportamentos similares aos que continham efluente natural, tanto em relação à eficiência de remoção de matéria orgânica, quanto à estabilidade do sistema, o que apontou para a possibilidade de sua utilização como modelo em experimentos de avaliação de sistemas de tratamento de efluentes de suinocultura. Em uma segunda etapa, avaliou-se o efeito individual dos antibióticos sobre a digestão anaeróbia do meio sintético. Para isso, foram utilizados cinco antibióticos, amoxicilina, enrofloxacin, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, em quatro concentrações cada. Verificou-se que, nas concentrações normalmente encontradas em efluentes de suinocultura, apenas amoxicilina e tilosina apresentaram efeito inibitório. Na terceira e última etapa, foi avaliado o efeito combinado desses antibióticos, testando-se todas as possíveis combinações entre os cinco antibióticos. Observou-se que a combinação de todos os antibióticos e as diversas combinações destes compostos associados quatro a quatro e três a três apresentaram efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia. Para a combinação dois a dois, apenas a associação de amoxicilina e gentamicina não apresentou efeito inibitório.

ABSTRACT

SILVA, Vanessa Riani Olmi, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2007. **Effect of antibiotics utilized in swine culture on the anaerobic digestion of effluents.** Adviser: Ismael Maciel de Mancilha. Co-advisers: Frederico José Vieira Passos and Cláudio Mudado Silva.

The anaerobic systems for wastewater treatment are viable for several reasons, such as low cost and energy use of the biogas generated. However, the anaerobic digestion process is not yet completely understood, mainly due to the lack of knowledge about the toxicity of the anaerobic microbiota present in the sludge with respect to several compounds. In the case of effluents originated from swine manure, antibiotics, widely used both for therapeutic and prophylactic purposes and as growth promoters, are the major compounds that may inhibit these microorganisms. This study aimed to evaluate the effect of some antibiotics normally used in swine culture, on the microbiota responsible for the process of anaerobic digestion of effluents. The experiment was divided into three stages. In the first stage, the possibility of using a synthetic medium as a substitute for the natural swine manure effluent was evaluated in order to prevent the effect of antibiotics likely present as well as to prevent variations normally observed in this type of effluent. The two media were compared as to their behavior and stability under up flow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) treatment by

applying two levels of biological loads for each medium (0.2 and 0.4 kg COD.kg SVT⁻¹.d⁻¹). The results showed that the reactors containing synthetic medium presented a behavior similar to that of those containing natural effluent both in organic matter removal efficiency and system stability, pointing to the possibility of their use as models in experiments evaluating swine manure effluent treatment systems. In the second stage, the individual effect of antibiotics on anaerobic digestion in the synthetic medium was evaluated. Thus, five antibiotics, amoxicillin, enrofloxacin, gentamicin, oxytetracycline and tylosin, were used at four concentrations each. It was verified that at concentrations normally found in swine manure effluents, only amoxicillin and tilosine had an inhibitory effect. In the third and last stage, the combined effect of these antibiotics was evaluated, by testing all the possible combinations using the five antibiotics. It was observed that the combination of all the antibiotics and the several combinations of these compounds associated four by four and three by three had an inhibitory effect on anaerobic digestion. For the two by two combination, only the amoxicillin and gentamicin association failed to present an inhibitory effect.

1. INTRODUÇÃO

Quando um poluente orgânico é lançado no meio ambiente, sem prévio tratamento, pode gerar vários danos à saúde pública e ao meio ambiente. Dentre os principais sistemas de tratamento desses poluentes destacam-se os que utilizam processos biológicos, que dependem da ação de microrganismos, promovendo tratamento adequado com custo relativamente baixo.

Os sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes são viáveis principalmente em países tropicais, como o Brasil. O emprego de sistemas anaeróbios de alta taxa permite tempos de retenção celular elevados e baixos tempos de detenção hidráulica.

Esses sistemas possuem várias vantagens, como baixo custo de implantação e operação, geração de energia por meio da produção de metano, baixa geração de lodo, que ainda pode ser utilizado como fertilizante, e baixo requerimento de área, o que os tornam mais atrativos para as indústrias de pequeno porte, quando comparados aos sistemas aeróbios de tratamento.

Os efluentes de empreendimentos agropecuários, em sua maioria, são suscetíveis ao tratamento biológico devido à sua alta concentração de matéria orgânica biodegradável.

A suinocultura intensiva é reconhecida como uma atividade de grande potencial poluidor, pelo elevado volume de dejetos gerados diariamente e por suas próprias características, possuindo elevada concentração de matéria orgânica.

Vários compostos que apresentam efeito antimicrobiano são empregados na suinocultura com objetivo terapêutico ou profilático, na tentativa de eliminar ou evitar a manifestação clínica de determinadas infecções. Além disso, muitos são empregados como promotores de crescimento, para aumentar a produtividade. A utilização das drogas pode controlar temporariamente surtos de doenças, evitar condenações de carcaças ou melhorar o ganho de peso dos animais.

A adoção do uso de antibióticos na ração de forma indiscriminada constitui um erro grave, pois pode causar vários problemas, como presença de resíduos nas carcaças, aparecimento de microrganismos resistentes e danos ao meio ambiente.

Minas Gerais alcançou um dos maiores avanços na suinocultura intensiva em nível nacional nos últimos tempos, destacando-se a Zona da Mata mineira. A legislação ambiental tem forçado os suinocultores a buscar alternativas de tratamento dos dejetos, que na maioria das vezes recai sobre as lagoas de estabilização. Apesar de a utilização dessas lagoas apresentar diversas vantagens, alguns fatores são limitantes, como a elevada demanda de área, o que assume particular importância na região, em face do seu relevo acidentado e montanhoso.

Soluções mais compactas, e ainda sim bastante econômicas, como os processos anaeróbios de alta taxa, têm sido pouco estudadas em sua aplicação para o tratamento de dejetos de suínos. Além disso, o efeito de antibióticos, normalmente utilizados em suinocultura, sobre a microbiota responsável pela digestão anaeróbia dos dejetos também tem sido pouco estudado.

Dessa forma, tendo em vista a importância da atividade de suinocultura na região da Zona da Mata mineira, a necessidade e dificuldade que os suinocultores encontram em atender à legislação ambiental vigente e a aplicabilidade de sistemas anaeróbios para o tratamento de efluentes

agroindustriais, o objetivo deste trabalho foi contribuir na busca de soluções de tratamento que atendam às necessidades de suinoculturas de pequeno e médio porte. Desta forma, avaliou-se a ação individual e combinada de antibióticos, normalmente empregados em suinocultura, sobre a digestão anaeróbia em regime de batelada em meio sintético, que simulou a composição do efluente de suinocultura.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Impactos da geração de resíduos sobre a qualidade das águas

O crescimento populacional e o industrial fazem com que a geração de resíduos poluidores seja cada vez maior. Esses resíduos geralmente são portadores de altas cargas de nutrientes orgânicos e minerais e, algumas vezes, de substâncias tóxicas. O veículo natural de escoamento dessas impurezas é a água dos rios e das represas, que poderá ter suas características naturais modificadas (BRANCO e ROCHA, 1977).

Entende-se por poluição da água a alteração de suas características por quaisquer ações ou interferências, sejam elas naturais ou provocadas pelo homem, que podem provocar impactos estéticos, fisiológicos ou ecológicos (BRAGA *et al.*, 2005).

A introdução de matéria orgânica em um corpo d'água resulta no consumo de oxigênio dissolvido, devido aos processos de estabilização da matéria orgânica realizados pelos microrganismos decompositores, que utilizam o oxigênio disponível no meio líquido para a respiração. O decréscimo da concentração de oxigênio dissolvido tem diversas implicações do ponto de vista ambiental, por exemplo a destruição do ecossistema aquático, constituindo-se em um dos principais problemas de poluição das águas (BRAGA *et al.*, 2005; von SPERLING, 2005).

A incorporação excessiva de nutrientes como nitrogênio e fósforo pode conduzir ao fenômeno de eutrofização, crescimento excessivo das plantas aquáticas, o que inabilita os usos desejáveis do corpo d'água (von SPERLING, 2005).

O setor agroindustrial é um dos maiores geradores de resíduos. A principal característica que difere os efluentes da agroindústria de outros é o fato de possuírem elevadas concentrações de matéria orgânica biodegradável, que os tornam suscetíveis ao tratamento biológico. Além disso, geralmente não apresentam toxicidade ao meio ou aos microrganismos envolvidos no tratamento. A vazão desses efluentes depende do tipo e porte da indústria, do processo, da reciclagem, da existência de pré-tratamento etc. (MORAES e PAULA JÚNIOR, 2004; von SPERLING, 2005).

2.2. Suinocultura x meio ambiente

Segundo Bohnenberger (2001), o avanço tecnológico alcançado pela suinocultura brasileira nos últimos anos, principalmente nos Estados do Sul, em São Paulo e Minas Gerais, caracterizou-se pela implantação de sistemas confinados e produção de grandes volumes de dejetos por unidade de área.

Os sistemas confinados de produção constituem a base da expansão da suinocultura, sendo onde se observam as maiores produtividades. De modo geral, esses sistemas apregoam a adoção do manejo de dejetos na forma líquida, propiciando condições para o seu lançamento no solo e nos cursos d'água (PERDOMO e LIMA, 1998). O volume de dejetos líquidos produzidos depende do manejo, do tipo de bebedouro e do sistema de higienização adotado, da frequência e do volume de água utilizado, bem como do número e da categoria de animais (OLIVEIRA *et al.*, 1993; PERDOMO e LIMA, 1998).

De acordo com Perdomo e Lima (1998), a composição físico-química dos dejetos de suínos está associada ao sistema de manejo adotado e aos aspectos nutricionais, apresentando grandes variações na concentração dos componentes, dependendo da diluição a que foram submetidos. Segundo

esses autores, a capacidade poluidora dos dejetos de suínos, em termos comparativos, é muito superior à de outras espécies: enquanto a DBO₅ *per capita* de suíno, com 85 kg de peso vivo, varia de 189 a 208 g/animal/dia, a humana é de apenas 45 a 75 g/habitantes/dia.

O manejo dos dejetos de suínos criados em confinamento tem constituído um sério problema operacional e ambiental. Quanto maior o porte da suinocultura, maior a preocupação com o potencial poluidor, sendo necessário o tratamento desses resíduos, reduzindo os impactos ambientais (MONTALVO, 1995; DUDA, 1997).

Dentre os sistemas de tratamento de efluentes de suinocultura utilizados atualmente, destacam-se as lagoas de estabilização, a disposição no solo e os reatores anaeróbios, sendo estes os sistemas mais compactos (OLMI, 2002).

O Conselho Estadual de Política Ambiental do Estado de Minas Gerais editou a Deliberação Normativa (Deliberação COPAM nº 34, de 23 de novembro de 1995), que estabelece normas para o licenciamento e controle da atividade de suinocultura. O processo de licenciamento e controle de atividade de suinocultura segue critérios gerais para proteção, conservação e melhoria do meio ambiente, fixados pela Lei Estadual nº 7.772, de 8 de setembro de 1980 (BARACHO JÚNIOR, 1995).

2.3. Classificação do tratamento de efluentes

O tratamento de efluentes é geralmente classificado por meio dos níveis: preliminar, primário, secundário (ou biológico) e terciário (von SPERLING, 2005):

O tratamento preliminar objetiva apenas a remoção de sólidos grosseiros e areia. Os mecanismos básicos de remoção são de ordem física, como peneiramento e sedimentação.

O tratamento primário destina-se à remoção de sólidos em suspensão sedimentáveis e flutuantes. Uma parte significativa dos sólidos em suspensão é formada pela matéria orgânica em suspensão. Assim, a sua remoção por processos simples, como a sedimentação, implica a redução da

carga orgânica do efluente dirigido ao tratamento secundário, o que reduz custos devido à possibilidade de se utilizar um sistema de tratamento secundário com menor volume e menores exigências operacionais. Essa etapa é fundamental ao tratamento de efluentes de suinocultura, devido à alta concentração de sólidos em suspensão, provenientes principalmente das fezes dos animais e de restos de rações.

O principal objetivo do tratamento secundário é a remoção da matéria orgânica dissolvida e coloidal. Nesta etapa os processos são concebidos, sob condições controladas, de forma a acelerar os mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente nos corpos receptores. Enquanto nos tratamentos anteriores predominam mecanismos de ordem física, nessa fase a remoção se dá por meio de reações bioquímicas, realizadas por microrganismos. O tratamento secundário é bastante adequado ao efluente de suinocultura devido à sua alta biodegradabilidade.

O tratamento terciário objetiva a remoção de poluentes específicos, como nutrientes, patógenos e substâncias tóxicas, ou a remoção complementar de poluentes que não são removidos no tratamento secundário. Geralmente, o efluente de suinocultura necessita desse tipo de tratamento, pois as concentrações de nutrientes e patógenos permanecem elevadas após o tratamento secundário, principalmente no caso de tratamento anaeróbio.

2.4. Tratamento biológico de efluentes

Os processos biológicos de tratamento de efluentes fundamentam-se na capacidade que os microrganismos apresentam de utilizar os compostos orgânicos biodegradáveis, transformando-os em substâncias que possam ser removidas do sistema de tratamento, como lodo biológico, água e gases. A aplicabilidade do processo pode ser avaliada pelo conhecimento de algumas características químicas do efluente. Seja o processo utilizado aeróbio ou anaeróbio, a capacidade de utilização dos compostos depende da atividade da biomassa presente no sistema de tratamento (CHERNICHARO, 1997).

Nos sistemas aeróbios de tratamento, cerca de 40 a 50% da matéria orgânica é convertida em CO₂. Ocorre incorporação de 50 a 60% da matéria orgânica na forma de biomassa, constituindo-se o lodo excedente do sistema. O material não-degradado totaliza 5 a 10% (CHERNICHARO, 1997). São considerados sistemas muito eficientes na remoção de matéria orgânica, nutrientes e patógenos, não havendo, geralmente, a necessidade de tratamento terciário (von SPERLING, 2005).

Nos sistemas anaeróbios, verifica-se que 70 a 90% do material orgânico biodegradável presente no efluente é convertido em biogás. Apenas 5 a 15% do material orgânico é convertido em biomassa microbiana, constituindo-se o lodo excedente do sistema. Além da pequena quantidade produzida, o lodo excedente apresenta-se mais concentrado e com melhores características de desidratação. O material não-degradado pelo sistema totaliza 10 a 30% (CHERNICHARO, 1997).

2.4.1. Sistemas anaeróbios de tratamento

Segundo Chernicharo (1997), em princípio todos os compostos orgânicos podem ser degradados anaerobicamente, porém o processo se mostra mais eficiente e econômico quando os dejetos são facilmente biodegradáveis.

De acordo com DI BERARDINO *et al.* (2000), se o efluente for concentrado, o processo anaeróbio pode competir favoravelmente com o processo aeróbio, contanto que este efluente esteja disponível à temperatura na região mesofílica e que seja caracterizado por alta biodegradabilidade.

O emprego da tecnologia anaeróbia tem crescido na América Latina, principalmente no Brasil, constituindo uma importante contribuição ao desenvolvimento desta tecnologia, o que se deve principalmente às condições climáticas favoráveis (BORZACCONI *et al.*, 1995).

A digestão anaeróbia tem sido bastante aplicada no tratamento de efluentes de indústrias agrícolas, alimentícias e de bebidas, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. É uma tecnologia bastante atrativa para o tratamento de efluentes de agroindústrias, em razão de seu

balanço de custo favorável, produção de energia, baixo requerimento operacional e sua capacidade de tratar efluentes produzidos sazonalmente (BELLO-MENDOZA e CASTILLO-RIVERA, 1998).

As principais vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios são apresentadas no Quadro 1. As diversas características favoráveis dos sistemas anaeróbios conferem-lhes grande potencial de aplicação. São também tecnologias simples e de baixo custo, com algumas vantagens quanto à operação e à sua manutenção (CHERNICHARO, 1997).

Quadro 1 – Principais vantagens e desvantagens dos processos anaeróbios

Vantagens	Desvantagens
- Baixa produção de sólidos (biomassa) - Baixo consumo de energia - Baixo custo operacional - Baixa demanda de área - Baixos custos de implantação - Aplicabilidade em qualquer escala - Produção de energia (metano) - Baixo consumo de nutrientes (aplicabilidade em lavouras)	- Possível inibição das bactérias anaeróbias por alguns compostos - A partida do processo é lenta - Necessidade de pós-tratamento (baixa remoção de nutrientes e patógenos) - A bioquímica e a microbiologia da digestão anaeróbia são complexas - Geração de maus odores - Aspecto desagradável do efluente

Fonte: Bitton (1994), Chernicharo (1997) e Seghezze *et al.* (1998).

O tratamento anaeróbio é uma tecnologia bem adaptada para ajudar a solucionar os problemas ambientais e sociais associados com efluentes de empreendimentos animais. Um sistema de tratamento anaeróbio pode ser facilmente integrado aos sistemas de manejo de resíduo líquido comumente usados nas modernas granjas (ZHANG, 1997; ANGENENT *et al.*, 2002).

2.4.1.1. Sistemas de tratamento anaeróbio de alta taxa

A denominação sistemas convencionais é utilizada para caracterizar os reatores que são operados com baixas cargas orgânicas volumétricas, uma vez que eles não dispõem de mecanismos de retenção de grandes quantidades de biomassa de elevada atividade. Não existe uma linha bem definida de separação, mas os principais aspectos dos sistemas

convencionais que os diferenciam dos de alta taxa são: ausência de mecanismos de retenção de sólidos no sistema, elevados tempos de detenção hidráulica e baixas cargas orgânicas volumétricas (CHERNICHARO, 1997).

O tempo de retenção celular é um parâmetro usado para indicar o tempo de residência de biomassa no reator. É necessário que seja elevado o suficiente para assegurar a presença de uma população suficiente de microrganismos (ZHANG, 1997).

Processos anaeróbios de alta taxa são viáveis ao tratamento de efluentes agroindustriais. Nesses processos, várias estratégias são usadas para separar o tempo de detenção hidráulica do tempo de retenção celular, permitindo que o tempo de detenção hidráulica seja muito reduzido enquanto a população microbiana é mantida (BEAL e RAMAN, 2000). Esses reatores são capazes de alcançar alto tempo de retenção celular e alta eficiência de degradação, a um alto fluxo volumétrico (NEBOT *et al.*, 1995).

Dentre os sistemas anaeróbios de alta taxa, os filtros anaeróbios e reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) (Figura 1) têm sido utilizados no Brasil para o tratamento de efluentes. Normalmente são operados em condições ambientais estressantes, com temperatura entre 15 e 30°C e variações nas características dos efluentes. Assim mesmo, a eficiência de remoção alcançada tem sido maior que 80% para cargas orgânicas volumétricas menores que 5 kg DQO.m⁻³.d⁻¹ (OLIVA *et al.*, 1995).

Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB)

O reator UASB foi desenvolvido na década de 1970, pelo professor Lettinga e sua equipe, na Universidade de Wageningen – Holanda. É o sistema anaeróbio de alta taxa mais utilizado na atualidade. Várias unidades em escala real estão implantadas em diferentes países, todas operando em regiões com clima tropical ou subtropical (van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

No reator UASB, o processo consiste essencialmente de um fluxo ascendente de esgotos através de um leito de lodo denso e de elevada

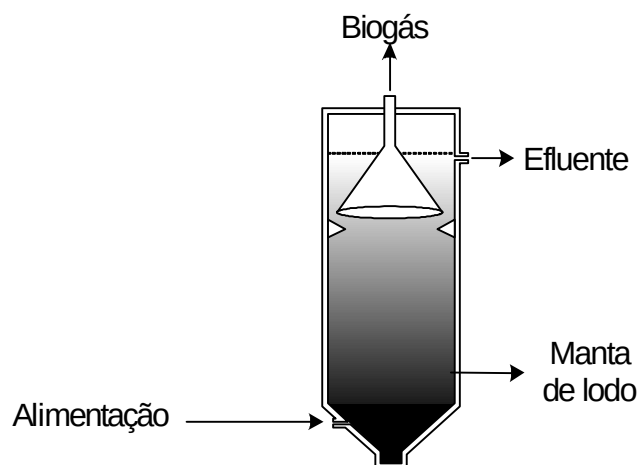


Figura 1 – Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB.

atividade. A estabilização da matéria orgânica ocorre na zona de reação, onde os microrganismos ficam retidos, sendo a mistura do sistema promovida pelo fluxo ascensional do efluente e pelas bolhas de gás geradas (SEGHEZZO *et al.*, 1998).

O dispositivo mais característico desse tipo de reator é o separador de fases, que o divide em duas partes: a parte inferior ou zona de digestão, onde ocorre a formação de uma manta de lodo responsável pela digestão anaeróbia, e a parte superior ou zona de sedimentação, onde as partículas que se desgarram da manta de lodo se sedimentam e retornam à zona de digestão, em vez de serem arrastadas para fora do sistema (van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Vários autores reportaram estudos nos quais o desempenho de reatores UASB para tratamento de efluentes de suinocultura (CINTOLI *et al.*, 1995; SÁNCHEZ *et al.*, 1995; JUNIOR *et al.*, 1999; OLMÍ, 2002; HUANG *et al.*, 2005; SÁNCHEZ *et al.*, 2005) e para outros tipos de efluentes de agroindústria foi avaliado (RUIZ *et al.*, 1997; MANJUNATH *et al.*, 2000; CAIXETA *et al.*, 2002; RAMOS, 2002).

O sucesso da operação de reatores UASB depende da formação de um lodo granular com alta capacidade de sedimentação, permitindo alto

tempo de retenção de biomassa (ARCAND *et al.*, 1994; FUKUZAKI *et al.*, 1995; SCHIMIDT e AHRING, 1996; O'FLAHERTY *et al.*, 1997; SINGH *et al.*, 1998; YU *et al.*, 2001).

A granulação resulta da agregação de vários microrganismos associados com a degradação dos compostos orgânicos. Nenhuma espécie desse micro-ecossistema isoladamente é capaz de degradar completamente esses compostos, devendo ser ressaltado que a degradação completa depende de uma sucessão de interações entre as espécies presentes no grânulo (SCHIMIDT e AHRING, 1994; LETTINGA, 1995; FUKUZAKI *et al.*, 1995; LIU e TAY, 2002; LIU *et al.*, 2003).

Segundo Bitton (1994), os grânulos são compostos por três camadas: a interna consiste de células de *Methanotrix*, que agem como núcleo necessário ao desenvolvimento do grânulo; a intermediária consiste de bactérias acetogênicas e organismos consumidores de H₂; e a externa consiste de cocos e microrganismos filamentosos, envolvendo organismos fermentativos e consumidores de H₂.

2.4.1.2. Parâmetros de controle operacional de um reator anaeróbio

A aplicação de processos anaeróbios no tratamento de efluentes requer cuidado na operação e no monitoramento (CASSERLY e ERIJMAN, 2003; AKARSUBASI *et al.*, 2006). Dentre os principais parâmetros de controle de um reator anaeróbio, podem ser destacados:

pH, alcalinidade e concentração de ácidos orgânicos voláteis

Esses três parâmetros estão intimamente relacionados entre si, sendo igualmente importantes para o controle dos sistemas anaeróbios (CHERNICARO, 1997; CHYNOWETH *et al.*, 1998).

O efeito do pH sobre o processo anaeróbio se manifesta basicamente de duas formas: diretamente, afetando, por exemplo, a atividade de enzimas, devido à alteração de sua estrutura; ou indiretamente, afetando a toxicidade de diferentes compostos (van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

Nos processos anaeróbios, os dois principais fatores que afetam o pH são o ácido carbônico e os ácidos orgânicos voláteis. A quantidade de ácido carbônico em solução encontra-se diretamente relacionada com a quantidade de CO₂ na fase gasosa, devido ao equilíbrio que se estabelece entre as concentrações de CO₂ nas duas fases. A interação da alcalinidade com os ácidos orgânicos voláteis durante a digestão anaeróbia fundamenta-se na capacidade da alcalinidade do sistema em neutralizar os ácidos formados no processo (CHERNICARO, 1997).

Carga orgânica volumétrica (COV)

A COV expressa a quantidade de matéria orgânica aplicada diariamente ao reator, por unidade de seu volume, e pode ser expressa em kg DBO.m⁻³.d⁻¹ (CHYNOWETH *et al.*, 1998; OLMÍ, 2002).

$$COV = \frac{C}{TDH} = \frac{C \times Q}{V_r}$$

em que

C = concentração de DQO (kg DQO.m⁻³);

TDH = tempo de detenção hidráulica (dias);

Q = vazão de alimentação (m³.d⁻¹); e

V_r = volume do reator (m³).

Vários estudos demonstram que o aumento na COV (conseqüentemente, diminuição no TDH) resulta em decréscimo da eficiência de remoção de DQO do reator. Essa redução se deve principalmente ao baixo tempo de contato entre a biomassa e os nutrientes (CAIXETA, 2002; OLMÍ, 2002; RAMOS, 2002; SÁNCHEZ *et al.*, 2005).

Temperatura

A temperatura do reator afeta significativamente a conversão, a estabilidade, a qualidade final do efluente e a produção de metano (SÁNCHEZ *et al.*, 2001).

A temperatura aplicada e o tipo de microbiota utilizada (psicrofílica, mesofílica ou termofílica) no tratamento dependerão das condições ambientais e da temperatura de entrada do efluente no sistema (SEKIGUCHI *et al.*, 2001).

Apesar da ampla faixa de temperatura possível, esse parâmetro é muito importante, pois a microbiota responsável pelo tratamento é muito sensível ao choque térmico. Uma microbiota termofílica não tolera facilmente a queda na temperatura do sistema, ao contrário, a microbiota psicrofílica não tolera o aumento de temperatura (CHYNOWETH *et al.*, 1998).

Os digestores geralmente são operados à temperatura ambiente, um pouco mais baixa do que as da região mesofílica (van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHYNOWETH *et al.*, 1998).

Produção de biogás e concentração de metano

O biogás produzido durante a digestão anaeróbia é composto principalmente de metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2). O conteúdo de metano presente é um parâmetro utilizado como indicador de estabilidade do processo. A concentração normal de metano no biogás é em torno de 50 a 80%, dependendo das características do efluente (CHYNOWETH *et al.*, 1998).

Eficiência de remoção da matéria orgânica

Os métodos mais comuns para determinar a concentração de matéria orgânica de uma amostra são a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e a demanda química de oxigênio (DQO).

A DBO retrata a quantidade de oxigênio requerida para estabilizar, por meio de processos bioquímicos, a matéria orgânica carbonácea. Já o teste da DQO mede o consumo de oxigênio ocorrido durante a oxidação química da matéria orgânica, correspondendo à quantidade de oxigênio necessária para oxidar a fração orgânica de uma amostra (von SPERLING, 2005).

2.4.1.3. Microbiologia da digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia de compostos orgânicos é considerada um processo que envolve uma associação de microrganismos, havendo interações de sinergismo entre os diversos grupos (Figura 2). Esse processo pode ser dividido em quatro fases principais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CAMARERO *et al.*, 1996; CHERNICHARO, 1997; GARCIA *et al.*, 2000; RITTMANN e McCARTY, 2001).

A primeira fase no processo de degradação anaeróbia consiste na hidrólise de materiais particulados complexos em materiais dissolvidos mais simples, os quais podem atravessar as paredes celulares das bactérias fermentativas. Essa conversão é realizada através da ação de enzimas extracelulares excretadas pelas bactérias fermentativas hidrolíticas. As proteínas degradam-se em aminoácidos, os carboidratos em açúcares e os lipídeos em ácidos graxos (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997; GARCIA *et al.*, 2000).

Na acidogênese, os produtos oriundos da fase de hidrólise são metabolizados no interior das células das bactérias fermentativas e convertidos em compostos simples, que podem ser excretados pelas células. Os compostos produzidos incluem ácidos orgânicos, álcoois, gás carbônico, hidrogênio, amônia, além de novas células (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997; GARCIA *et al.*, 2000). A etapa de acidogênese é realizada por diversificado grupo de bactérias fermentativas, como o da espécie *Clostridium*, que forma esporos e pode sobreviver em ambientes totalmente adversos, e o da espécie *Bacteroides*, normalmente presentes nos tratos digestivos (CHERNICHARO, 1997). A maioria das bactérias acidogênicas é anaeróbia estrita, porém, algumas espécies são facultativas, podendo metabolizar o material orgânico pela via oxidativa, utilizando o oxigênio eventualmente presente no meio e que poderia tornar-se tóxico às anaeróbias estritas (van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

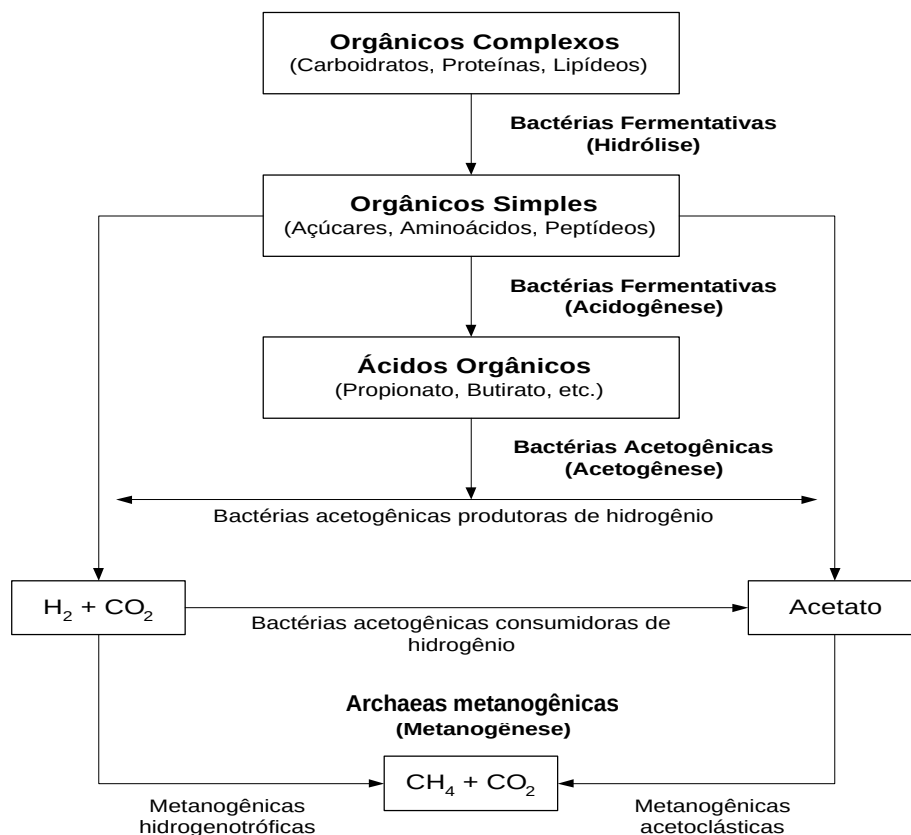


Figura 2 – Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbica (CHERNICHARO, 1997).

A seguinte etapa é a acetogênese, em que as bactérias acetogênicas convertem os produtos gerados na fase acidogênica em substrato apropriado para a próxima fase do processo. Dentre esses produtos gerados, destacam-se o hidrogênio, o dióxido de carbono e o acetato (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997).

A última etapa compreende a metanogênese, realizada por organismos metanogênicos, que são pertencentes ao domínio *Archaea*, e não ao Bacteria (CALDWELL, 1999; GARCIA *et al.*, 2000; RITTMANN e McCARTY, 2001; SEKIGUCHI *et al.*, 2001). *Archaeas* são organismos que apresentam propriedades de bactérias e de eucariotos, e também propriedades não atribuídas a nenhum desses organismos (CALDWELL, 1999; TORTORA, 2005).

As *archaeas* metanogênicas utilizam número limitado de substratos, compreendendo ácido acético, hidrogênio/dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas e monóxido de carbono, produzindo metano e dióxido de carbono (CHERNICHARO, 1997; GARCIA *et al.*, 2000). São divididos em dois grupos principais: o que forma metano a partir de acetato ou metanol (acetotróficas) e o que produz metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono (hidrogenotróficas) (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997).

Existem poucas espécies de *archaeas* metanogênicas acetotróficas, porém são normalmente os microrganismos predominantes na digestão anaeróbia, pertencendo a dois gêneros principais: *Methanosaeta* (*Methanothrix*), que utilizam exclusivamente o acetato, e *Methanosarcina*, que são consideradas as mais versáteis entre as *archaeas* metanogênicas. Existem várias espécies de *archaeas* metanogênicas hidrogenotróficas, sendo mais comuns as dos gêneros *Methanobacterium*, *Methanospirillum* e *Methanobrevibacter* (BITTON, 1994; CHERNICHARO, 1997). As metanogênicas hidrogenotróficas crescem mais rapidamente que as acetotróficas, de modo que estas últimas geralmente limitam a taxa de transformação de material orgânico em biogás (CHERNICHARO, 1997).

As bactérias acetogênicas requerem baixa tensão de H_2 : sob pressão parcial de H_2 relativamente alta, a formação de acetato é reduzida e o substrato é convertido a ácido propiônico, ácido butírico e etano, em maior proporção do que metano (BITTON, 1994). Dessa forma, *archaeas* metanogênicas são muito importantes para o equilíbrio da digestão anaeróbia, pois são as responsáveis por consumir o H_2 produzido, propiciando o abaixamento da pressão parcial de H_2 no meio, tornando possível a ação das bactérias acidogênicas e acetogênicas (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997).

Cerca de 60 a 70% do material orgânico é convertido em metano pela via acetotrófica, portanto é necessário que esta via se desenvolva eficientemente. A fermentação ácida tende a causar abaixamento de pH, porém, a metanogênese se desenvolverá somente quando o pH estiver próximo à neutralidade. Dessa forma, é necessário manter um equilíbrio

entre a fermentação ácida e a metanogênica (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; CHERNICHARO, 1997).

2.4.1.4. Métodos para a análise da diversidade microbiana

Existem vários métodos diretos e indiretos utilizados para a análise de microrganismos presentes em um sistema de digestão anaeróbia. Nenhum método universal deve ser aplicado, devido à grande diversidade microbiana presente nos sistemas anaeróbios, devendo ser ressaltado que todos os métodos possuem vantagens e desvantagens (SOLERA *et al.*, 2001).

Os principais microrganismos limitantes da digestão anaeróbia são as Archaeas metanogênicas, pois possuem crescimento muito lento e são extremamente sensíveis às variações nas condições ambientais, principalmente no que se refere ao pH e à eventual presença de oxigênio, sendo o primeiro grupo a sucumbir em situações ambientais adversas. Dessa forma, os estudos relacionados à análise da diversidade microbiana presente no sistema de digestão anaeróbia voltam-se principalmente para esses microrganismos (BUZZINI *et al.*, 2006).

Dentre os principais métodos, podem-se destacar: a contagem celular (contagem em placas, determinação do número mais provável – NMP – e microscopia), a avaliação de componentes celulares (técnicas de biologia molecular) e a avaliação da atividade celular.

Contagem celular

Os métodos de contagem de células viáveis em placa permitem estimar o número de um determinado tipo de microrganismo dentre a biomassa viável total presente no sistema anaeróbio (SOLERA *et al.*, 2001). Esse é um método geral, que pode ser utilizado tanto para contagem de grandes grupos microbianos, quanto para contagem de gêneros e espécies em particular. Para contagem de microrganismos anaeróbios, devem-se incubar as placas sob atmosfera anaeróbia, pela exaustão de ar e introdução de N₂/CO₂ ou por meio do uso de geradores de anaerobiose (PELCZAR, 1997).

A técnica de Número Mais Provável (NMP) baseia-se na inoculação de volumes conhecidos da amostra em tubos que contêm meio apropriado, na forma de diluições seriadas. Os tubos são incubados a temperatura e tempo ideais. Após esse tempo, constata-se em quantos tubos foram observados resultados positivos e compara-se com tabela apropriada (PELCZAR, 1997).

Dolfing *et al.* (1985) relataram o uso da técnica de NMP para determinar grupos microbianos presentes em lodo anaeróbio. Os tubos foram incubados a 30°C, durante oito meses. Após esse período, os tubos tiveram a produção de metano e o consumo de substrato determinados por cromatografia gasosa e o conteúdo examinado por microscopia. Esses autores chegaram à conclusão de que a técnica não é adequada para determinar os grupos presentes no lodo.

A contagem direta por microscopia é um método bastante aplicado para analisar a diversidade microbiana de uma amostra. Esse método consiste em fixar a amostra em uma lâmina, observá-la ao microscópio e proceder à contagem. A microscopia em contraste de fase é realizada para a contagem de microrganismos não-metanogênicos e a microscopia de fluorescência permite a contagem de *Archaeas* metanogênicas, sem a necessidade de preparações especiais, já que *Archaeas* possuem uma coenzima específica, a F₄₂₀, que fluoresce quando exposta a um comprimento de onda de 420 nm (SOLERA *et al.*, 2001).

Avaliação de componentes celulares

Essa técnica baseia-se nas diferenças observadas entre os componentes celulares dos organismos: natureza dos lipídeos da membrana celular, detecção de ácido murâmico (presente somente na parede celular de bactérias), tipo de RNA polimerase e tipo de ribossomos (GARCIA *et al.*, 2000; TORTORA, 2005).

Com base nas diferenças fisiológicas entre os domínios, as técnicas de biologia molecular vêm sendo bastante empregadas para detectar e identificar grupos microbianos presentes em culturas mistas, como ocorre

em sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes. A técnica de PCR tem sido utilizada nesse sentido, pois, com a amplificação de regiões específicas do DNA, produz-se quantidade suficiente para que seja adequadamente testada. Essa técnica torna-se ainda mais viável quando utilizada de forma combinada com outras técnicas, como a técnica de NMP, em que o DNA é diluído em série e cada diluição é submetida à reação PCR (SEKIGUCHI *et al.*, 2001; CASSERLY e ERIJMAN, 2003; AKARSUBASI *et al.*, 2006; BUZZINI *et al.*, 2006).

Avaliação da atividade celular

Devido à dificuldade no isolamento e na identificação da microbiota presente nos sistemas de digestão anaeróbia, vários métodos têm sido propostos para avaliar sua diversidade por meio da medida de suas atividades (POETSCH e KOETZ, 1998; JAWED e TARE, 1999).

Segundo Soto *et al.* (1993), a medida da atividade do lodo anaeróbio pode ser considerada de duas formas: uma medida global, que fornece informações sobre a atividade total da microbiota, e uma medida da atividade de cada etapa do processo. A aplicação de uma das formas depende do que se pretende avaliar: a avaliação da atividade global permite a seleção de um lodo bem adaptado para ser utilizado como inóculo do sistema; já a avaliação da atividade individual pode ser utilizada para detecção de uma situação de instabilidade do sistema, como a que pode ocorrer devido ao efeito de substâncias tóxicas inibidoras ou à presença de substrato pouco degradável. Os testes de atividade do lodo são conduzidos em experimentos em batelada, fixando-se uma quantidade de substrato que serve como nutriente para uma determinada quantidade de lodo.

Pires (2005) avaliou o efeito de agentes químicos utilizados na indústria de alimentos sobre a eficiência de remoção de DQO em meio sintético, empregando reatores anaeróbios em batelada. Os resultados obtidos permitiram a identificação dos agentes químicos e das respectivas concentrações que interferem na eficiência do sistema avaliado. A autora sugeriu a condução de novos estudos para avaliar as atividades hidrolítica,

acidogênica e metanogênica do lodo anaeróbio, com o intuito de verificar os efeitos desses compostos sobre os diferentes grupos microbianos envolvidos no processo de digestão anaeróbia.

2.4.1.5. Fatores que afetam a digestão anaeróbia

Os requisitos ambientais dos microrganismos são variados. Em geral, a taxa ótima de crescimento ocorre em faixas de temperatura e pH limitadas, embora a sobrevivência possa ocorrer em faixas mais amplas (von SPERLING, 2005).

A digestão anaeróbia é afetada por diversos fatores, dentre eles se destacam a temperatura, o pH, a composição do efluente, a competição entre *archaeas* metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato e a presença de material inibitório (BITTON, 1994).

Temperatura

A digestão anaeróbia depende muito da temperatura, visto que os microrganismos não possuem meios de controlar sua temperatura interna e, dessa forma, a temperatura no interior da célula é determinada pela temperatura ambiente externa (CHERNICHARO, 1997).

Para o tratamento de efluentes a digestão mesofílica é mais interessante, obtendo-se a taxa máxima de digestão em uma faixa de temperatura de 30 a 40°C. A temperatura influencia tanto a taxa de digestão quanto a fração de sólidos orgânicos, que pode ser metabolizada. Temperaturas baixas acarretam a diminuição da eficiência da taxa de digestão, motivo pelo qual este processo é mais indicado para regiões tropicais (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

pH

Outro fator que pode afetar a digestão anaeróbia é o pH, pois, para que se tenha alta taxa de metanogênese, este deve ser mantido na faixa neutra, ou então a atividade metanogênica decresce rapidamente (van HAANDEL e LETTINGA, 1994).

As bactérias acidogênicas produzem ácidos orgânicos que tendem a reduzir o valor de pH do reator. Sob condições normais de operação, existe um efeito tamponante devido à produção de bicarbonato pelas metanogênicas. Por outro lado, sob condições ambientais adversas o efeito tamponante do sistema pode ser prejudicado, eventualmente interrompendo a produção de metano (BITTON, 1994).

Competição entre archaeas metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato

Archaeas metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato podem competir pelos mesmos doadores de elétrons, acetato e H_2 , sendo muito competitivas à taxa de DQO/SO₄ entre de 1,7 e 2,7. O aumento no valor dessa taxa é favorável às metanogênicas, enquanto o decréscimo favorece o crescimento de bactérias redutoras de sulfato (BITTON, 1994).

Presença de material tóxico ou inibitório

Alguns dos compostos tóxicos mais relevantes para a digestão anaeróbia de efluentes de suinocultura são as eventuais presenças de oxigênio dissolvido, amônia, sulfeto e antibióticos (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; MASSÉ *et al.*, 2000; RITTMAN e McCARTY, 2001; LALLAI *et al.*, 2002).

O oxigênio dissolvido pode ser introduzido no reator juntamente com o efluente, inibindo a atividade metanogênica, porém, se a aeração não for intensa o oxigênio será consumido pelas bactérias acidogênicas (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994; RITTMAN e McCARTY, 2001).

O sulfeto pode ser formado dentro do reator pela redução de sulfato, entretanto sua toxicidade é significativa somente em concentrações maiores que 100 mg.L⁻¹ (van HAANDEL e LETTINGA, 1994; RITTMAN e McCARTY, 2001).

A amônia é produzida pela degradação de resíduos proteináceos e reage com o dióxido de carbono e água para formar bicarbonato de amônio, um tampão natural. No caso de efluentes de suinocultura, a concentração de

proteína pode ser elevada, aumentando a concentração de amônia (RITTMAN e McCARTY, 2001).

Os antibióticos empregados em suinocultura podem atuar de forma tóxica nos microrganismos responsáveis pela digestão anaeróbia (POELS *et al.*, 1984; MASSÉ *et al.*, 2000; LALLAI *et al.*, 2002; VILLAGÓMEZ *et al.*, 2002).

2.5. Antibióticos

2.5.1. Mecanismos de ação e classificação dos antibióticos

Existem alguns mecanismos básicos de ação dos antibióticos (PELCZAR, 1997; CALDWELL, 1999):

- Inibição da função enzimática: principal mecanismo pelo qual a ação antimicrobiana se manifesta, pois todas as atividades bioquímicas críticas são mediadas por processos enzimáticos. Ex.: sulfonamidas.
- Inibição da função dos ácidos nucleicos: esses antibióticos são pouco seletivos, sendo tóxicos também para os organismos hospedeiros, pois as funções dos ácidos nucleicos são semelhantes em todas as formas de vida. Ex.: actinomicina.
- Interferência na formação e função da parede celular: bastante seletivo, pois nem todos os organismos vivos possuem parede celular. Ex.: penicilina, cefalosporina, bacitracina e vancomicina.
- Inibição da síntese protéica: também é seletivo, pois, embora a síntese protéica seja essencial à vida, existem diferenças no mecanismo utilizado pelos organismos. Ex.: tetraciclina, cloranfenicol, estreptomicina e gentamicina.
- Alteração da função da membrana: os microrganismos possuem membranas com características diferentes, o que possibilita a seletividade. Ex.: polimixinas.

Uma maneira usual de classificar compostos antimicrobianos leva em conta a sua capacidade de atuar sobre microrganismos Gram + ou Gram -, devido às diferenças na estrutura da parede celular dos grupos de bactérias e dos micoplasmas.

Quadro 2 – Classificação de antibióticos em relação à atividade sobre diferentes microrganismos

Grupos/Princípios Ativos	Microrganismos	
	Gram +	Gram -
Aminoglicosídeos	-	+
Bacitracinas	+	-
Cloranfenicol	+	+
Colistina	-	+
Fluorquinolonas	+	+
Macrolídeos	+	-*
Nitrofuranos	+	+
Penicilinas	+	-
Peptolídeos	+	-
Polimixinas	-	+
Quinolonas	+	+
Quinoxalinas	+	+/-
Rifampicina	+	-
Sulfonamidas	+	+
Tetraciclinas	+	+

+ apresenta atividade contra o grupo.

- não apresenta atividade contra o grupo.

+/- apresenta atividade parcial contra o grupo.

-* atividade contra algumas Gram -, como *Haemophilus sp.*, *Pasteurella sp.* e *Brucella sp.*

Fonte: adaptado de Barcellos e Sobestiansky (1996).

2.5.2. Importância do emprego dos antibióticos em suinocultura

Os antibióticos têm sido utilizados em grande escala na criação de suínos, em doses terapêuticas (para curar doenças), profiláticas (para prevenir o surgimento de doenças) e, principalmente, subterapêuticas (como promotores de crescimento) (BARCELLOS e SOBESTIANSKY, 1996; MASSÉ *et al.*, 2000; CAMPAGNOLO *et al.*, 2002; LALLAI *et al.*, 2002; DÍAZ-CRUZ *et al.*, 2003; KAY *et al.*, 2005; UNGEMACH *et al.*, 2006).

A intensificação nos métodos de produção de suínos levou ao aparecimento de uma série de doenças relacionadas com as tecnologias introduzidas, que criaram condições para que os agentes, que antes se mantinham em equilíbrio com o hospedeiro, viessem a exercer um efeito patogênico. Para o controle dessas doenças, os antibióticos assumiram papel de destaque. Estes são utilizados basicamente na ração, embora

também sejam administrados por via intramuscular ou intravenosa. Os antibióticos atuam principalmente no controle de doenças gastrintestinais e infecções urinárias e respiratórias (BARCELLOS e SOBESTIANSKY, 1996).

Os antibióticos são bastante utilizados como promotores de crescimento, principalmente por proporcionarem melhora no aproveitamento do alimento pelos animais (UTIYAMA, 2004). Existem várias hipóteses que tentam explicar os mecanismos de ação desses compostos. Dentre elas podem-se destacar (BELLAYER, 2000; UTIYAMA, 2004):

- Efeito metabólico: o agente antimicrobiano melhora o desempenho do animal, pelo efeito direto sobre o seu metabolismo. Um exemplo disso é o uso de tetraciclina, que elevam o glicogênio molecular, melhorando a qualidade da carne. A clortetraciclina aumenta a síntese de gordura no período final de engorda.

- Efeito nutricional: esse efeito é caracterizado pela ação seletiva dos antibióticos, inibindo o crescimento de microrganismos que competem pelo alimento com o hospedeiro e favorecendo o crescimento daqueles que sintetizam vitaminas e aminoácidos essenciais para o suíno. Além disso, os antibióticos podem reduzir a irritação, devido à ação sobre microrganismos aderidos que produzem toxinas, com conseqüente redução na espessura e massa do epitélio intestinal, favorecendo a absorção e economia de nutrientes (menor quantidade de nutriente é gasta para manter os tecidos do epitélio). Finalmente, os antibióticos atuam sobre microrganismos produtores de ácidos responsáveis pelo estímulo da musculatura intestinal. Dessa forma, o alimento permanece mais tempo no intestino e pode ser mais bem digerido e absorvido.

- Efeito sobre o controle de doenças: os antibióticos inibem o crescimento de microrganismos que se aderem e produzem toxinas, causando diarreias e outras doenças, que provocam estimulação crônica do sistema imunológico, como resposta, reduzindo o consumo de ração.

Embora o uso de antibióticos apresente muitos efeitos benéficos na produção de suínos, seu uso tem sido cada vez mais restringido, principalmente como promotores de crescimento. Essa restrição se deve basicamente a dois fatores: a exigência do mercado consumidor por

produtos livres de resíduos de antibióticos e a possibilidade de desenvolvimento de microrganismos resistentes (OETTING, 2005).

A exigência do mercado consumidor vem pressionando os produtores a obterem certificado de qualidade de seus produtos. Alguns consumidores temem que patógenos resistentes possam se multiplicar em humanos, devido ao consumo de produtos com resíduos de antibióticos (BELLAYER, 2000).

Embora a resistência a antibióticos em humanos seja alta, não há evidências de sua relação com o uso subterapêutico dessas drogas em animais. De qualquer forma, tem sido sugerido que os antibióticos sejam utilizados somente para fins terapêuticos. Outra sugestão é de que se use, como promotores de crescimento, somente os antibióticos não utilizados na medicina humana, ou então outras alternativas (BELLAYER, 2000).

De qualquer forma, a resistência microbiana observada em microrganismos presentes no intestino de suínos é prejudicial, pois cada vez são necessárias doses maiores ou novas drogas para solucionar os problemas, o que geralmente se reflete no custo da produção.

Os compostos antibióticos geralmente são oferecidos ao suíno por via oral, freqüentemente na ração. Essas substâncias passam a ter importância para o tratamento de dejetos quando são pouco absorvidas pelo organismo, sendo excretadas nas fezes ou na urina. Além disso, existem casos em que ao serem absorvidos e metabolizados, os metabólitos permanecem tão ou mais ativos e também passarão a ter importância para o tratamento dos dejetos.

2.5.3. Alternativas disponíveis para substituição dos antibióticos

Os problemas relacionados ao uso de antibióticos na produção de animais, anteriormente mencionados, têm forçado a procura de substâncias alternativas que possam substituir essas drogas. As principais alternativas pesquisadas incluem probióticos, prebióticos, enzimas, ácidos orgânicos, extratos vegetais e homeopatia (BELLAYER, 2000; UTIYAMA, 2004; OETTING, 2005).

Probióticos

Compõem-se de culturas microbianas que beneficiam o suíno sob vários aspectos. Dentre os principais requisitos, pode-se citar que um probiótico deve (UTYAMA, 2004):

- Exercer efeito benéfico;
- Conter grande número de células viáveis;
- Ser capaz de sobreviver ao suco gástrico e de se instalar no intestino;
- Manter-se viável durante a estocagem e uso nas dietas; e
- Ser isolado ou detectado em seu hospedeiro.

Há vários tipos de probióticos no mercado, sendo a maior parte composta por espécies bacterianas dos gêneros *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus* e também pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* (BELLAYER, 2000; UTYAMA, 2004). Dentre os principais efeitos benéficos dos probióticos, destacam-se (UTYAMA, 2004):

- exclusão competitiva: os microrganismos probióticos passam a prevalecer na microbiota intestinal, aderindo-se ao epitélio, dificultando a adesão dos microrganismos patogênicos e sua captura de nutrientes;
- antagonismo direto: esse efeito se dá pela produção de ácidos orgânicos ou substâncias antimicrobianas pelos probióticos, que atuam inibindo os patógenos;
- efeito sobre o sistema imunológico: apesar de o mecanismo ainda não estar totalmente esclarecido, estudos indicam que componentes específicos da parede celular de alguns microrganismos probióticos podem auxiliar, melhorando a resposta imune do hospedeiro;
- efeito nutricional: como visto, a prevalência dos microrganismos probióticos no intestino dificulta a fixação dos patógenos, contribuindo para a integridade do epitélio intestinal, o que provoca melhor digestão e absorção dos nutrientes. Além disso, produzem vitaminas, enzimas e sais biliares que auxiliam a digestão.

Prebióticos

São compostos não-digeríveis por enzimas, sais e ácidos produzidos pelo organismo animal, mas seletivamente fermentados pelos microrganismos do trato gastrointestinal. São representados principalmente por oligossacarídeos (frutoligossacarídeos, glucoligossacarídeos e mananoligossacarídeos). Os prebióticos possuem ação sobre a microbiota: bloqueiam a adesão de patógenos na superfície do epitélio intestinal. Além disso, alteram seletivamente a microbiota, tornando-a mais saudável ao animal (UTIYAMA, 2004).

Enzimas

As enzimas digestivas promovem a hidrólise dos componentes dos alimentos, tornando os nutrientes mais disponíveis para absorção. Dessa forma, a suplementação de enzimas nas rações pode ser uma ferramenta importante para melhorar a eficiência de utilização dos alimentos pelo suíno (BELLAYER, 2000):

- Fitases: cerca de dois terços do fósforo presente nos vegetais encontram-se ligados aos fitatos, que são praticamente não-digeridos, sendo eliminados nas fezes. A fitase age removendo o fósforo da molécula de fitato, melhorando a sua absorção.

- β -glucanase e endoxilanase: β -glucanas e pentosanas solúveis (xitose, arabinose) estão presentes em vários cereais e possuem capacidade de formar géis (em contato com a água), dando origem a soluções viscosas que retardam a absorção de nutrientes. A β -glucanase e a endoxilanase são enzimas que atuam sobre as β -glucanas e pentosanas, respectivamente, degradando-as em açúcares disponíveis.

- Pectinases, amilases e proteases: agem sobre a pectina, o amido e as proteínas, respectivamente, presentes no alimento, liberando açúcares e peptídeos, que podem ser absorvidos pelo animal.

Ácidos orgânicos

Provocam a redução do pH no trato digestivo, com o objetivo de facilitar a digestão e controlar a microbiota. A diminuição do pH aumenta a ação da pepsina sobre os peptídeos e reduz a proliferação de patógenos (BELLAYER, 2000).

Extratos Vegetais

Estudos recentes têm mostrado a possível aplicação de extratos vegetais como alternativa para substituição dos antibióticos usados como promotores de crescimento em suínos. Os princípios ativos presentes em alguns vegetais possuem atividade antimicrobiana, antioxidante, antifúngica e/ou antihelmíntica (UTIYAMA, 2004):

- Efeito antimicrobiano: os compostos fenólicos presentes em certos extratos possuem extremidade hidrofóbica que interage com a membrana celular de bactérias, alterando sua permeabilidade. Outros removem grupos – SH de enzimas bacterianas, inativando-as.

- Efeito antioxidante: a presença de compostos fenólicos, flavonóides e terpenóides garante o efeito antioxidante dos vegetais. Esses compostos podem interceptar e neutralizar radicais livres, impedindo a prorrogação do processo de oxidação.

- Efeito sobre a digestibilidade: em alguns trabalhos constata-se que o uso de extratos vegetais pode aumentar a digestibilidade de nutrientes. Segundo resultados obtidos, ocorre estímulo na produção de saliva, suco gástrico e pancreático, além de modulação da microbiota intestinal, contribuindo para o processo digestivo.

Homeopatia

A homeopatia na medicina veterinária é praticada de forma muito semelhante à aplicada na humana. Essa técnica é utilizada em suínos para tratamento tanto de doenças leves como graves (ARENALES, 2006; VUADEN, 2006).

Os medicamentos homeopáticos exercem função de medicamentos de ação curativa e também de ação preventiva (ARENALES, 2006).

Muitas granjas já adotam essa técnica, principalmente aquelas que possuem ou desejam obter o certificado de propriedade totalmente orgânica (VUADEN, 2006).

2.5.4. Características dos antibióticos avaliados no presente trabalho

Cada antibiótico possui um princípio ativo responsável pela especificidade de sua atuação. A seguir são apresentadas as principais características dos antibióticos utilizados no presente trabalho (CRUEGER e CRUEGER, 1984; BRANDER *et al.*, 1991; BARCELLOS e SOBESTIANSKY, 1996; SPINOSA *et al.*, 1996; CALDWELL, 1999; DE LIGUORO *et al.*, 2003; KOLZ *et al.*, 2005, SANTOS *et al.*, 2006).

Amoxicilina

É um antibiótico que faz parte do grupo denominado β -lactâmicos, devido à presença de um anel β -lactâmico em sua estrutura (Figura 3). Inibe a síntese de peptideoglicano. Embora esse composto esteja presente em maior quantidade na parede celular de bactérias Gram + do que em Gram -, esse antibiótico possui amplo espectro de ação, pelo fato de ser capaz de atravessar a membrana externa de Gram -, onde atua inibindo a síntese protéica.

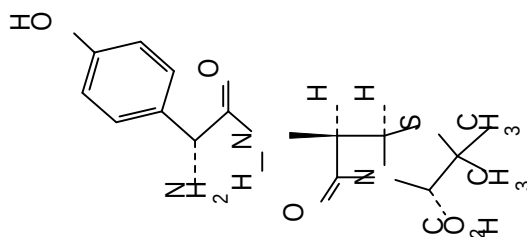


Figura 3 – Estrutura do antibiótico amoxicilina.

Esse antibiótico é utilizado para fins terapêuticos, principalmente por ser bastante utilizado na medicina humana. Possui ação sobre patologias respiratórias, urinárias, gastrointestinais, nervosas, articulares e cutâneas.

É estável ao meio estomacal e, por isso, pode ser aplicado via oral, adicionado à ração ou à água. Sua eliminação se dá em níveis elevados, pela urina.

A resistência associada a esse antibiótico deve-se principalmente à produção de β -lactamases pelos microrganismos resistentes (quebra o anel β -lactâmico) ou à redução na permeabilidade da parede celular.

Enrofloxacin

Faz parte do grupo das quinolonas, que possuem dois anéis (pirimidínico e carboxílico) (Figura 4). É considerada uma quinolona de terceira geração devido ao seu espectro de ação: é muito efetiva contra Gram -, especialmente enterobactérias, além de atuar sobre algumas Gram +. Sua atuação é devido à inibição da síntese de DNA, pois inibe a ação da enzima DNA girase.

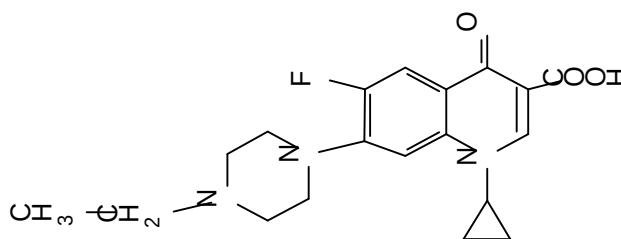


Figura 4 – Estrutura do antibiótico enrofloxacin.

Possui várias aplicações terapêuticas para a maior parte das infecções bacterianas em suínos, como as gastrointestinais, as respiratórias e as urinárias.

A resistência associada a esse antibiótico é baixa, geralmente causada por mutações.

Gentamicina

É um antibiótico que faz parte do grupo de aminoglicosídeo (Figura 5). Ele inibe a síntese protéica, promovendo a formação de proteínas defeituosas.

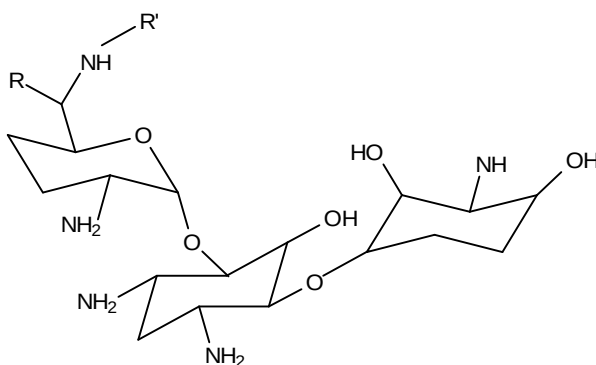


Figura 5 – Estrutura do antibiótico gentamicina.

Possui amplo espectro de atividade, sendo usado principalmente para terapia parenteral de infecções ou terapia oral contra infecções intestinais em leitões.

Oxitetraciclina

Este antibiótico está inserido no grupo das tetraciclinas (Figura 6). Ele inibe a síntese protéica, pois se liga ao ribossomo, impedindo a ligação do RNA transportador. Possui amplo espectro de ação e é bastante utilizado em suinocultura, como promotor de crescimento e para prevenção e controle de infecções respiratórias e intestinais.

Esse antibiótico é excretado na forma ativa, pela urina.

A resistência às tetraciclinas está difundida, podendo limitar seu uso terapêutico.

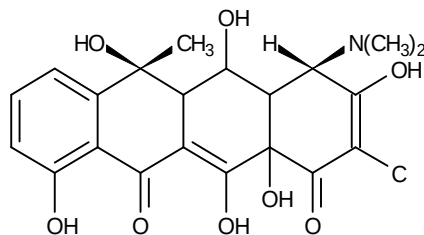


Figura 6 – Estrutura do antibiótico oxitetraciclina.

Tilosina

Faz parte do grupo de antibióticos macrolídeos, que possuem um anel lactona em sua estrutura (Figura 7). Age inibindo a síntese protéica, sendo ativo principalmente contra Gram + e microrganismos anaeróbios. Possui características semelhantes à da oxitetraciclina, com relação à sua utilidade para suinocultura e ao surgimento de resistência.

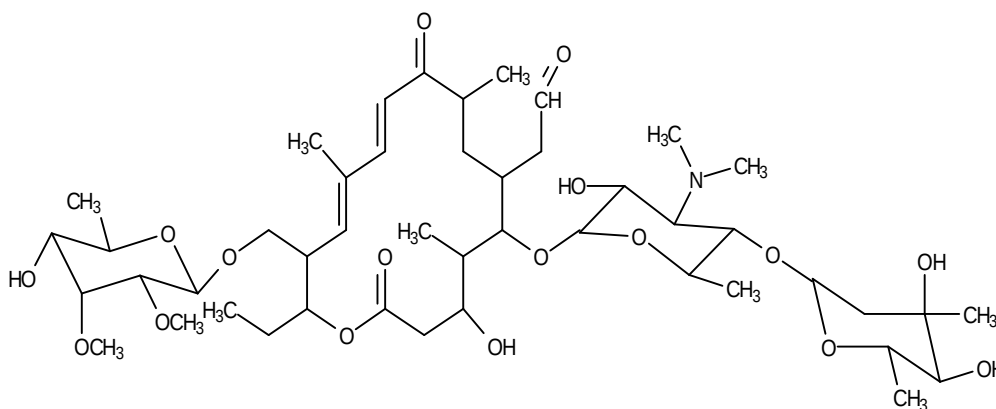


Figura 7 – Estrutura do antibiótico tilosina.

2.5.5. Efeito de antibióticos sobre a digestão anaeróbia

A toxicidade de compostos presentes em efluentes sobre a microbiota responsável pela digestão anaeróbia é difícil de ser avaliada isoladamente, devido à possível ocorrência de efeitos sinérgicos ou antagônicos. Além disso, uma certa substância química pode exercer efeitos distintos nos

diferentes microrganismos presentes nas estações de tratamento de efluente (LÓPEZ-FIUZA *et al.*, 2002).

O efeito de determinada substância (ou mistura) tóxica sobre a digestão anaeróbia normalmente é avaliado por medidas de atividade da biomassa presente no lodo anaeróbio. Essas atividades podem ser consideradas de duas formas: uma medida global, que fornece informações sobre a atividade total de degradação, e uma medida da atividade de cada estágio do processo (SOTO *et al.*, 1993).

A medida da atividade global do sistema pode ser realizada, por exemplo, pela produção de metano (VAREL e HASHIMOTO, 1981; 1982; SOTO *et al.*, 1993; LALLAI *et al.*, 2002; LÓPEZ-FIUZA *et al.*, 2002), ou pelo acompanhamento da demanda química de oxigênio (DQO) (MASSÉ *et al.*, 2000; ERGÜDER *et al.*, 2003; MENSAH e FORSTER, 2003).

Os ensaios de toxicidade sobre os microrganismos normalmente são realizados por testes em batelada e podem ser desenvolvidos quando são utilizadas como inóculo culturas puras ou consórcio de microrganismos, como a biomassa obtida de reatores biológicos, que apresentam como vantagem a representatividade dos resultados (LÓPEZ-FIUZA *et al.*, 2002).

Existem poucos estudos nos quais o efeito de antibióticos na eficiência da digestão anaeróbia foi avaliado (VAREL e HASHIMOTO, 1981; 1982; POELS *et al.*, 1984; MASSÉ *et al.*, 2000; LALLAI *et al.*, 2002). Além disso, a maior parte desses estudos é antiga e alguns investigaram a ação de antibióticos que atualmente são proibidos na maioria dos países.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Processos Fermentativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e no Setor de Agroindústria do Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Pomba (CEFET-RP).

3.1. Procedimentos preliminares

3.1.1. Avaliação do efluente natural e meio sintético em reator UASB

A fim de evitar o efeito dos antibióticos normalmente presentes em um efluente natural de suinocultura, os experimentos referentes à avaliação do efeito de compostos antibióticos sobre a digestão anaeróbia foram conduzidos em um meio sintético, conforme composição apresentada no Quadro 3. Esse meio foi formulado com base em informações disponíveis na literatura (YU *et al.*, 2001) e na composição físico-química do efluente natural de suinocultura.

A utilização de meio sintético evita a influência das variações nas características físico-químicas e microbiológicas, que normalmente ocorrem em efluente de suinocultura, além de ser de fácil preparo, armazenamento e manuseio.

Quadro 3 – Composição do meio sintético

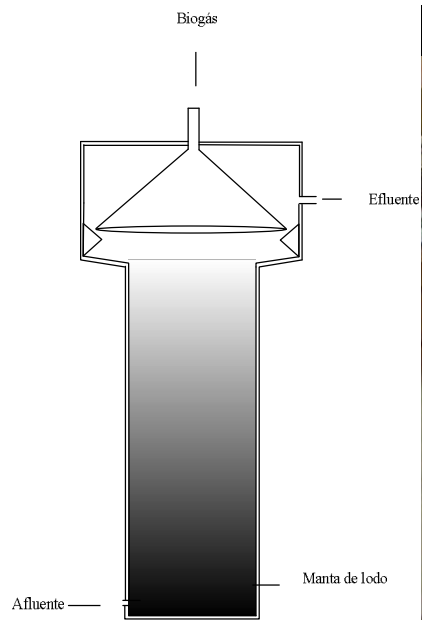
Constituintes	Concentração (mg.L ⁻¹)
Peptona	800
Glicose	2.720
Extrato de carne	560
Bicarbonato de sódio, NaHCO ₃	2.500
Cloreto de cálcio, CaCl ₂ . 2H ₂ O	38
Sulfato de magnésio, MgSO ₄ . 7H ₂ O	42
Cloreto de amônio, NH ₄ Cl	320
Sulfato ferroso, FeSO ₄	32
Fosfato de potássio monobásico, KH ₂ PO ₄	80

Com o objetivo de determinar a viabilidade da utilização do meio sintético como modelo para avaliação do efeito dos compostos antibióticos sobre a digestão anaeróbia, foram realizados ensaios preliminares, avaliando-se o desempenho de reatores UASB alimentados com efluente natural de suinocultura (controle) e meio sintético.

Os reatores UASB (Figura 8) foram confeccionados em PVC, dimensionados em escala de bancada com volume útil de 2.050 mL, e operados em sistema contínuo de alimentação, com auxílio de bombas peristálticas (Masterflex modelo 7520-10).

O lodo de semeadura utilizado para a partida dos reatores foi obtido do digestor anaeróbio da estação de tratamento de efluentes da Pif Paf Alimentos S.A., indústria de abate e processamento de aves, localizada no município de Visconde de Rio Branco-MG. O lodo coletado foi acondicionado em bombonas plásticas e mantido sob refrigeração até o momento de sua utilização.

O efluente de suinocultura empregado no presente trabalho foi coletado na granja Novo Suíno, localizada no bairro Violeira, em Viçosa-MG. Para coleta, foi utilizado o método de amostragem proporcional à vazão, determinando-se a quantidade de efluente gerado em cada setor, de modo que se pudesse obter uma amostra significativa. A coleta em cada setor da granja foi realizada no momento em que as baias eram lavadas, sendo realizada uma amostragem de 150 L, conforme detalhado no Quadro 4. As amostras de efluentes coletadas em cada setor da granja foram homogeneizadas.



Quadro 5 – Carga biológica aplicada em cada reator UASB

Carga Biológica (kgDQO.kgSTV ⁻¹ .d ⁻¹)	Fluxo (mL.min ⁻¹)	Reator	
		Efluente Natural	Meio Sintético
0,2	0,5	A	B
0,4	1,0	C	D

A carga biológica refere-se à quantidade em massa de matéria orgânica aplicada diariamente ao reator, por unidade de biomassa presente neste. Desta forma, o volume de lodo inoculado em cada reator foi calculado com base na sua carga biológica, de forma que essa pudesse ser igual para reatores que operam com o mesmo fluxo e diferentes meios de alimentação.

Para avaliação do desempenho dos sistemas, determinou-se a DQO dos efluentes na saída de cada reator, em intervalos de tempo que variaram de um a quatro dias, considerando-se que o sistema havia atingido o regime permanente quando a diferença na porcentagem de remoção de DQO entre pelo menos três coletas consecutivas não ultrapassasse 3%.

As amostras de efluente natural e meio sintético foram analisadas antes e após o tratamento biológico, quanto a demanda química de oxigênio (DQO), sólidos sedimentáveis (SS), sólidos totais (ST), sólidos totais fixos (STF) e voláteis (STV), alcalinidade e pH.

3.1.2. Preparo e adaptação do inóculo

O lodo de semeadura obtido do digestor anaeróbio integrante da estação de tratamento de efluentes da Pif Paf Alimentos S.A., aqui denominado de “lodo bruto”, foi submetido à lavagem de células com meio sintético, para assegurar a remoção dos resíduos provenientes do digestor onde foi coletado.

O preparo do lodo consistiu de duas etapas. Primeiramente, o lodo bruto foi centrifugado (centrífuga Beckman J2-MC) a 3840xg/15'/10°C, com subsequente ressuspensão em água peptonada 0,1%, adicionada de sulfeto de sódio (Na₂S.5H₂O) na concentração de 50 mg.L⁻¹ para garantir o meio

reductor. Em seguida, o lodo foi novamente centrifugado, sob as mesmas condições, e ressuspenso em meio sintético, obtendo-se, finalmente, o inóculo utilizado nos experimentos, denominado “lodo lavado”. As análises de sólidos totais, voláteis e fixos caracterizaram esse lodo.

Devido às diferenças de composição entre o efluente tratado no digestor de origem do lodo e o meio sintético empregado no presente experimento, fez-se necessário o desenvolvimento de uma fase de adaptação da biomassa ao novo meio.

Para adaptação do lodo empregou-se um processo semicontínuo, que consistiu em substituir parte do meio degradado por meio fresco após o sistema ter alcançado 50% de remoção de matéria orgânica, até a obtenção de uma taxa de remoção da ordem de $0,2 \text{ g DQO.g STV}^{-1}.\text{d}^{-1}$, valor típico para digestão anaeróbia, de acordo com SHULER e KARGI (2002).

A adaptação do lodo foi realizada em frasco Erlenmeyer de 560 mL contendo 500 mL de meio, incubado em banho-maria (FANEM Ltda.® Modelo 102) a 35°C. As amostras foram coletadas em intervalos de tempo de 12 horas, para análise de DQO e pH. Quando a remoção de DQO alcançava 50%, procedia-se à decantação dos sólidos, substituindo-se 150 mL do sobrenadante por meio sintético, com o auxílio de pipeta volumétrica.

3.1.3. Reatores

Os reatores empregados em escala de bancada (Figura 9) foram constituídos de garrafas de diluição de polipropileno Nalgene, com volume total de 210 mL e volume de trabalho de 170 mL. As tampas dos reatores foram perfuradas para introdução de dois tubos de vidro, sendo um para coleta de amostras e outro para liberação do biogás produzido no reator. A saída para coleta de amostras permaneceu vedada até o momento da amostragem, enquanto a saída do biogás foi acoplada a um balão de borracha, com a finalidade de aliviar a pressão no interior do reator.

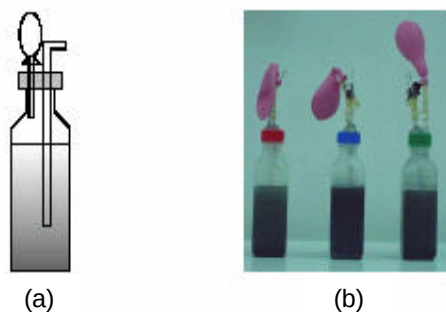


Figura 9 – Representação esquemática (a) e fotográfica (b) dos reatores empregados.

3.1.4. Determinação da relação A/M

Para definição da concentração de lodo que deveria ser utilizada nos experimentos, foram avaliadas diferentes relações alimento/microrganismo (A/M) conforme demonstrado no Quadro 6.

Quadro 6 – Volumes de lodo e meio sintético adicionados ao reator para obtenção da relação A/M correspondente

Frasco	Relação A/M (g DQO.g STV ⁻¹)	Volume de Lodo (mL)	Volume de Meio Sintético (mL)
A	0,5	47,0	123,0
B	1,0	27,0	143,0
C	1,5	19,0	151,0
D	2,0	15,0	155,0
E	2,5	12,0	158,0
F*	1,5	19,0	151,0

* sem purga com N₂.

Os reatores com os respectivos meios foram vedados, purgados (exceto o reator F) com nitrogênio (White Martins 5.0 analítico) e incubados em banho-maria a 35 °C. Para verificar a necessidade ou não de purgar o *headspace* dos reatores, testou-se a eficiência de um sistema sem purga com nitrogênio (reator F).

A avaliação do desempenho dos sistemas foi realizada, coletando-se amostras em intervalos de 4 a 14 horas, para análise de DQO solúvel e pH.

3.2. Avaliação do efeito inibitório dos antibióticos

3.2.1. Efeito individual

Os antibióticos testados foram selecionados com base na sua utilização em granjas de criação de suínos e no grau de absorção pelo trato gastrointestinal dos animais, consistindo em: amoxicilina (A), enrofloxacina (E), gentamicina (G), oxitetraciclina (O) e tilosina (T).

Cada composto foi avaliado em quatro diferentes concentrações: 0,5X, X, 2X e 3X (Quadro 7), sendo X a concentração normalmente encontrada em efluentes de suinocultura, calculada a partir de dados da literatura (BARCELLOS e SOBESTIANSKY, 1996), dosagem fornecida de antibiótico para os suínos e grau de diluição do efluente.

Quadro 7 – Antibióticos utilizados no experimento

Antibiótico	Nome Comercial (Fabricante)	Concentração no reator (mg.L ⁻¹)			
		0,5X	X	2X	3X
Amoxicilina	Amoxicilina 500 mg (Eurofarma Laboratórios Ltda.)	15,7	31,3	62,6	93,9
Enrofloxacina	Enrofloxacina 10% (Vitalfarma)	12,5	25,0	50,0	75,0
Gentamicina	Gentocin® (Schering Plough Veterinária)	3,8	7,5	15,0	22,5
Oxitetraciclina	Oxitetraciclina LA (Bayer)	12,5	25,0	50,0	75,0
Tilosina	Tylan 200 (Elanco Saúde Animal)	5,5	11,0	22,0	33,0

Nos reatores foram colocados a mistura de reação que continha o meio sintético, com ou sem (controle) antibiótico, 50 mg.L⁻¹ de sulfeto de sódio para garantir o poder redutor da mistura e o lodo anaeróbio em quantidade suficiente para conferir relação A/M igual a 1,0 g DQO.g SVT⁻¹. Os reatores foram incubados em banho-maria a 35°C e as amostras foram coletadas em intervalos de 12 horas, durante 120 horas e analisadas quanto ao pH e DQO solúvel.

Nessa fase foram então testados 21 tratamentos constituídos de: cinco antibióticos, em quatro concentrações diferentes, além do controle (sem antibiótico), tendo sido avaliados por meio da eficiência de remoção de DQO e alteração de pH ao longo do tempo. Os tratamentos foram testados em duas repetições, para aumentar a confiabilidade dos resultados.

3.2.2. Efeito combinado

Nessa etapa, primeiramente foram avaliadas combinações de cada uma das respectivas concentrações 0,5X, X, 2X e 3X dos cinco antibióticos, totalizando quatro tratamentos, além do controle.

A partir dos resultados obtidos na etapa anterior, foi selecionada a concentração X de cada antibiótico, para avaliar as demais combinações desses compostos, ou seja, combinações dois a dois, três a três e quatro a quatro, totalizando 25 combinações, conforme demonstrado no Quadro 8.

Nos reatores foram colocados a mistura de reação que continha o meio sintético, com ou sem (controle) antibióticos, as respectivas combinações de antibióticos, 50 mg.L⁻¹ de sulfeto de sódio para garantir o poder redutor e o lodo anaeróbio em quantidade suficiente para conferir relação A/M igual a 1,0 g DQO.g SVT⁻¹. Os reatores foram incubados em banho-maria a 35°C e as amostras foram coletadas em intervalos que variaram entre 12 e 27 horas, durante 120 horas e analisadas quanto ao pH e DQO solúvel.

Os resultados foram obtidos por meio da avaliação da eficiência de remoção de DQO e da alteração do pH ao longo do tempo. Os tratamentos foram testados em duas repetições.

3.3. Métodos analíticos

A demanda química de oxigênio (DQO) foi determinada pelo método colorimétrico (espectrofotômetro Pharmacia Novaspec® II) por refluxo fechado. A acidez e a alcalinidade foram determinadas por métodos titulométricos. Para determinação do potencial hidrogeniônico (pH) foi

Quadro 8 – Concentração de cada antibiótico utilizada nas diferentes combinações

Combinação	Concentração de Antibiótico Utilizada (mg.L ⁻¹)				
	A	E	G	O	T
AEGO	31,3	25,0	7,5	25,0	-
AEGT	31,3	25,0	7,5	-	11,0
AEOT	31,3	25,0	-	25,0	11,0
AGOT	31,3	-	7,5	25,0	11,0
EGOT	-	25,0	7,5	25,0	11,0
AEG	31,3	25,0	7,5	-	-
AEO	31,3	25,0	-	25,0	-
AET	31,3	25,0	-	-	11,0
AGO	31,3	-	7,5	25,0	-
AGT	31,3	-	7,5	-	11,0
AOT	31,3	-	-	25,0	11,0
EGO	-	25,0	7,5	25,0	-
EGT	-	25,0	7,5	-	11,0
EOT	-	25,0	-	25,0	11,0
GOT	-	-	7,5	25,0	11,0
AE	31,3	25,0	-	-	-
AG	31,3	-	7,5	-	-
AO	31,3	-	-	25,0	-
AT	31,3	-	-	-	11,0
EG	-	25,0	7,5	-	-
EO	-	25,0	-	25,0	-
ET	-	25,0	-	-	11,0
GO	-	-	7,5	25,0	-
GT	-	-	7,5	-	11,0
OT	-	-	-	25,0	11,0

Legenda: A = amoxicilina, E = enrofloxacina, G = gentamicina, O = oxitetraciclina e T = tilosina

utilizado um pH-metro digital (Digimed DM 20), em que o eletrodo foi mergulhado diretamente na amostra sem diluição. As concentrações de sólidos totais, fixos e voláteis foram determinadas segundo o método gravimétrico. Essas metodologias encontram-se devidamente descritas no *Standard Methods of Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998).

Para determinar a concentração de sólidos sedimentáveis, utilizou-se a metodologia descrita por IMHOFF e IMHOFF (1996), que consiste na sedimentação da amostra em cone de Imhoff, após 1 hora de repouso.

3.4. Ajuste do modelo cinético e análise estatística

Um modelo cinético de primeira ordem foi ajustado para os dados de eficiência de remoção de matéria orgânica, expressa em DQO, ao longo do tempo, para as diversas combinações avaliadas.

A equação diferencial de cinética que representa o modelo de primeira ordem é expressa como:

$$\frac{dC}{dt} = -k.C$$

em que

C = concentração de matéria orgânica (mg DQO/L);

t = tempo (em horas); e

k = constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica (h^{-1}).

Considerando-se uma concentração inicial C_0 para um tempo inicial t_0 igual a zero e integrando-se a equação anterior, tem-se:

$$C = C_0.e^{-k.t} \quad (1)$$

A eficiência representada pelo percentual de remoção de matéria orgânica (ER) pode ser calculada como:

$$ER = \frac{C_0 - C}{C_0}.100\% \quad (2)$$

Portanto, substituindo-se o resultado (1) em (2), obtém-se o modelo que foi ajustado aos dados referentes à avaliação do efeito inibitório dos antibióticos sobre a eficiência de remoção de DQO pela microbiota:

$$ER = 100.(1 - e^{-k.t}) \quad (3)$$

O ajuste do modelo (3) acrescido do termo referente ao erro aleatório foi realizado com o programa estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary NC) versão 8.2, licenciado para a UFV 2006. Foi utilizado o procedimento NLIN do SAS com o método Gauss-Newton.

A metodologia empregada consistiu em ajustar um modelo com variáveis indicadoras, o que permitiu comparar o parâmetro cinético k do modelo ajustado para o tratamento-controle com os obtidos para cada um dos tratamentos, designados como $k_j^* = k_j + k$:

$$ER_{ij} = 100 \left[1 - \exp \left(- \sum_s I_s k_s + k \right) t_i \right] + \varepsilon_{ij},$$

em que

ER_{ij} = eficiência de remoção de DQO observada para o j -ésimo tratamento no i -ésimo tempo, sendo a variável indicadora $I_s = 1$ se ER_{ij} pertence ao j -ésimo tratamento ($s = j$); e

$I_s = 0$, caso contrário.

Nas inferências estatísticas foram consideradas as seguintes hipóteses:

- H_0 : $k_j = 0$, ou seja, $k_j^* = k$, e o parâmetro cinético do modelo ajustado para o j -ésimo tratamento é estatisticamente igual ao ajustado para o tratamento-controle;
- H_1 : $k_j \neq 0$, ou seja, $k_j^* \neq k$ e o efeito do j -ésimo tratamento é estatisticamente diferente do tratamento-controle.

Além da análise estatística por regressão não-linear das curvas, os resultados obtidos para a região de estabilidade de eficiência de remoção de DQO foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary NC) versão 8.2.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Procedimentos preliminares

4.1.1. Avaliação do tratamento do efluente natural e meio sintético em reator UASB

Para verificar a possibilidade de substituição do efluente de suinocultura por meio sintético na avaliação do efeito de compostos antibióticos sobre a digestão anaeróbia, foi realizado um experimento de comparação entre esses meios. O Quadro 9 apresenta as características físico-químicas do meio sintético formulado e do efluente natural de suinocultura, obtido nas duas coletas realizadas durante o experimento.

Observa-se que tanto o meio sintético quanto o efluente de suinocultura, principalmente o proveniente da segunda coleta, possuem elevada concentração de DQO, indicando elevado conteúdo de matéria orgânica nesses meios.

A variação observada entre as duas coletas do efluente natural se deve às suas características que dependem de vários fatores, dentre eles o grau de diluição, devendo ser ressaltado que os dados obtidos estão de acordo com a maioria dos resultados reportados na literatura (CINTOLI *et al.*, 1995; SÁNCHEZ *et al.*, 1995; LOMAS *et al.*, 2000; OLMÍ, 2002; SÁNCHEZ *et al.*,

Quadro 9 – Características dos efluentes¹

Parâmetros Físico-Químicos	Meio Sintético	Efluente Natural			
		Primeira Coleta		Segunda Coleta	
		Bruto	Filtrado	Bruto	Filtrado
Demanda Química de Oxigênio – DQO (g.L ⁻¹)	4,41 (0,11)	6,44 (0,12)	5,71 (0,02)	16,04 (1,65)	12,88 (1,88)
Sólidos Totais – ST (g.L ⁻¹)	12,81 (1,36)	3,65 (0,30)	3,52 (0,16)	7,70 (0,84)	7,34 (0,65)
Sólidos Totais Fixos - STF (g.L ⁻¹)	2,89 (0,65)	1,32 (0,17)	1,35 (0,05)	2,63 (0,24)	2,30 (0,17)
Sólidos Totais Voláteis – STV (g.L ⁻¹)	9,92 (0,71)	2,34 (0,48)	2,26 (0,15)	5,07 (0,90)	5,04 (0,55)
Sólidos Sedimentáveis - SS (mL.L ⁻¹)	0,0 (0,0)	18,0 (2,0)	9,0 (1,0)	50,0 (6,0)	15,0 (4,0)
Alcalinidade (g CaCO ₃ .L ⁻¹)	0,93 (0,11)	2,53 (0,17)	2,24 (0,06)	3,93 (0,10)	3,40 (0,06)
pH	7,81 (0,02)	7,27 (0,03)	7,33 (0,03)	7,31 (0,02)	6,75 (0,01)

¹ valores médios (desvio-padrão) de triplicatas.

2005). Observa-se ainda que a etapa de pré-tratamento (decantação e filtração) promoveu redução na DQO de 11,3% e de 19,7% para a primeira e segunda coleta, respectivamente.

O efluente de suinocultura obtido na segunda coleta foi diluído na proporção de uma parte de efluente para 2,25 partes de água destilada, para que a DQO se igualasse à do efluente da primeira coleta, não alterando assim as cargas orgânicas volumétricas e as cargas biológicas aplicadas aos reatores.

A Figura 10 representa a eficiência de remoção de DQO para o meio sintético e para o efluente natural de suinocultura, observado durante 94 dias de operação do sistema.

Observa-se que os reatores apresentaram desempenhos similares, tendo alcançado regime permanente após cerca de 40 - 45 dias de operação. Tanto em relação ao meio sintético quanto ao efluente natural, constata-se ainda que quanto maior a carga biológica aplicada, menor a eficiência de remoção de DQO alcançada, provavelmente devido, dentre outros aspectos, ao menor tempo de detenção hidráulica, sendo 2,85 e 1,42 dias para 0,2 e 0,4 kg DQO.kg STV⁻¹.d⁻¹, respectivamente.

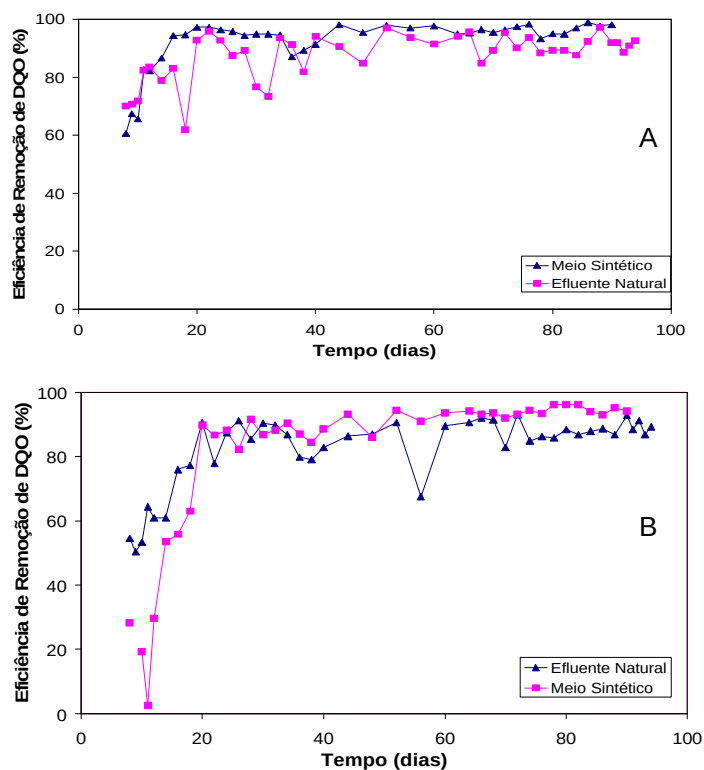


Figura 10 – Variação da eficiência de remoção de DQO. A) carga biológica de $0,2 \text{ kg DQO.kg STV}^{-1}.\text{d}^{-1}$; e B) carga biológica de $0,4 \text{ kg DQO.kg STV}^{-1}.\text{d}^{-1}$.

Para permitir melhor comparação entre os efluentes, estes foram caracterizados em relação a diversos parâmetros físico-químicos após o período de tratamento ao qual foram submetidos, cujos valores se encontram apresentados no Quadro 10.

Nota-se que após o tratamento houve redução acentuada na DQO e no teor de sólidos, além de aumento do pH dos meios. Observa-se ainda diferença na alcalinidade, que antes do tratamento apresentou menor valor para o meio sintético e maior valor para o efluente natural, e ao final do experimento os valores obtidos para todos reatores permaneceram entre $1,7$ e $2,1 \text{ g CaCO}_3.\text{L}^{-1}$. Uma vez que a alcalinidade é um fator diretamente relacionado ao poder tamponante do meio (BITTON, 1994; van HAANDEL e LETTINGA, 1994, CHERNICHARO, 1997), acredita-se que ela tenha favorecido a ação das *archaeas* metanogênicas responsáveis pela conversão dos ácidos orgânicos a CH_4 e CO_2 , aumentando o pH.

Quadro 10 – Parâmetros operacionais e características dos efluentes após o tratamento^{1/}

Parâmetro	Efluente Natural		Meio Sintético	
Vazão (mL.min ⁻¹)	0,5	1,0	0,5	1,0
CB (Kg DQO.Kg SVT ⁻¹ .d ⁻¹)	0,2	0,4	0,2	0,4
COV (Kg DQO. m ⁻³ .d ⁻¹)	2,00	3,99	1,55	3,08
Demanda Química de Oxigênio - DQO (g.L ⁻¹)	0,77 (0,10)	1,07 (0,17)	0,15 (0,02)	0,28 (0,01)
Remoção de DQO (%)	89,1	84,2	97,3	93,4
Sólidos Totais - ST(g.L ⁻¹)	1,25 (0,25)	1,59 (0,05)	1,80 (0,08)	1,96 (0,09)
Sólidos Totais Fixos - STF (g.L ⁻¹)	0,7 (0,31)	1,07 (0,07)	1,22 (0,35)	1,58 (0,05)
Sólidos Totais Voláteis - STV (g.L ⁻¹)	0,54 (0,06)	0,52 (0,11)	0,58 (0,30)	0,38 (0,04)
Sólidos Sedimentáveis - SS (mL.L ⁻¹)	0,4	0,3	0,7	0,0
Alcalinidade (g CaCO ₃ .L ⁻¹)	2,01 (0,01)	2,10 (0,12)	1,85 (0,02)	1,77 (0,01)
pH	8,63 (0,01)	8,56 (0,01)	8,69 (0,03)	8,55 (0,02)

¹ valores médios (desvio-padrão) de triplicatas.

Os valores de eficiência de remoção de DQO alcançados foram menores para o efluente natural, provavelmente devido à sua complexa composição e ao fato de que a DQO do meio sintético se deve principalmente à presença de glicose, açúcar prontamente utilizável pela microbiota, o que facilita sua digestão.

Os resultados mostram ainda que os reatores com meio sintético apresentaram comportamentos similares aos que continham efluente natural, tanto em relação à eficiência de remoção de matéria orgânica, quanto à estabilidade do sistema, o que aponta para a possibilidade de sua utilização como modelo em experimentos de avaliação de sistemas de tratamento de efluentes de suinocultura.

4.1.2. Caracterização do inóculo

O lodo coletado na Pif Paf Alimentos S/A apresentou, antes (lodo bruto) e após o processo de lavagem de células (lodo lavado com meio sintético), as características físico-químicas descritas no Quadro 11.

Quadro 11 – Características do lodo anaeróbio utilizado nos experimentos¹

Parâmetro	Lodo Bruto	Lodo Lavado
Sólidos Totais (g.L ⁻¹)	22,67 (0,45)	27,61 (0,80)
Sólidos Totais Fixos (g.L ⁻¹)	10,80 (0,06)	13,11 (0,19)
Sólidos Totais Voláteis (g.L ⁻¹)	11,87 (0,51)	14,50 (0,97)

^{1/} Valores médios (desvio-padrão) de triplicatas.

Observa-se aumento nos teores das frações de sólidos avaliadas após a lavagem das células. Isso ocorre devido à substituição do sobrenadante proveniente da centrifugação por meio sintético fresco, que apresenta alto teor de matéria orgânica e minerais, com a finalidade de remover resíduos do meio original e iniciar a adaptação do inóculo ao novo meio.

4.1.3. Determinação da concentração inicial de lodo

Com o objetivo de definir a concentração de lodo que deveria ser utilizada nos experimentos, reatores que continham diferentes relações alimento/microrganismo (A/M) foram avaliados em relação à eficiência de remoção de matéria orgânica e estabilidade do pH.

A Figura 11 apresenta a variação da eficiência de remoção de DQO ao longo do tempo, para as relações A/M avaliadas no experimento em batelada, que variaram de 0,5 a 2,5 g DQO.g STV⁻¹. Todos os reatores foram purgados com gás nitrogênio, exceto o referente à relação A/M de 1,5 g DQO.g STV⁻¹, que foi avaliado com e sem purga do *headspace*.

Observa-se aumento mais acentuado da eficiência de remoção de DQO durante as primeiras horas do experimento em batelada, provavelmente devido ao rápido consumo da matéria orgânica de fácil degradação por microrganismos acidogênicos, tendo as demais etapas do processo, como a acetogênese e a metanogênese, sido realizadas de forma mais lenta.

A Figura 12 apresenta a variação do pH do sistema ao longo do tempo, para as relações A/M avaliadas no experimento em batelada.

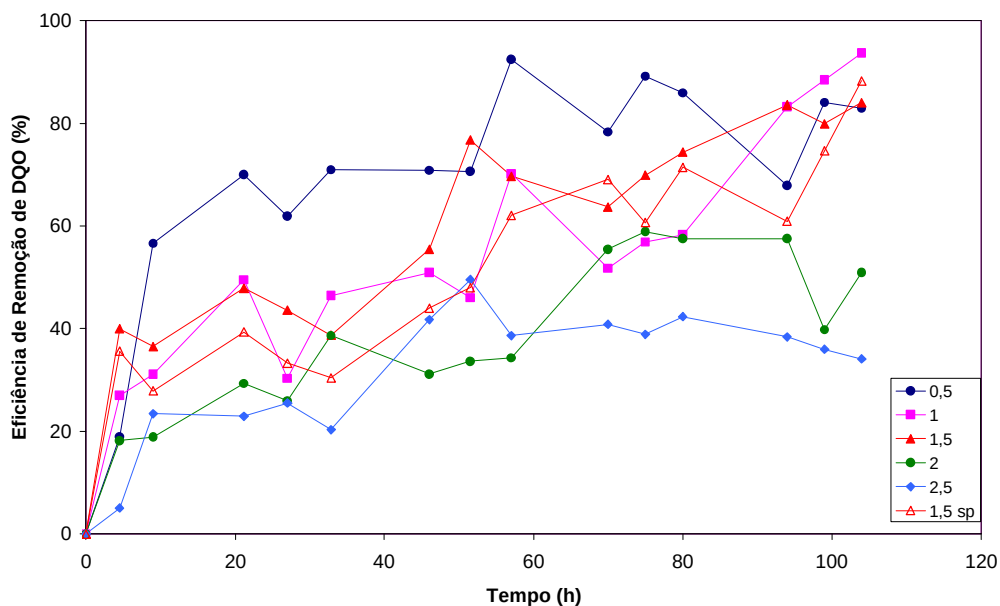


Figura 11 – Variação da eficiência de remoção de DQO para diferentes relações A/M (sp = sem purga).

Verifica-se que valores de pH mais elevados foram obtidos nos sistemas que operaram com as menores relações A/M, o que corresponde ao maior equilíbrio da eficiência de remoção de DQO.

Nota-se que o reator correspondente à relação alimento/microrganismo de 0,5 g DQO.g STV⁻¹ atingiu 70% de eficiência de remoção de DQO em menos de 24 horas, com rápida queda do pH em virtude da produção de ácidos orgânicos e sua posterior elevação, devido ao consumo dos respectivos ácidos durante a metanogênese. Segundo van HAANDEL e LETTINGA (1994), CHERNICHARO (1997) e CHYNOWETH *et al.* (1998), esse comportamento é característico de digestão anaeróbia eficiente.

Para as relações A/M de 1,0 e 1,5 g DQO.g STV⁻¹ e 1,5 g DQO.g STV⁻¹ sem purga do *headspace*, foram observados comportamentos de eficiência de remoção de DQO e de variação de pH semelhantes, o que demonstra ser desnecessária a purga com gás nitrogênio.

Os sistemas que continham os maiores valores de relação A/M avaliados (2,0 e 2,5 g DQO.g STV⁻¹) apresentaram comportamentos característicos de sistemas submetidos a altas cargas orgânicas, em que a

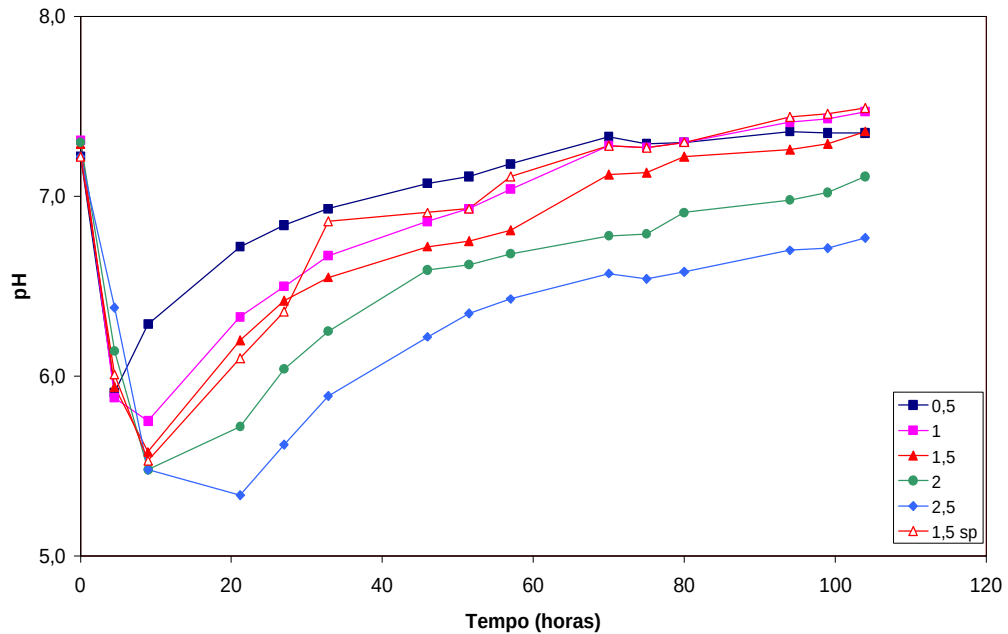


Figura 12 – Variação de pH para diferentes relações A/M (sp = sem purga).

taxa de consumo de ácidos orgânicos voláteis por meio da metanogênese não acompanha sua taxa de produção, resultando em acúmulo desses ácidos no meio. Esse acúmulo de ácidos pode exercer efeito inibitório sobre os microrganismos metanogênicos, prejudicando a digestão anaeróbia (RAJESHWARI et al., 2000; SHULER e KARGI, 2002). A eficiência de remoção de DQO alcançada pelos sistemas foi menor que 60 e 50%, respectivamente.

Com base nos resultados apresentados, a relação alimento/microrganismo adotada para as demais etapas do trabalho foi de 1,0 g DQO.g STV⁻¹. Esse valor encontra-se dentro da faixa de relação A/M (0,5 e 2,5 g DQO.g STV⁻¹) normalmente estabelecida para avaliação da atividade metanogênica específica (AME), correspondente à atividade máxima do grupo de microrganismos metanogênicos, geralmente responsáveis pela etapa limitante do processo de digestão anaeróbia (CHERNICHARO, 1997; JAWED e TARE, 1999; LÓPEZ-FIUZA et al., 2002).

4.2. Avaliação do efeito inibitório dos antibióticos sobre a digestão anaeróbia

O efeito inibitório para as diferentes combinações de antibióticos (tratamentos) sobre a microbiota presente nos reatores, incluindo o controle (sem antibiótico), foi avaliado em relação à eficiência de remoção de DQO e ao comportamento do pH ao longo do tempo.

As inferências foram realizadas, comparando-se cada tratamento com o tratamento-controle.

Nos gráficos apresentados a seguir os pontos plotados referem-se aos valores médios obtidos de duas observações experimentais.

4.2.1. Avaliação do efeito inibitório individual dos antibióticos

4.2.1.1. Amoxicilina

A Figura 13 representa o comportamento observado para a eficiência de remoção de DQO para as diferentes concentrações de amoxicilina (tratamentos) avaliadas (15,7 a 93,9 mg/L) e para o controle.

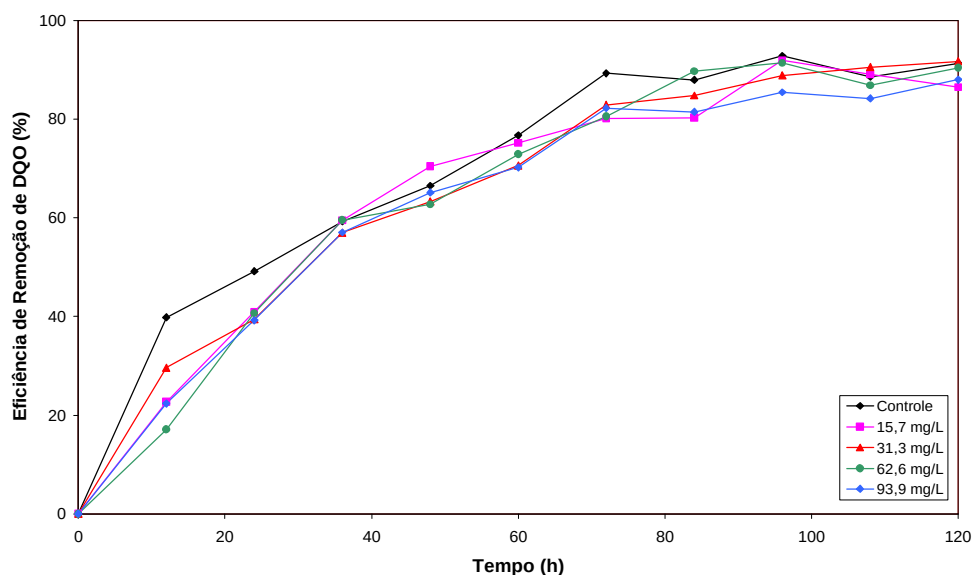


Figura 13 – Eficiência de remoção de DQO nos meios com diferentes concentrações de amoxicilina.

Observa-se aumento mais acentuado da eficiência de remoção de DQO para as primeiras 24 horas do experimento em batelada, o que pode ser justificado pelo rápido consumo da matéria orgânica de fácil degradação por microrganismos acidogênicos, sendo as demais etapas do processo, como a acetogênese e a metanogênese, realizadas de forma mais lenta.

Após cerca de 84 horas, houve estabilização da eficiência de remoção de DQO para todos os tratamentos. Comparando essa região de estabilidade para cada tratamento em relação ao controle, observa-se que apenas o meio com a maior concentração de amoxicilina (93,9 mg/L) diferiu significativamente ($p < 0,05$) do controle, apresentando menor valor médio de eficiência.

No Quadro 12 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para as diferentes concentrações de amoxicilina avaliadas e para o controle.

Quadro 12 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de amoxicilina

Reator	$K_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0263 ^a
Amoxicilina 15,7 mg/L	0,0227*
Amoxicilina 31,3 mg/L	0,0223*
Amoxicilina 63,6 mg/L	0,0222*
Amoxicilina 96,9 mg/L	0,0210*

^a k_j para o controle igual a zero.

* significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

A análise estatística por regressão não-linear das curvas representadas na Figura 13 revelou que o antibiótico amoxicilina apresentou efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia para todas as concentrações avaliadas, devendo-se ressaltar que quanto maior a concentração utilizada, menor foi a constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica estimada.

Segundo CHERNICHARO (1997), em um sistema de digestão anaeróbia, quanto maior a concentração de metano no biogás produzido, maior a eficiência de remoção de matéria orgânica, uma vez que esse gás é produto final desse processo.

Portanto, os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os reportados por LALLAI *et al.* (2002), que, ao avaliarem o efeito de amoxicilina na produção de biogás durante a digestão anaeróbia da fração sólida de resíduo de suinocultura, constataram decréscimo na produção de metano de 25 e 32% para concentrações de amoxicilina de 60 e 120 mg/L, respectivamente.

MASSÉ *et al.* (2000) avaliaram o efeito de penicilina, outro antibiótico pertencente ao grupo de β -lactâmicos, sobre a digestão anaeróbia psicrófila de resíduos de suinocultura. Os autores forneceram ao suíno ração que continha o antibiótico na concentração de 16 mg/kg e verificaram decréscimo de 35% na produção de metano.

As análises estatísticas dos resultados demonstram que, apesar de ter sido observado efeito inibitório de amoxicilina sobre a digestão anaeróbia para todas as concentrações testadas, considerando o tempo total de exposição, apenas a maior concentração deste antibiótico (93,9 mg/L) apresentou efeito inibitório após 84 horas de experimento, mostrando possível adaptação microbiana às demais concentrações.

A Figura 14 representa a variação do pH dos meios com as diferentes concentrações de amoxicilina avaliadas e para o controle.

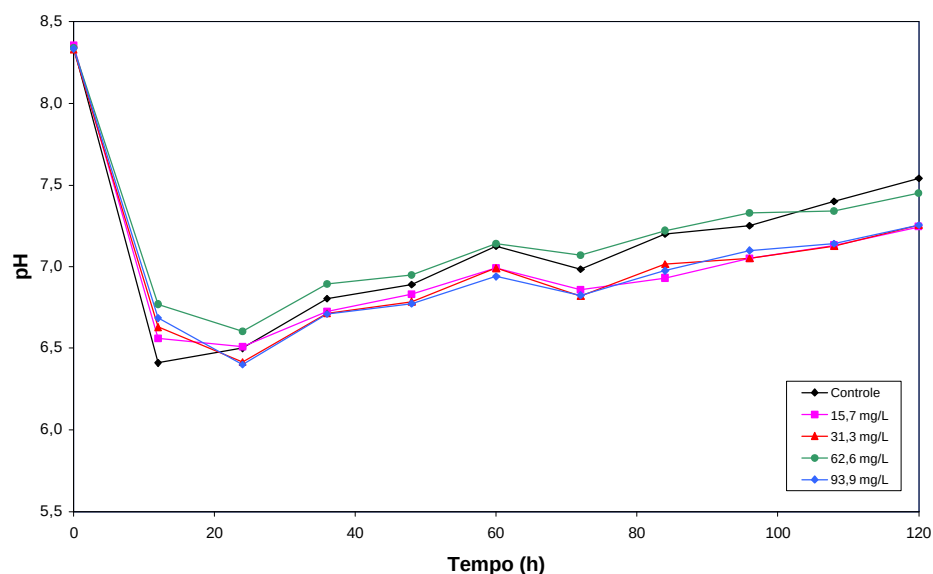


Figura 14 – Variação do pH nos meios com diferentes concentrações de amoxicilina.

Observa-se que não houve relação entre a concentração de amoxicilina e o efeito do antibiótico sobre o pH. Todos os reatores apresentaram o comportamento típico para variação do pH durante a digestão anaeróbia em sistemas em batelada, ou seja, queda acentuada nas primeiras horas, devido à produção de ácidos orgânicos nas fases iniciais do processo, e posterior aumento gradativo, devido ao consumo desses ácidos pelos microrganismos metanogênicos. Ao final do experimento, todos os reatores alcançaram valores de pH acima de 7,2.

4.2.1.2. Enrofloxacin

A Figura 15 mostra o comportamento observado para a eficiência de remoção de DQO do efluente na presença de diferentes concentrações de enrofloxacin (12,5 a 75,0 mg/L) e para o controle.

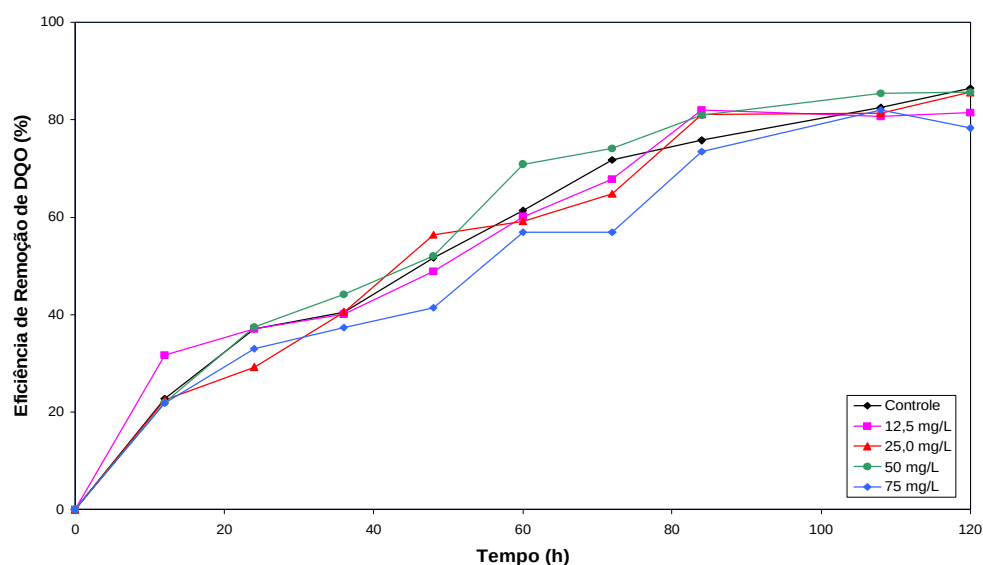


Figura 15 – Eficiência de remoção de DQO nos meios com diferentes concentrações de enrofloxacin.

Nota-se que após aproximadamente 84 horas houve estabilização da eficiência de remoção de DQO para os tratamentos, não tendo sido observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos em relação

ao controle para os valores médios de eficiência de remoção de DQO nessa região de estabilidade.

No Quadro 13 são apresentados os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para as diferentes concentrações de enrofloxacinina avaliadas e para o controle.

Quadro 13 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de enrofloxacinina

Reator	$K_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0164 ^a
Enrofloxacinina 12,5 mg/L	0,0162 ^{ns}
Enrofloxacinina 25,0 mg/L	0,0160 ^{ns}
Enrofloxacinina 50,0 mg/L	0,0180 ^{ns}
Enrofloxacinina 75,0 mg/L	0,0137*

^a k_j' para o controle igual a zero.

^{ns} k do tratamento não difere do controle ($p > 0,05$).

* significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

A análise estatística por regressão não-linear das curvas apresentadas na Figura 15 indica que o antibiótico enrofloxacinina apresentou efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia apenas no meio com a maior concentração de 75,0 mg/L, ou seja, em doses normais (25,0 mg/L) esse antibiótico não apresenta efeito de inibição da atividade anaeróbia do lodo.

Não foram encontrados na literatura dados sobre a avaliação do efeito de enrofloxacinina, ou qualquer outro antibiótico do grupo quinolonas, sobre a digestão anaeróbia de resíduos.

As análises estatísticas dos resultados indicam que, apesar de observado efeito inibitório de amoxicilina sobre a digestão anaeróbia para a maior concentração testada, considerando o tempo total de exposição, não houve efeito inibitório nas últimas horas do experimento, mostrando possível adaptação microbiana a essa concentração, após certo período de exposição.

A Figura 16 apresenta a variação do pH dos meios com diferentes concentrações de enrofloxacinina e do controle.

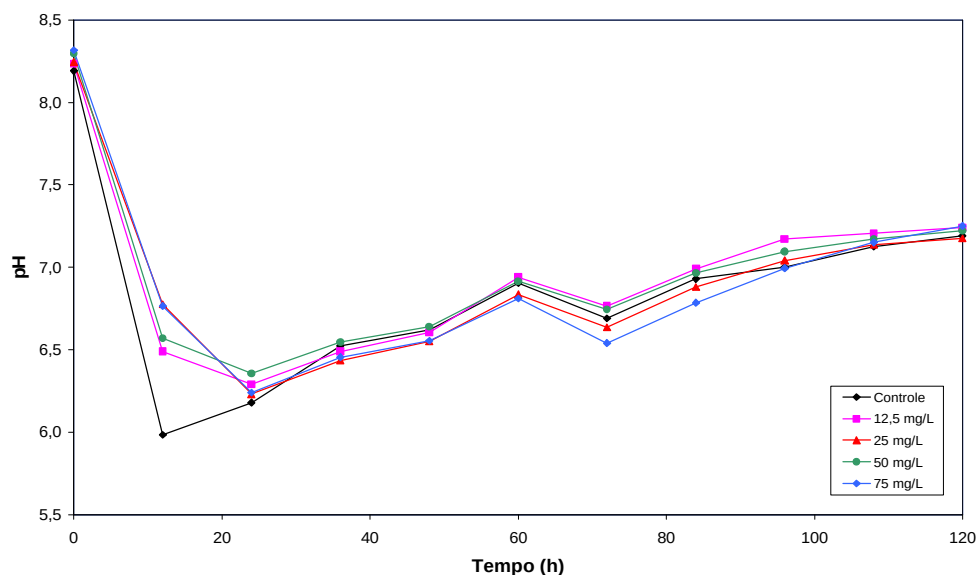


Figura 16 – Variação do pH nos meios com diferentes concentrações de enrofloxacin.

Observa-se pequeno atraso na queda do pH para as concentrações de enrofloxacin testadas, tendo sido obtidos valores de pH acima de 7,18 nos meios avaliados.

4.2.1.3. Gentamicina

A Figura 17 representa o comportamento observado para a eficiência de remoção de DQO na presença de diferentes concentrações de gentamicina (tratamentos) (3,8 a 22,5 mg/L) e para o controle.

Observa-se que após cerca de 84 horas houve estabilização da eficiência de remoção de DQO para os tratamentos, não tendo sido observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos para os valores médios de eficiência de remoção de DQO nessa região de estabilidade.

No Quadro 14 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para as diferentes concentrações de gentamicina avaliadas e para o controle.

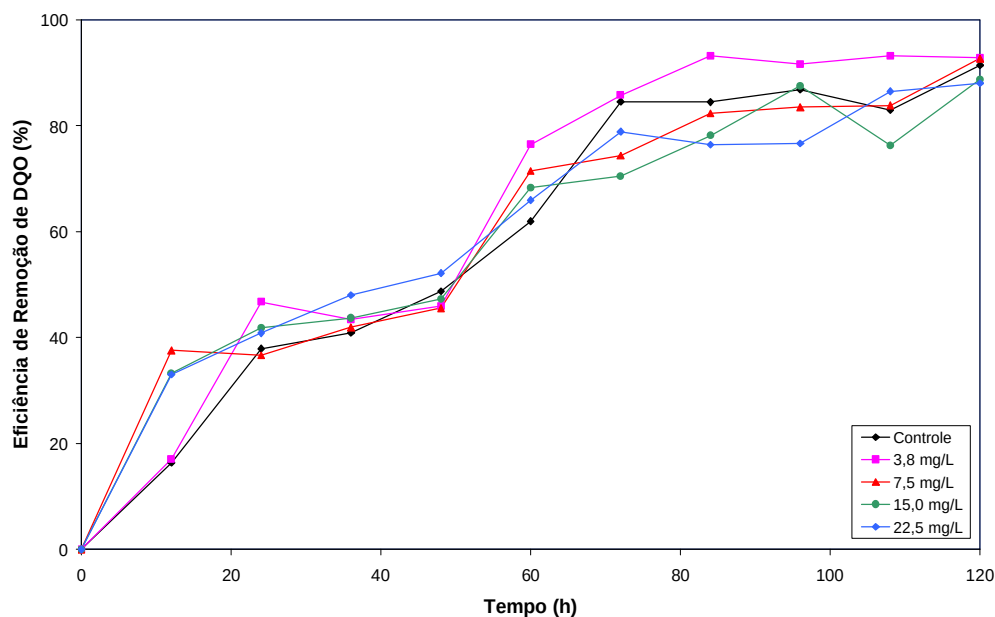


Figura 17 – Eficiência de remoção de DQO nos meios com diferentes concentrações de gentamicina.

Quadro 14 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de gentamicina

Reator	$K_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0182 ^a
Gentamicina 3,8 mg/L	0,0213 ^{ns}
Gentamicina 7,5 mg/L	0,0185 ^{ns}
Gentamicina 15,0 mg/L	0,0178 ^{ns}
Gentamicina 22,5 mg/L	0,0180 ^{ns}

^a k_j' para o controle igual a zero.

^{ns} k do tratamento não difere do controle ($p > 0,05$).

A análise estatística por regressão não-linear das curvas representadas na Figura 17 mostra que o antibiótico gentamicina não se apresentou inibitório à digestão anaeróbia do meio para nenhuma das concentrações testadas. Dessa forma, pode-se constatar que, em doses normalmente administradas, esse antibiótico não afeta a eficiência de remoção de matéria orgânica pela microbiota anaeróbia presente no lodo.

Esse resultado é de extrema importância, pois, de acordo com PAIVA NETTO (1984) e SPINOSA (1996), o antibiótico gentamicina é utilizado de forma intensiva na suinocultura, principalmente em infecções de leitões recém-nascidos.

A literatura não reporta dados sobre a avaliação do efeito de gentamicina, ou qualquer outro antibiótico do grupo aminoglicosídeo, sobre a digestão anaeróbia de resíduos, o que dificulta a discussão dos resultados obtidos para esse antibiótico.

A Figura 18 mostra a variação do pH do meio com diferentes concentrações de gentamicina e para o controle.

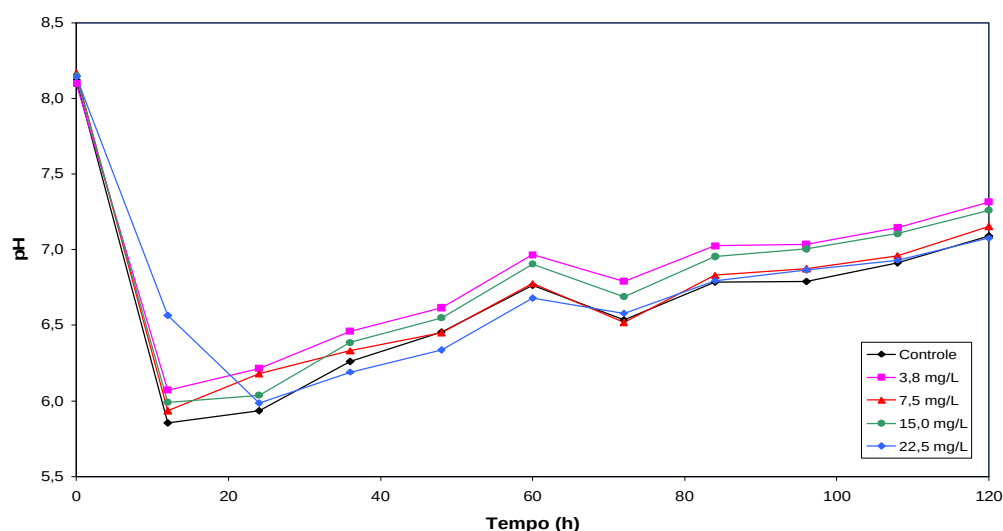


Figura 18 – Variação do pH nos meios com diferentes concentrações de gentamicina.

Observa-se pequeno atraso na queda do pH para a maior concentração de gentamicina avaliada, porém esse atraso não contribuiu para redução na eficiência da digestão anaeróbia, tendo sido obtidos valores de pH final acima de 7,08 para os meios avaliados.

4.2.1.4. Oxitetraciclina

A Figura 19 apresenta o comportamento observado para remoção de DQO em diferentes concentrações de oxitetraciclina (tratamentos) (12,5 a 75,0 mg/L) e para o controle.

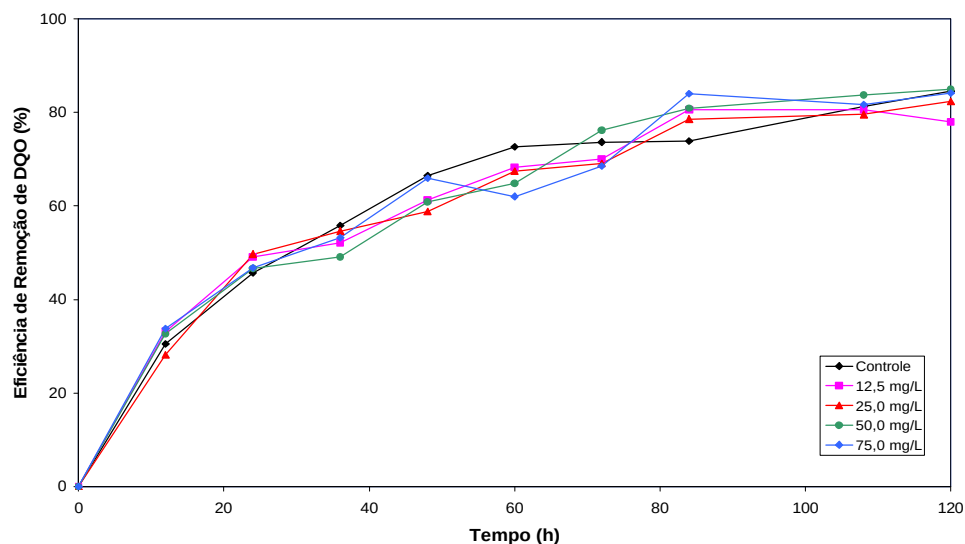


Figura 19 – Eficiência de remoção de DQO nos meios com diferentes concentrações de oxitetraciclina.

Nota-se que após aproximadamente 84 horas houve estabilização da eficiência de remoção de DQO para os tratamentos, não tendo sido observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos para os valores médios de eficiência de remoção de DQO nessa região de estabilidade.

No Quadro 15 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para as diferentes concentrações de oxitetraciclina avaliadas e para o controle.

A análise estatística por regressão não-linear das curvas (Figura 18) indica que o antibiótico oxitetraciclina não se apresentou inibitório à digestão anaeróbia do meio para nenhuma das concentrações testadas. Dessa forma, pode-se constatar que, em doses normalmente administradas, esse antibiótico não afeta a eficiência de remoção de matéria orgânica pela microbiota anaeróbia presente no lodo.

Quadro 15 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de oxitetraciclina

Reator	$K_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0205 ^a
Oxitetraciclina 12,5 mg/L	0,0194 ^{ns}
Oxitetraciclina 25,0 mg/L	0,0191 ^{ns}
Oxitetraciclina 50,0 mg/L	0,0196 ^{ns}
Oxitetraciclina 75,0 mg/L	0,0198 ^{ns}

^a k_j' para o controle igual a zero.

^{ns} k do tratamento não difere do controle ($p > 0,05$).

Os resultados obtidos para oxitetraciclina estão de acordo com os reportados por LALLAI *et al.* (2002), que não constataram decréscimo na produção de gás metano ao avaliarem o efeito desse antibiótico, nas concentrações de 125 e 250 mg/L, durante a digestão anaeróbia da fração sólida de resíduo de suinocultura.

Os resultados encontrados neste trabalho são ainda similares aos obtidos por VAREL e HASHIMOTO (1981), que não encontraram efeito inibitório ao avaliarem o efeito de clortetraciclina, outro antibiótico integrante do grupo das tetraciclina, na produção de gás metano durante a digestão anaeróbia de esterco bovino.

MASSÉ *et al.* (2000) avaliaram o efeito de tetraciclina sobre a digestão anaeróbia psicrófila de resíduos de suinocultura. Os autores forneceram aos animais ração que continha o antibiótico na concentração de 550 mg/kg e constataram que não houve efeito do composto sobre a eficiência de remoção de matéria orgânica, embora tenha ocorrido um decréscimo de 25% na produção de metano. Os resultados obtidos por esses autores são semelhantes aos reportados por ARIKAN *et al.* (2006), que verificaram redução de 27% na produção de biogás durante a digestão anaeróbia de esterco de bezerros previamente tratados com oxitetraciclina durante cinco dias, na concentração de 22 mg.kg⁻¹animal.d⁻¹.

A Figura 20 apresenta a variação do pH dos meios com diferentes concentrações de gentamicina e do controle.

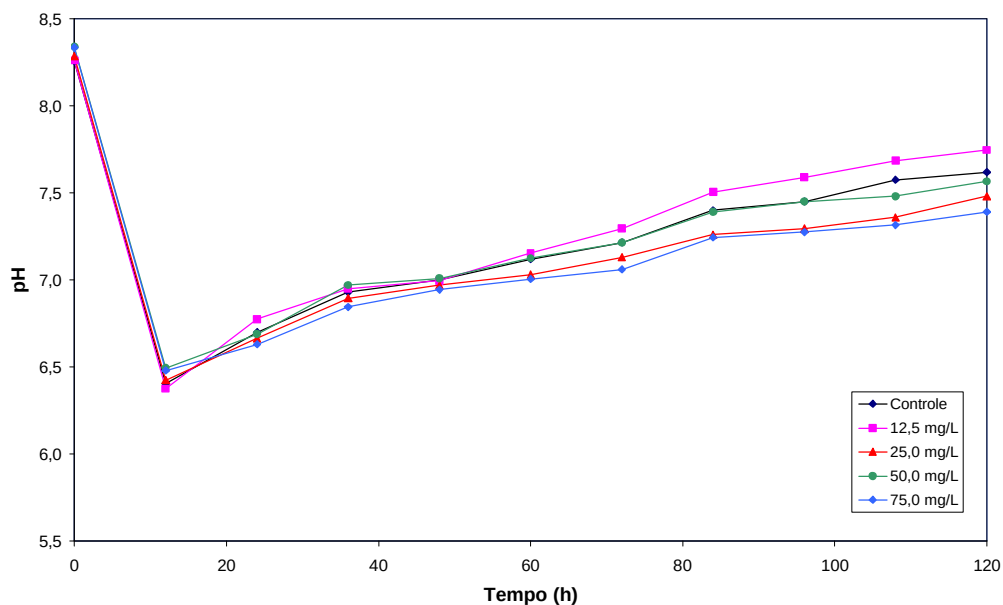


Figura 20 – Variação do pH nos meios com diferentes concentrações de oxitetraciclina.

Observa-se que não houve relação entre a concentração de oxitetraciclina e o efeito desse antibiótico sobre o pH. Todos os reatores apresentaram o comportamento típico para variação do pH durante a digestão anaeróbia em sistemas em batelada, alcançando, ao final do experimento, valores de pH acima de 7,2.

4.2.1.5. Tilosina

A Figura 21 apresenta o comportamento observado para a remoção de DQO do meio na presença de diferentes concentrações de tilosina (tratamentos) (5,5 a 33,0 mg/L) e para o controle.

Observa-se que após 98 horas de batelada as eficiências de remoção de DQO de todas as concentrações se estabilizaram, tendo sido observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores médios de eficiência de remoção de DQO dos tratamentos em relação ao controle para as maiores concentrações de tilosina avaliadas (22,0 e 33,0 mg/L).

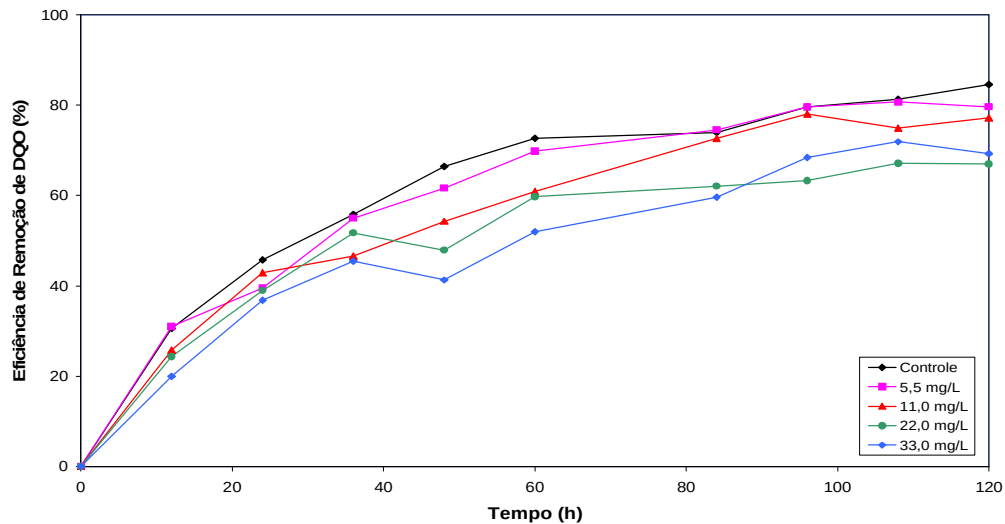


Figura 21 – Eficiência de remoção de DQO nos meios com diferentes concentrações de tilosina.

No Quadro 16 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para as diferentes concentrações de tilosina avaliadas e para o controle.

Quadro 16 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios acrescidos de tilosina

Reator	$K_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0203 ^a
Tilosina 5,5 mg/L	0,0187 ^{ns}
Tilosina 11,0 mg/L	0,0159*
Tilosina 22,0 mg/L	0,0129*
Tilosina 33,0 mg/L	0,0122*

^a k_j' para o controle igual a zero.

^{ns} k do tratamento não difere do controle ($p > 0,05$).

* significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

A análise estatística por regressão não-linear das curvas representadas na Figura 21 revelou que o antibiótico tilosina não apresentou efeito inibitório à digestão anaeróbia do meio apenas para a menor

concentração avaliada, ou seja, em doses normalmente administradas esse antibiótico afeta a eficiência de remoção de matéria orgânica da microbiota anaeróbia presente no lodo, devendo ser ressaltado que quanto maior a concentração de amoxicilina utilizada menor foi a estimativa da velocidade de consumo de matéria orgânica.

Esse resultado é semelhante ao reportado por HILPERT *et al.* (1984), que ao avaliarem o efeito de tilosina na concentração de 100 mg/L sobre a digestão anaeróbia de esgoto doméstico obtiveram redução de 35% na produção de gás metano.

Por outro lado, MASSÉ *et al.* (2000) avaliaram o efeito de tilosina sobre a digestão anaeróbia psicrófila de resíduos de suinocultura, fornecendo ao suíno ração que continha o antibiótico na concentração de 110 mg/kg, não verificando efeito do composto sobre a eficiência de remoção de matéria orgânica ou sobre a produção de biogás. Esse resultado provavelmente se deve ao fato de que, ao ser diluído com urina e água de limpeza, o antibiótico pode ter apresentado concentração inferior às avaliadas nesse trabalho.

Os resultados obtidos pelas análises estatísticas dos dados indicam que, apesar de observado efeito inibitório de tilosina sobre a digestão anaeróbia para a concentração de 11 mg/L, esta não apresentou efeito inibitório ao final do experimento, mostrando possível adaptação microbiana a essa concentração, após certo período de exposição.

A Figura 22 apresenta a variação do valor de pH dos meios contendo diferentes concentrações de gentamicina e do controle.

Observa-se queda um pouco menos acentuada do valor de pH para a maior concentração de tilosina avaliada, indicando possível inibição do antibiótico sobre os microrganismos produtores de ácidos, tendo sido obtidos valores de pH acima de 7,32 nos meios avaliados.

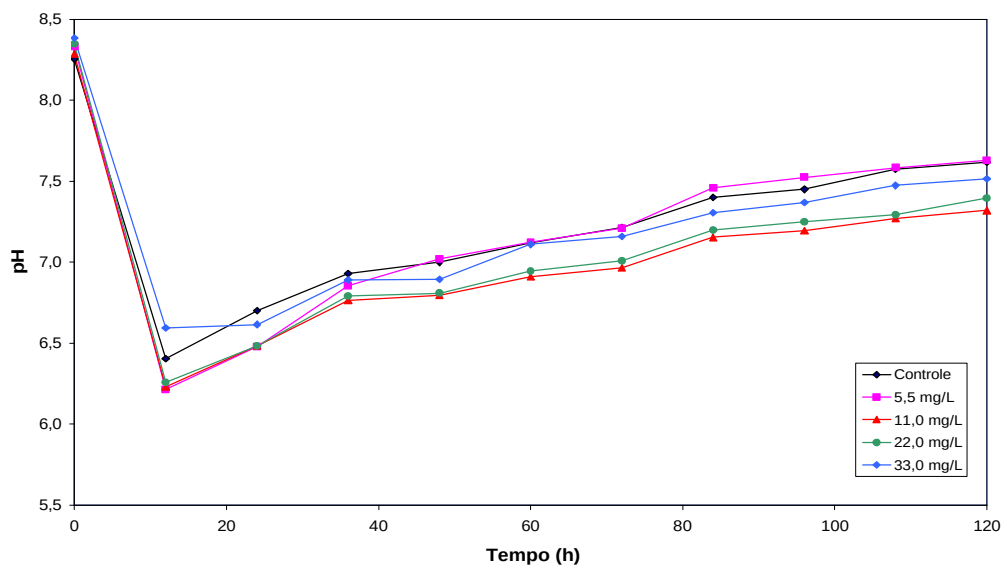


Figura 22 – Variação do pH nos meios com diferentes concentrações de tilosina.

4.2.2. Avaliação do efeito combinado dos antibióticos sobre a digestão anaeróbia

Nessa etapa do trabalho, não foi possível comparar o efeito combinado dos antibióticos com os obtidos por outros autores, devido à ausência desse tipo de informação na literatura, uma vez que os trabalhos encontrados reportam apenas dados do efeito inibitório individual dos respectivos compostos.

4.2.2.1. Avaliação do efeito da combinação de todos os antibióticos

Na Figura 23 está o comportamento observado para remoção de DQO do efluente na presença de diferentes combinações dos cinco antibióticos (tratamentos) avaliados (0,5 a 3X) e para o controle.

Observa-se que o tratamento-controle alcançou cerca de 50% de eficiência de remoção de DQO nas primeiras 24 horas de batelada, devendo ser ressaltado que, para os demais tratamentos, a eficiência de remoção alcançada não ultrapassou 30%.

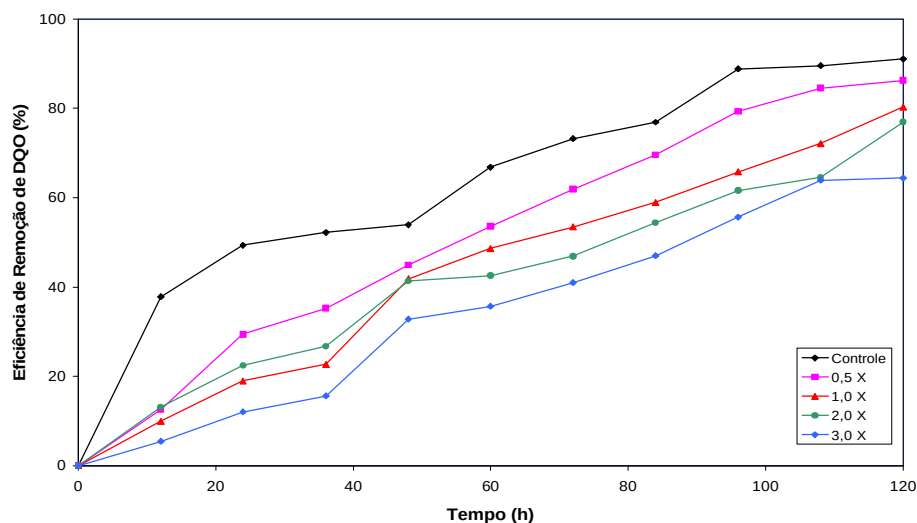


Figura 23 – Avaliação da remoção de DQO nos meios com diferentes combinações dos cinco antibióticos testados. X = concentrações de 31,3, 25,0, 7,5, 25,0 e 11,0 mg.L⁻¹ de amoxicilina, enrofloxacina, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, respectivamente.

Houve estabilização da remoção de DQO do tratamento-controle nas últimas horas de experimento. Comparando os valores médios de eficiência de remoção de DQO do controle na região de estabilidade com as obtidas para os demais tratamentos, conclui-se que apenas a menor combinação de todos os antibióticos (0,5X) não diferiu significativamente do controle ($p > 0,05$).

No Quadro 17 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para as diferentes combinações dos cinco antibióticos avaliados e para o controle.

A análise estatística por regressão não-linear das curvas representadas na Figura 23 indica que a combinação dos cinco antibióticos avaliados possui efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia do meio até mesmo para as menores concentrações desses compostos, ou seja, em doses normalmente administradas a combinação dos diversos compostos afeta a eficiência de remoção de matéria orgânica da microbiota anaeróbia presente no lodo, devendo ser ressaltado que quanto maior a concentração utilizada na combinação, menor foi a constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica.

Quadro 17 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios com combinações dos cinco antibióticos

Reator	$k_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0204 ^a
0,5 X	0,0142*
1,0 X	0,0108*
2,0 X	0,0099*
3,0 X	0,0079*

X = concentrações de 31,3; 25,0; 7,5; 25,0 e 11,0 mg.L⁻¹ de amoxicilina, enrofloxacina, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, respectivamente.

^a k_j' para o controle igual a zero.

* significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos pelas análises estatísticas dos dados indicam que, apesar de observado efeito inibitório de todas as combinações dos cinco antibióticos sobre a digestão anaeróbia do meio, considerando o tempo total de exposição, a combinação das menores concentrações (0,5X) não apresentou efeito inibitório nas últimas horas do experimento, possivelmente devido à adaptação microbiana às condições adversas do meio.

A Figura 24 mostra a variação do pH para as diferentes combinações dos cinco antibióticos (tratamentos) (0,5 a 3X) e para o controle.

Constatou-se atraso na queda do valor de pH em relação ao controle para as combinações de menores concentrações dos antibióticos (0,5X e X). Para as demais combinações (2X e 3X) observou-se, além de atraso, queda pouco acentuada do pH. Esses resultados indicam que os microrganismos produtores de ácidos foram inibidos pela combinação dos antibióticos testados, tendo sido obtidos, ao final do experimento, valores de pH acima de 6,89 nos meios avaliados.

De acordo com os resultados obtidos, devido ao fato de as combinações dos cinco antibióticos avaliados terem apresentado efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia do meio, optou-se por avaliar as demais combinações dos antibióticos (combinados 2 a 2, 3 a 3 e 4 a 4) na concentração normalmente utilizada (concentração X de cada um dos compostos).

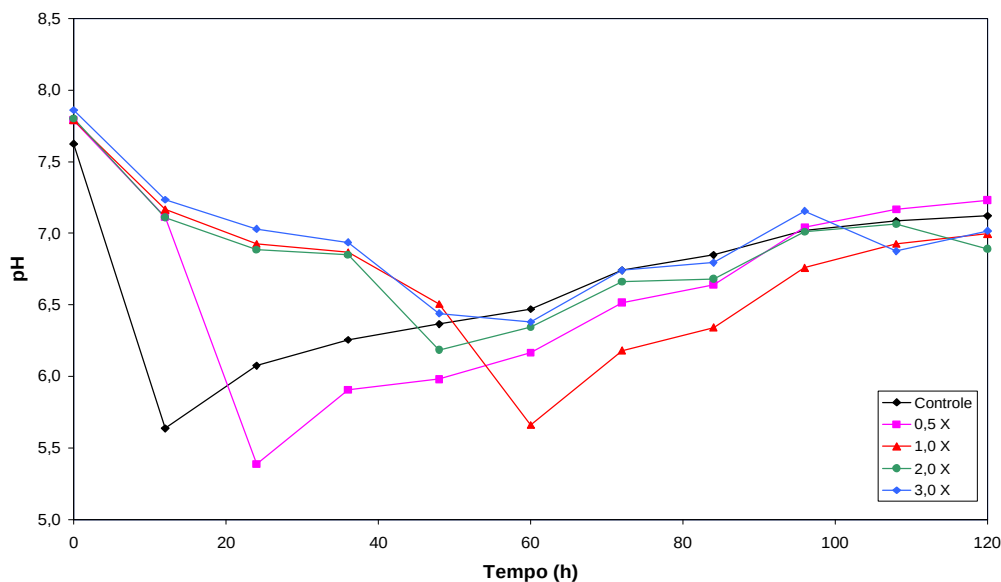


Figura 24 – Variação do pH nos meios com diferentes combinações dos cinco antibióticos testados. X = concentrações de 31,3, 25,0, 7,5, 25,0 e 11,0 mg.L⁻¹ de amoxicilina, enrofloxacin, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, respectivamente.

4.2.2.2. Avaliação do efeito dos antibióticos combinados quatro a quatro

A Figura 25 apresenta o comportamento observado para remoção de DQO dos meios com os cinco antibióticos combinados quatro a quatro (tratamentos) e para o controle.

Observa-se que o tratamento-controle alcançou cerca de 50% de eficiência de remoção de DQO nas primeiras 24 horas de batelada, devendo ser ressaltado que, para os demais tratamentos, a eficiência de remoção alcançada não ultrapassou 35%.

Comparando os valores médios de eficiência de remoção de DQO do controle com as obtidas para os demais tratamentos, após 93 horas de experimento, conclui-se que apenas a combinação dos antibióticos amoxicilina, enrofloxacin, gentamicina e oxitetraciclina não diferiu significativamente do controle ($p > 0,05$).

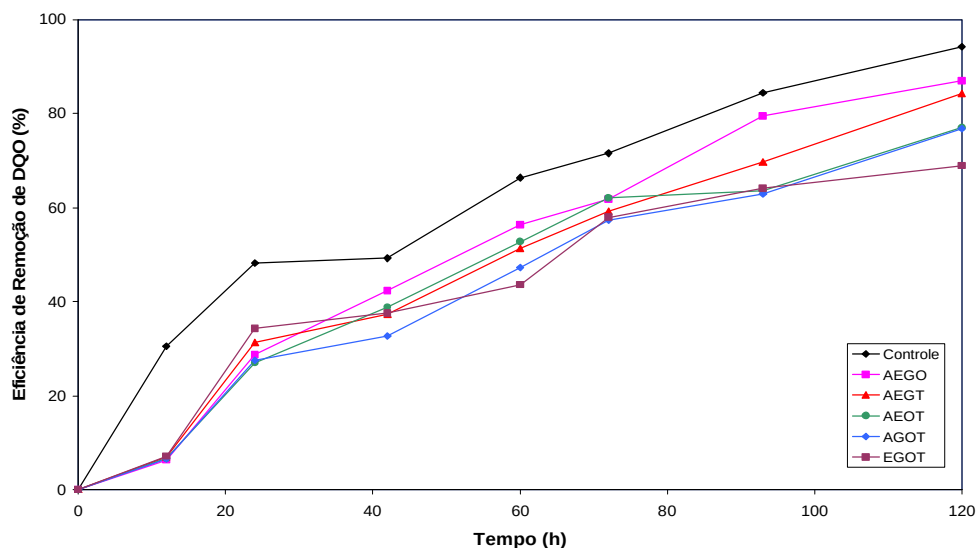


Figura 25 – Avaliação da remoção de DQO nos meios com diferentes combinações quatro a quatro dos antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacina 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹.

No Quadro 18 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para as diferentes combinações quatro a quatro dos cinco antibióticos avaliados e para o controle.

Quadro 18 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios com os cinco antibióticos combinados quatro a quatro

Reator	$k_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0199 ^a
AEGO	0,0142*
AEGT	0,0127*
AEOT	0,0120*
AGOT	0,0110*
EGOT	0,0109*

A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacina 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹

^a k_j para o controle igual a zero.

* significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

A análise estatística por regressão linear das curvas (Figura 25) mostra que todas as combinações quatro a quatro dos cinco antibióticos avaliados neste trabalho possuem efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia, ou seja, em doses normalmente administradas essas combinações afetam a eficiência de remoção de matéria orgânica da microbiota anaeróbia presente no lodo. Isso pode ter ocorrido devido à presença de pelo menos um dos antibióticos que apresentaram efeito inibitório quando testados isoladamente nessa concentração, ou seja, a amoxicilina e a tilosina. Outra provável justificativa seria o efeito sinérgico entre os compostos testados, potencializando o efeito isolado, o que torna o efeito global significativo.

Os resultados obtidos pelas análises estatísticas dos dados indicam que, apesar de observado efeito inibitório de todas as combinações quatro a quatro dos cinco antibióticos sobre a digestão anaeróbia do meio, considerando o tempo total de exposição, a combinação de amoxicilina, enrofloxacin, gentamicina e oxitetraciclina não apresentou efeito inibitório nas últimas horas do experimento, possivelmente devido à adaptação microbiana às condições adversas do meio.

A Figura 26 mostra a variação do pH dos meios para as combinações quatro a quatro dos cinco antibióticos (tratamentos) e para o controle.

Observa-se atraso na queda do valor de pH para todas as combinações, indicando que os microrganismos produtores de ácidos foram inibidos pela combinação dos antibióticos testados, sendo encontrados valores de pH final acima de 6,91.

4.2.2.3. Avaliação do efeito dos antibióticos combinados três a três

A Figura 27 apresenta o comportamento observado para as eficiências de remoção de DQO dos meios com os cinco antibióticos combinados três a três (tratamentos) e para o controle.

Observa-se que o tratamento-controle alcançou cerca de 50% de eficiência de remoção de DQO nas primeiras 24 horas de batelada, devendo ser ressaltado que, para os demais tratamentos, a eficiência de remoção alcançada não ultrapassou 35%.

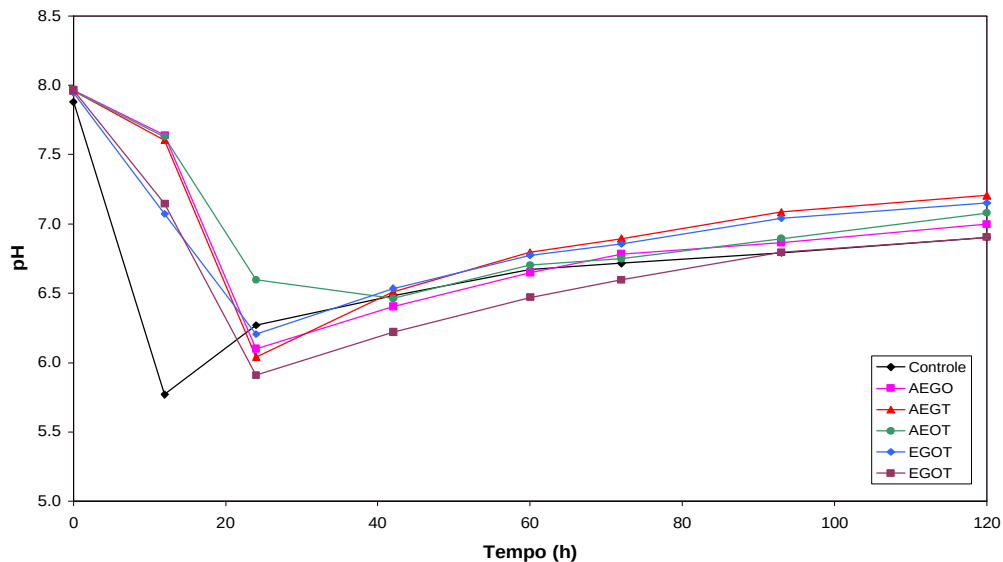


Figura 26 – Variação do pH nos meios com diferentes combinações quatro a quatro dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacin 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹.

Comparando os valores médios de eficiência de remoção de DQO do controle com as obtidas para os demais tratamentos, após 93 horas de experimento, conclui-se que as combinações de amoxicilina, enrofloxacin e gentamicina; amoxicilina, gentamicina e tilosina; amoxicilina, oxitetraciclina e tilosina; enrofloxacin, gentamicina e oxitetraciclina; e gentamicina, oxitetraciclina e tilosina não diferiram significativamente do controle ($p > 0,05$).

No Quadro 19 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para os cinco antibióticos combinados três a três e para o controle.

A análise estatística por regressão linear das curvas (Figura 27) indica que todas as combinações três a três dos cinco antibióticos avaliados apresentaram efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia do meio, uma vez que as constantes de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica estimadas para essas combinações foram menores do que a observada

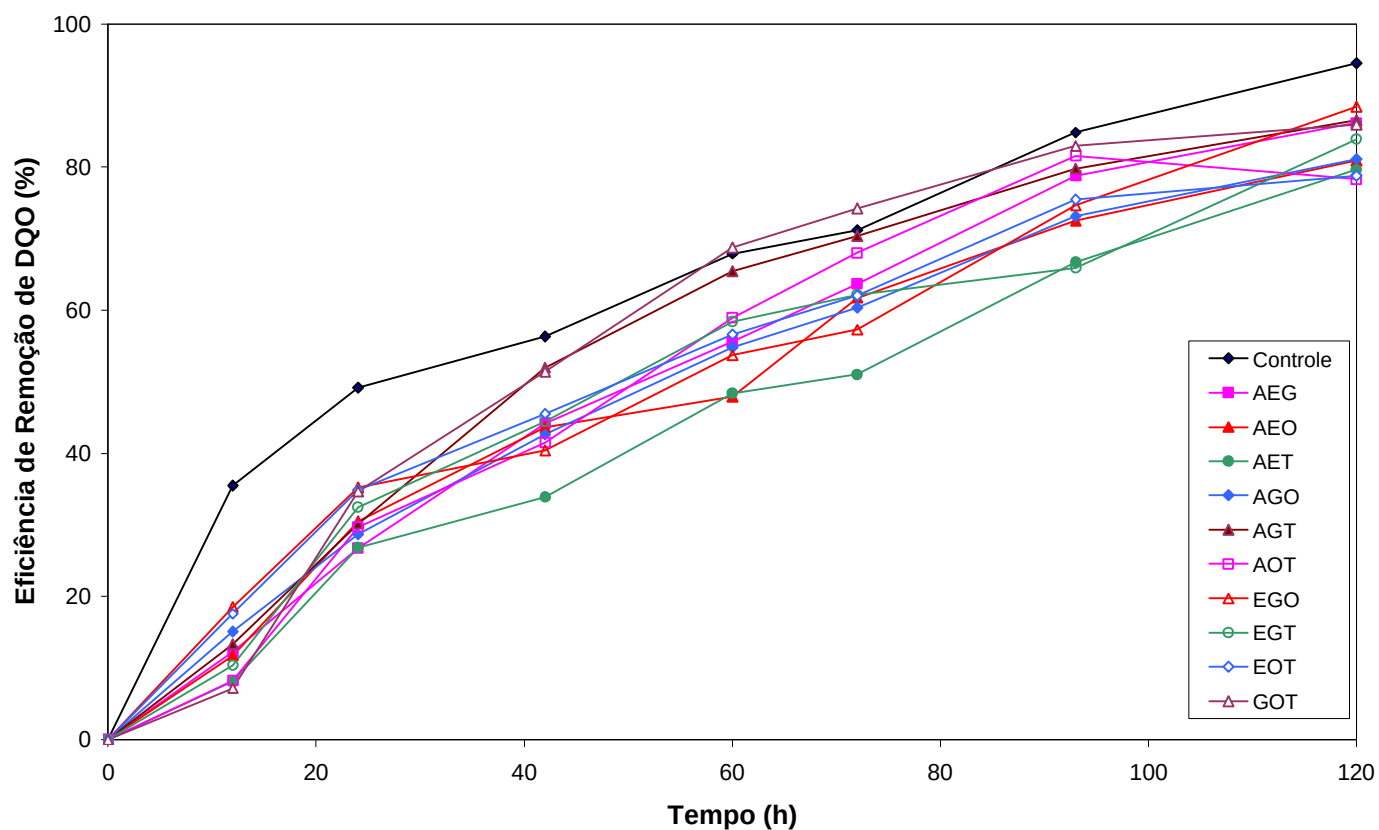


Figura 27 – Avaliação da remoção de DQO nos meios com diferentes combinações três a três dos antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacina 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹.

Quadro 19 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica nos meios com os cinco antibióticos combinados três a três

Reator	$k_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0215 ^a
AEG	0,0145*
AEO	0,0131*
AET	0,0112*
AGO	0,0135*
AGT	0,0168*
AOT	0,0146*
EGO	0,0140*
EGT	0,0137*
EOT	0,0144*
GOT	0,0176*

A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacin 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹

^a k_j' para o controle igual a zero.

* significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

para o controle, ou seja, em doses normalmente administradas essas combinações afetam a eficiência de remoção de matéria orgânica da microbiota anaeróbia presente no lodo.

Os resultados obtidos pelas análises estatísticas dos dados indicam que, apesar de observado efeito inibitório de todas as combinações três a três dos cinco antibióticos sobre a digestão anaeróbia do meio, considerando o tempo total de exposição, algumas combinações (AEG, AGT, AOT, EGO e GOT) não apresentaram efeito inibitório nas últimas horas do experimento, possivelmente devido à adaptação microbiana às condições adversas do meio.

O efeito inibitório observado para a combinação dos antibióticos que não apresentaram inibição à digestão quando avaliados isoladamente, na mesma concentração, ou seja, enrofloxacin, gentamicina e oxitetraciclina, pode ter sido devido ao efeito sinérgico entre esses compostos.

A Figura 28 mostra a variação do pH dos meios com as combinações três a três dos cinco antibióticos (tratamentos) e do controle.

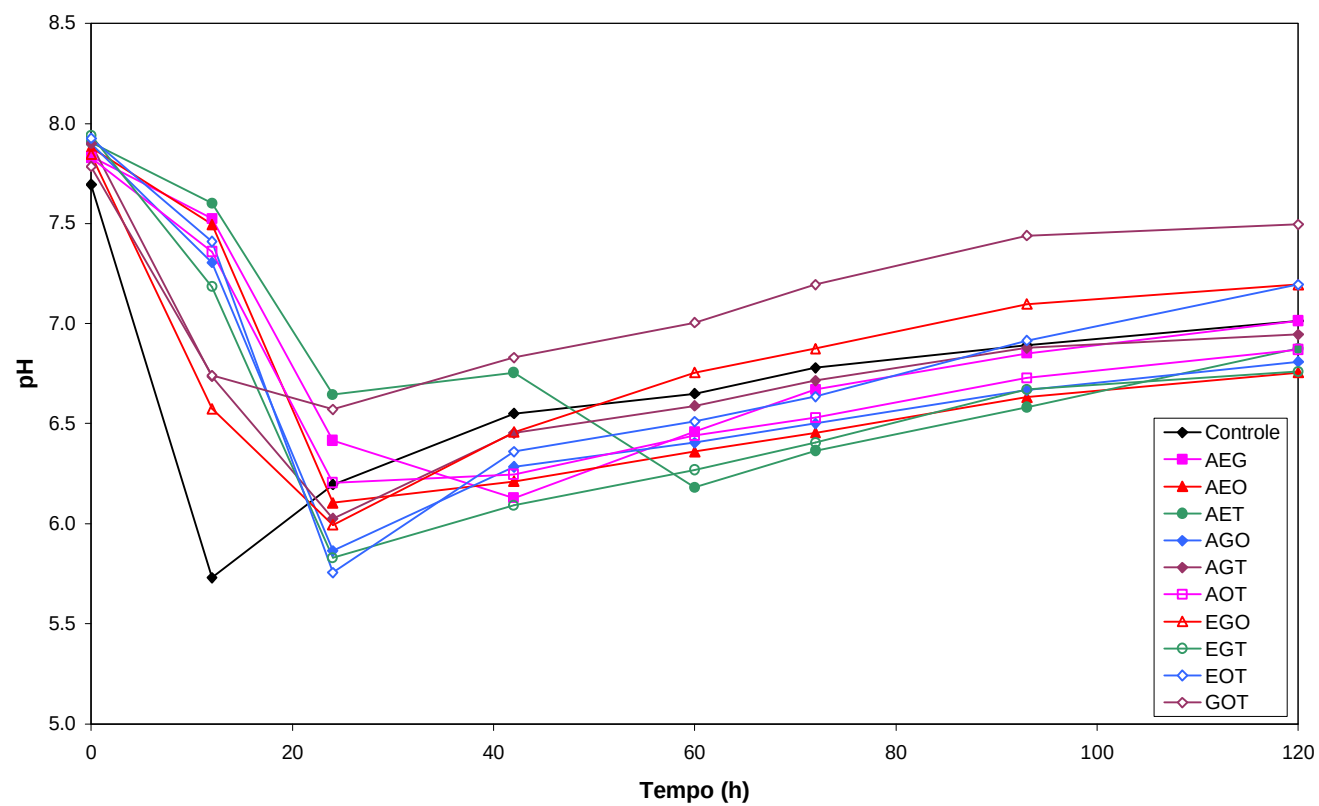


Figura 28 – Variação de pH nos meios com diferentes combinações três a três dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina $31,3 \text{ mg.L}^{-1}$, E = enrofloxacin $25,0 \text{ mg.L}^{-1}$, G = gentamicina $7,5 \text{ mg.L}^{-1}$, O = oxitetraciclina $25,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e T = tilosina $11,0 \text{ mg.L}^{-1}$.

Constatou-se atraso na queda do pH para todas as combinações, tendo sido observada também queda pouco acentuada para algumas dessas combinações, indicando que os microrganismos produtores de ácidos foram inibidos pela combinação dos antibióticos testados, sendo alcançados valores de pH final acima de 6,80.

4.2.2.4. Avaliação do efeito dos antibióticos combinados dois a dois

A Figura 29 mostra o comportamento observado para as eficiências de remoção de DQO dos meios com os cinco antibióticos combinados dois a dois (tratamentos) e para o controle.

Observa-se que o tratamento-controle alcançou cerca de 50% de eficiência de remoção de DQO nas primeiras 24 horas de batelada.

Comparando os valores médios de eficiência de remoção de DQO do controle com as obtidas para os demais tratamentos, após 93 horas de experimento, conclui-se que apenas as combinações de enrofloxacina e oxitetraciclina; gentamicina e oxitetraciclina; e oxitetraciclina e tilosina diferiram significativamente do controle ($p < 0,05$).

No Quadro 20 estão os valores estimados da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica ($k_j^* = k_j + k$) para os cinco antibióticos combinados dois a dois e para o controle.

A análise estatística por regressão não-linear das curvas representadas na Figura 29 indica que, com exceção da combinação de amoxicilina com gentamicina, todas as combinações dois a dois dos cinco antibióticos avaliados possuem efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia do meio, já que as estimativas de velocidades de consumo de matéria orgânica para essas combinações foram menores do que a observada para o controle, ou seja, em doses normalmente administradas essas combinações afetam a eficiência de remoção de matéria orgânica da microbiota anaeróbia presente no lodo.

Os resultados obtidos pelas análises estatísticas dos dados indicam que, apesar de observado efeito inibitório de todas as combinações dois a dois dos cinco antibióticos, exceto a combinação de amoxicilina com

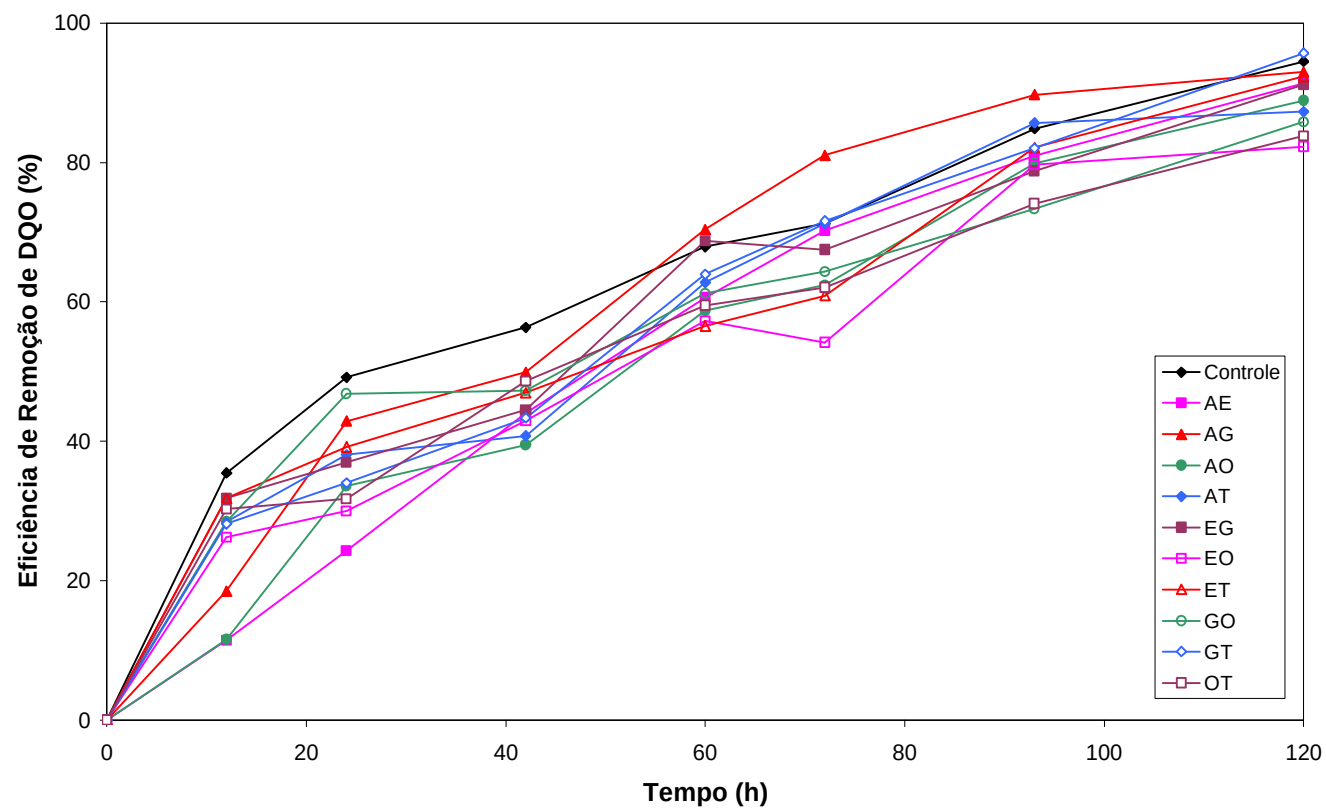


Figura 29 – Avaliação da remoção de DQO nos meios com diferentes combinações dois a dois dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacina 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹.

Quadro 20 – Constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica para os meios com os cinco antibióticos combinados dois a dois

Reator	$k_j^* = k_j + k \text{ (h}^{-1}\text{)}$
Controle	0,0215 ^a
AE	0,0157*
AG	0,0207 ^{ns}
AO	0,0149*
AT	0,0173*
EG	0,0176*
EO	0,0142*
ET	0,0166*
GO	0,0166*
GT	0,0177*
OT	0,0153*

A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacin 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹

^a k_j' para o controle igual a zero.

^{ns} k do tratamento não difere do controle ($p > 0,05$).

* significativamente diferente do controle ($p < 0,05$).

gentamicina, sobre a digestão anaeróbia do meio, considerando o tempo total de exposição, algumas combinações (AE, AG, AO, AT, EG, ET e GT) não apresentaram efeito inibitório nas últimas horas do experimento, possivelmente devido à adaptação microbiana às condições adversas do meio.

O resultado apresentado para a combinação de amoxicilina com gentamicina indica que este último provavelmente possui efeito antagonista sobre a amoxicilina, já que o composto apresentou efeito inibitório quando avaliado de forma isolada.

Por outro lado, os antibióticos enrofloxacin, gentamicina e oxitetraciclina parecem atuar de forma sinérgica, já que suas combinações apresentaram efeitos inibitórios, diferentemente do observado quando testados nas mesmas concentrações de forma isolada.

A Figura 30 mostra a variação do pH dos meios com as combinações dois a dois dos cinco antibióticos (tratamentos) avaliadas e do controle.

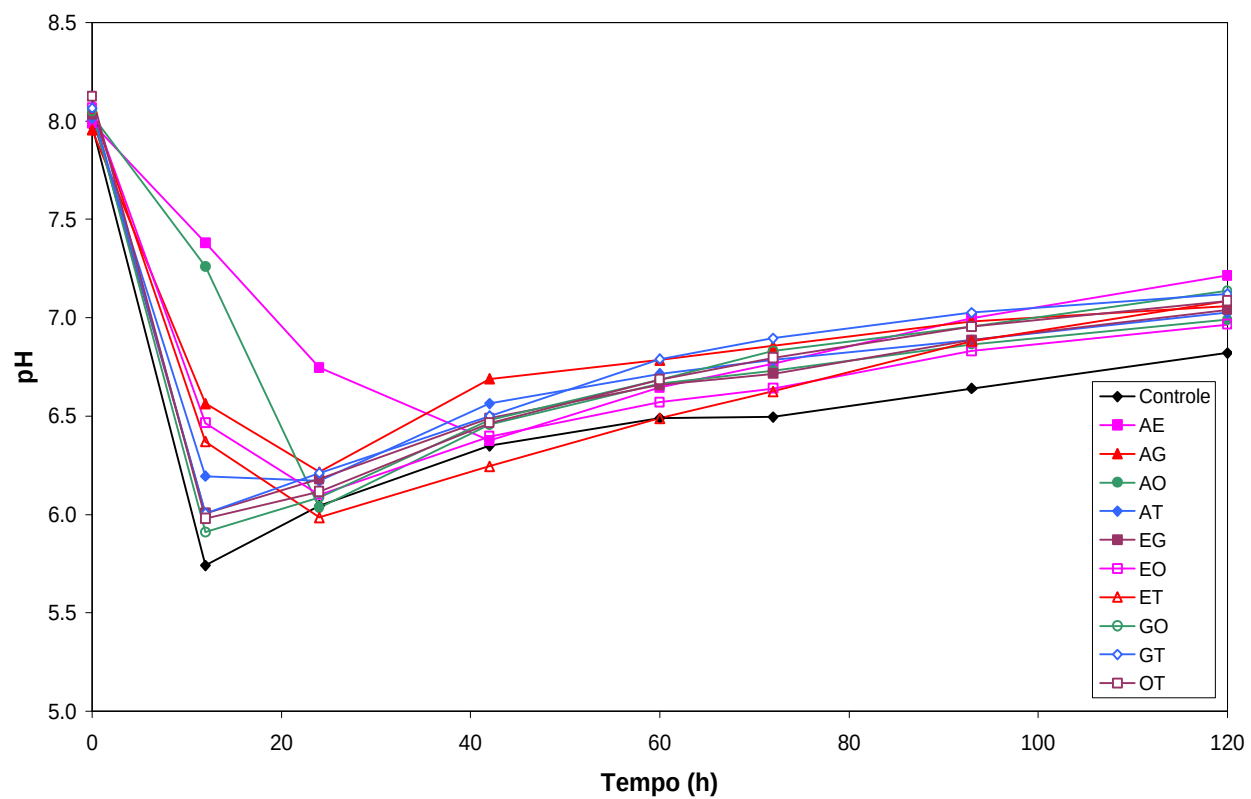


Figura 30 – Variação do pH nos meios com diferentes combinações dois a dois dos cinco antibióticos testados. A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacin 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹.

Constatou-se atraso na queda do pH para a maioria das combinações dois a dois dos antibióticos. Além disso, pôde ser observada queda pouco acentuada para algumas dessas combinações, indicando que os microrganismos produtores de ácidos foram inibidos pela combinação dos antibióticos testados. Foram alcançados valores de pH acima de 6,80 nos meios avaliados.

5. CONCLUSÕES

Ao comparar o desempenho de reatores UASB no tratamento do efluente natural de suinocultura e do meio sintético elaborado, foram observados comportamentos similares tanto em relação à eficiência de remoção de matéria orgânica e de sólidos, quanto à estabilidade dos sistemas, o que aponta a possibilidade da utilização do meio sintético em experimentos que avaliem os sistemas de tratamento de efluentes de suinocultura.

Após testar diferentes relações alimento/microrganismo (relação A/M), variando de 5 a 2,5 g DQO.g STV⁻¹, para os experimentos em batelada, recomenda-se a relação A/M de 1,0 ou 1,5 g DQO.g STV⁻¹, adotando-se neste trabalho o valor de 1,0 g DQO.g STV⁻¹.

Ao avaliar o efeito inibitório de cada antibiótico sobre a digestão anaeróbia do meio, constatou-se que o antibiótico amoxicilina causou redução no consumo de matéria orgânica para todas as concentrações avaliadas, devendo ser ressaltado que quanto maior a concentração utilizada menor foi a estimativa da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica. Dessa forma, conclui-se que, em doses normalmente administradas em suinoculturas, esse antibiótico causa inibição da microbiota responsável pela digestão anaeróbia do efluente.

Para o antibiótico enrofloxacin, conclui-se que apenas a maior concentração avaliada apresentou efeito inibitório, reduzindo o consumo de matéria orgânica. Portanto, em doses normalmente administradas em suinoculturas, esse antibiótico não possui efeito inibitório sobre a microbiota responsável pela digestão anaeróbia.

Em relação aos antibióticos gentamicina e oxitetraciclina, constatou-se que, em doses normalmente administradas em suinoculturas, esses compostos não afetam a eficiência de remoção de matéria orgânica do meio em digestão.

Ao avaliar o efeito inibitório do antibiótico tilosina, conclui-se que apenas a menor concentração avaliada não causou redução no consumo de matéria orgânica, devendo ser ressaltado que quanto maior a concentração utilizada menor foi a estimativa da constante de proporcionalidade de consumo de matéria orgânica. Dessa forma, em doses normalmente administradas em suinoculturas, esse antibiótico causa inibição da microbiota responsável pela digestão anaeróbia do efluente.

Avaliando-se o efeito combinado dos cinco antibióticos, testando-se todas as concentrações utilizadas neste trabalho, constatou-se inibição no consumo de matéria orgânica até mesmo para a combinação das menores concentrações de cada composto.

Ao avaliar o efeito das diversas combinações dos compostos associados quatro a quatro e três a três, concluiu-se que todas causaram redução no consumo de matéria orgânica, apresentando efeito inibitório sobre a digestão anaeróbia.

Para as diversas combinações dois a dois dos cinco antibióticos testados, apenas a associação de amoxicilina e gentamicina não apresentou redução no consumo de matéria orgânica. Portanto, as demais combinações apresentaram efeito inibitório sobre a microbiota responsável pela digestão anaeróbia.

Pelos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que o uso indiscriminado de antibióticos em suinocultura causa a inibição dos microrganismos responsáveis pela digestão anaeróbia, que é uma alternativa bastante utilizada para tratamento de efluentes agroindustriais.

6. SUGESTÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram a identificação das concentrações dos antibióticos amoxicilina, enrofloxacin, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, utilizados isoladamente ou na forma combinada, que interferem na eficiência de remoção de matéria orgânica em sistemas anaeróbios que operam em regime de batelada, ou seja, na eficiência global do tratamento anaeróbio de efluentes. Porém, um determinado composto pode exercer diversos efeitos inibitórios sobre os grupos microbianos envolvidos no processo de digestão anaeróbia.

Dessa forma, sugere-se a avaliação do efeito dos compostos que inibiram a eficiência global do processo sobre as atividades hidrolítica, acidogênica, acetogênica e metanogênica do lodo anaeróbio.

Além disso, dependendo do tipo, da concentração e do mecanismo de ação dos compostos, a exposição do lodo anaeróbio aos antibióticos pode resultar na seleção de microrganismos resistentes ou na adaptação microbiana às condições adversas, o que pode ser observado em alguns resultados apresentados.

Portanto, sugere-se a realização de novos estudos que avaliem a digestão anaeróbia em sistemas contínuos de alimentação do meio sintético contendo as concentrações de antibióticos consideradas inibitórias neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKARSUBASI, A. T.; INCE, O.; OZ, N. A.; KIRDAR, B.; INCE, B. K. Evaluation of performance, acetoclastic methanogenic activity and archaeal composition of full-scale uasb reactors treating alcohol distillery wastewaters. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 28-35, 2006.

ANGENET, L. T.; SUNG, S.; RASKIN, L. Methanogenic population dynamics during startup of a full-scale anaerobic sequencing batch reactor treating swine waste. **Water Research**, v. 36, p. 4648-4654, 2002.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 17 Ed., Washington-DC, 1989.

ARCAND, Y.; GUIOT, S. R.; DESROCHERS, M.; CHAVARIE, C. Impact of the reactor hydrodynamics and organic loading rate on the size and activity of anaerobic granules. **The Chemical Engineering Journal**, v. 56, p. B23-B35, 1994.

ARENALES, M. C. **Viabilidade da homeopatia na medicina veterinária aplicada a produção de suínos**. Ergomix.com (Community of International Business Related to Animal Production). Disponível em: <http://www.ergomix.com/viabilidade_da_homeopatia_na_p_artigos_11_POR.htm>. Acesso em: 14 jun. 2006.

ARIKAN, O. A.; SIKORA, L. J.; MULBRY, W.; KHAN, S. U.; RICE, C.; FOSTER, G. D. The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 1637-1643, 2006.

BARACHO JÚNIOR, J. A. O. O licenciamento e controle ambiental da atividade de suinocultura. In: Seminário Mineiro sobre Manejo e Utilização de Dejetos de Suínos, 1., 1995, Ponte Nova-MG. **Anais...**, 1., Ponte Nova-MG: EPAMIG, 1995. p. 1-7.

BARCELLOS, D.; SOBESTIANSKY, J. **Uso de antibióticos em suinocultura**. Goiânia: Art 3 Impressos Especiais, 1998.

BEAL, L. J.; RAMAN, D. R. Sequential two-stage anaerobic treatment of confectionery wastewater. **Journal Agricultural Engineering Research**, v. 76, p. 211-217, 2000.

BELLAVER, C. O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. In: CONGRESSO MERCOSUR DE PRODUCCIÓN PORCINA, 2000, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires, 2000.

BELLO-MENDOZA, R.; CASTILLO-RIVERA, M. F. Start-up of an anaerobic hybrid (uasb/filter) reactor treating wastewater from a coffee processing plant. **Anaerobe – Environmental Microbiology**, v. 4, p. 219-225, 1998.

BITTON, G. **Wastewater microbiology**. New York: Wiley-Liss Inc., 1994.

BOHNENBERGER, J. C. Contaminação por esgotos domésticos e indústrias. In: ENCONTRO DE PRESERVAÇÃO DE MANANCIAS DA ZONA DA MATA MINEIRA, 1., 2001. Viçosa-MG. **Anais...** Viçosa: ABES, Subseção Sudeste; UFV, DEA; ABAS, Centro de Residência Sudeste, 2001.

BORZACCONI, L.; LÓPEZ, I.; VIÑAS, M. Application of anaerobic digestion to the treatment of agroindustrial effluents in Latin America. **Water Science and Technology**, v. 22, n. 12, p. 105-111, 1995.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; MIERZWA, J. C.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução à engenharia ambiental – o desafio do desenvolvimento sustentável**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.

BRANCO, S. M.; ROCHA, A. A. **Poluição, proteção e usos múltiplos de represas**. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda., 1977.

BRANDER, G. C.; PUGH, D. M.; BYWATER, R. J.; JENKINS, W. L. **Veterinary applied pharmacology & therapeutics**. 5. Ed. London: Baillière Tindall, 1991.

BUZZINI, A. P.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B.; PIRES, E. C. Evaluation of the microbial diversity in an UASB reactor treating wastewater from an unbleached pulp plant. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 168-176, 2006.

CAIXETA, C. E. T.; CAMMAROTA, M. C.; XAVIER, A. M. F. Slaughterhouse wastewater treatment: evaluation of a new three-phase separation system in a UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 81, p. 61-69, 2002.

CALDWELL, D. R. **Microbial physiology and metabolism**. Star Publishing Company, 2000.

CAMARERO, L.; DIAZ, J. M.; ROMERO, F. Final treatments for anaerobically digested piggery slurry effluents. **Biomass and Bioenergy**, v. 11, n. 6, p. 483-489, 1996.

CAMPAGNOLO, E. R.; JOHNSON, K. R.; KARPATI, A.; RUBIN, C. S.; KOLPIN, D. W.; MEYER, M. T.; ESTEBAN, J. E. CURRIER, R. W.; SMITH, K.; THU, K. M.; McGEEHIN, M. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. **The Science of the Total Environment**, v. 299, p. 89-95, 2002.

CASSERLY, C.; ERIJMAN, L. Molecular monitoring of microbial diversity in an uasb reactor. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 52, p. 7-12, 2003

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – reatores anaeróbios**. Vol. 5. Belo Horizonte-MG: UFMG; Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1997.

CHYNOWETH, D. P.; WILKIE, A. C.; OWENS, J. M. Anaerobic processing of piggery wastes: a review. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 8., 1998. Seoul, Korea. **Anais...** Seoul: ASAE - American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI., 1998.

CINTOLI, R.; DI SABATINO, B.; GALEOTTI, L.; BRUNO, G. Ammonium uptake by zeolite and treatment in uasb reactor of piggery wastewater. **Water Science and Technology**, v. 32, n. 12, p. 73-81, 1995.

CRUEGER, W.; CRUEGER, A. **Biotechnology**: a textbook of industrial microbiology. Madison: Science Tech, Inc., 1984.

DE LIGUORO, M.; CIBIN, V.; CAPALONGO, F.; HALLING-SØRENSEN, B.; MONTESISSA, C. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil. **Chemosphere**, v. 52, p. 203-212, 2003.

DI BERNARDINO, S.; COSTA, S.; CONVERTI, A. Semi-continuous anaerobic digestion of a food industry wastewater in an anaerobic filter. **Bioresource Technology**, v. 71, p. 261-266, 2000.

DÍAZ-CRUZ, M. S.; ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 6, p. 340-351, 2003.

DOLFING, J.; GRIFFIOEN, A.; NEERVEN, A. R. W.; ZEVENHUIZEN, L. P. T. M. Chemical and bacteriological composition of granular methanogenic sludge. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 744-750, 1985.

DUDA, G. P. **Emprego de inoculantes no tratamento anaeróbio de dejetos de suínos *in vitro***. 1997. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

ERGÜDER, T. H.; GÜVEN, E.; DEMIRER, G. N. The inhibitory effects of lindane in batch and UASB reactors. **Chemosphere**, v. 50, p. 165-169, 2003.

FUKUZAKI, S.; NISHIO, N.; NAGAI, S. High rate performance and characterization of granular methanogenic sludges in upflow anaerobic sludge blanket reactors fed with various defined substrates. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 79, p. 354-359, 1995.

GARCIA, J-L; PATEL, B. K. C.; OLLIVIER, B. Taxonomic, phylogenetic and ecological diversity of methanogenic *archaea*. **Anaerobe**, v. 6, p. 205-226, 2000.

HILPERT, R.; WINTER, J.; KANDLER, O. Agricultural feed additives and disinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion. **Agricultural Wastes**, v. 10, p. 103-116, 1984.

HUANG, J. S.; WU, C. S.; CHEN, C. M. Microbial activity in a combined UASB –activated sludge reactor system. **Chemosphere**, v. 61, p. 1032-1041, 2005.

IMHOFF, K. R.; IMHOFF, K. **Manual de tratamento de águas residuárias**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1986.

JAWED, M.; TARE, V. Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. **Water SA**, v. 25, n. 3, p.345-349, 1999.

JUNIOR, G. N. R. C.; BELLI FILHO, P.; PERDOMO, C. C.; COSTA, R. H. R. Aplicabilidade do reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo para o tratamento de dejetos de suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20., 1999. Rio de Janeiro-RJ. **Anais...** Rio de Janeiro-RJ: ABES, I-133, p. 702-708, 1999.

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

KOLZ, A. C.; MOORMAN, T. B.; ONG, S. K.; SCOGGIN, K. D.; DOUGLASS, E. A. Degradation and metabolite production of tylosin in anaerobic and aerobic swine-manure lagoons. **Water Environment Research**, v. 77, n. 1, p. 49-56, 2005.

LALLAI, A.; MURA, G.; ONNIS, N. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. **Bioresource Technology**, v. 82, p. 205-208, 2002.

LETTINGA, G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, p. 3-28, 1995.

LIU, Y.; TAY, J-H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research**, v. 36, p. 1653-1665, 2002.

LIU, Y.; XU, H-L.; YANG, S-F.; TAY, J-H. Mechanisms and Models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Water Research**, v. 37, p. 661-673, 2003.

LOMAS, J. M.; URBANO, C.; CAMARERO, L.M. Influence of recirculation flow in a pilot scale downflow stationary fixed film anaerobic reactor treating piggery slurry. **Biomass and Bioenergy**, v. 18, p. 421-30, 2000.

LÓPEZ-FIUZA, J.; BUYS, B.; MOSQUERA-CORRAL, A.; OMIL, F.; MÉNDEZ, R. Toxic effects exerted on methanogenic, nitrifying and denitrifying bacteria by chemicals used in a milk analysis laboratory. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 976-985, 2002.

MANJUNATH, N. T.; INDU MEHROTRA; MATHUR, R. P. Treatment of wastewater from slaughterhouse by DAF-UASB system. **Water Resource**, v. 34, n. 6, p. 1930-1936, 2000.

MASSÉ, D. I.; LU, D.; MASSE, L.; DROSTE, R. L. Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 75, p. 205-211, 2000.

MENSAH, K. A.; FORSTER, C. F. An examination of the effects of detergents on anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 90, p. 133-138, 2003.

MONTALVO, S. J. Treatment of swine wastes by a high-rate-modified-anaerobic-process (HRAMP). **Bioresource Technology**, v. 53, p. 207-210, 1995.

MORAES, L. M.; PAULA JÚNIOR, D. R. Avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de resíduos da bovinocultura e da suinocultura. **Engenharia Agrícola**, v. 24, n. 2, p. 445-454, 2004.

NEBOT, E.; ROMERO, L. I.; QUIROGA, J. M.; SALES, D. Effect of the feed frequency on the performance of anaerobic filters. Anaerobe. **Environmental Microbiology**, v. 1, p. 113-120, 1995.

OETTING, L. L. **Extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém-desmamados**. 2005. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2005.

OLIVA, L. C. H.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Anaerobic reactors for food processing wastewater treatment: established technology and new developments. **Water science and Technology**, v. 32, n. 12, p. 157-163, 1995.

OLIVEIRA, P.A.V.; MARTINS, R.R.; PEDROSO, D.; LIMA, G.J.M.M. DE; LINDNER, E.A.; BELLI FILHO, P.; CASTILHO JÚNIOR, A.B.; SILVEIRA, V.R.; BALDISERA, I.; MATTOS, A.C.; GOSMANN, H.; CRISTMANN, A.; BONETT, E.; HESS, A. **Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos**. Concórdia-SC: EMBRAPA-CNPSA, 1993. 188 p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 27).

OLMI, V. R. **Desempenho de sistemas anaeróbios de alta taxa no tratamento de efluente gerado em unidade de criação de suínos**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

PAIVA NETTO, J. V. **Antibióticos e quimioterápicos em medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1984.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. V. 1. São Paulo: Makron Books, 1997.

PERDOMO, C. C.; LIMA, G. J. M. M. **Suinocultura intensiva** – produção, manejo e saúde do rebanho. Brasília: Embrapa-SPI; Concórdia-SC: Embrapa-CNPSA, 1998. 388 p.

PIRES, A. M. B. **Efeito de agentes químicos no tratamento anaeróbio de efluentes**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

POELS, J.; VAN ASSCHE, P.; VERSTRAETE, W. Effects of disinfectants and antibiotics on the anaerobic digestion of piggery waste. **Agricultural Wastes**, v.9, p.239-247, 1984.

POETSCH, P. B.; KOETZ, P. R. Sistema de determinação da atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios. **Revista Brasileira de Agrobiologia**, v. 4, n. 3, p. 161-165, 1998.

RAJESHWARI, K. V.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K.; KISHORE, V. V. N. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 4, p. 135-156, 2000.

RAMOS, A. L. S. **Desempenho de reatores anaeróbios de alta taxa no tratamento de efluentes gerados em unidade de abate e processamento de suínos**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

RITTMANN, B. E.; McCARTY, P. L. **Environmental biotechnology: principles and applications**. New York: Mc Graw Hill, Inc., 2001.

RUIZ, I.; VEIGA, M. C.; SANTIAGO, P. DE; BLÁZQUEZ, R. Treatment of slaughterhouse wastewater in a uasb reactor and an anaerobic filter. **Bioresource Technology**, v. 60, p. 251-258, 1997.

SÁNCHEZ, E. P.; MONROY, O.; CAÑIZARES, R. O.; TRAVIESO, L.; RAMOS, A. A preliminary study of piggery waste treatment by an upflow sludge bed anaerobic reactor and a packed bed anaerobic reactor. **Journal Agricultural Engineering Research**, v. 62, p. 71-76, 1995.

SÁNCHEZ, E.; BORJA, R.; TRAVIESO, L.; MARTIN, A.; COLMENAREJO, M.F. Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. **Bioresource Technology**, v. 96, p.335-344, 2005.

SÁNCHEZ, E.; BORJA, R.; WEILAND, P.; TRAVIESO, L.; MARTIN, A. Effect of substrate concentration and temperature on the anaerobic digestion of

piggery waste in a tropical climate. **Process Biochemistry**, v. 37, p.483-489, 2001.

SCHIMIDT, J. E.; AHRING, B. K. Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 49, p. 229-246, 1996.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H. V. M., LETTINGA, G. A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 175-190, 1998.

SEKIGUCHI, Y.; KAMAGATA, Y.; HARADA, H. Recent advances in methane fermentation technology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 12, p. 277-282, 2001.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess engineering**: basic concepts. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 553 p.

SOLERA, R.; ROMERO, L. I.; SALES, D. Determination of the microbial population in thermophilic anaerobic reactor: comparative analysis by different counting methods. **Anaerobe**, v. 7, p. 79-86, 2001.

SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Water Research**, v. 27, n. 8, p. 1361-1376, 1993.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1996. 545 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. Ed. Porto Alegre-RS: ARTMED® Editora, 2005. 894 p.

UNGEMACH, F. R.; MÜLLER-BAHRDT, D.; ABRAHAM, G. Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 296, n. 2, p. 33-38, 2006.

UTIYAMA, C. E. **Utilização de agentes antibióticos, Probióticos, Prebióticos e Extratos Vegetais como promotores de Crescimento de Leitões Recém-desmamados**. 2004. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2004.

van HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbico de esgotos**: um manual para regiões de clima quente. Campina Grande, 1994. 208 p.

VAREL, V. H.; HASHIMOTO, A. G. Effect of dietary monensin or chlortetracycline on methane production from cattle waste. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 41 n. 1, p. 29-34, 1981.

VAREL, V. H.; HASHIMOTO, A. G. Methane production by fermenter cultures acclimated to waste from cattle fed monensin, lasalocid, salinomycin, or avoparcin. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 1415-1420, 1982.

VILLAGÓMEZ, G. F.; BORGES, E. V.; PEREDA, P. M. Inhibidores del proceso anaeróbico: compuestos utilizados em porcicultura. **Ingengería**, v. 6, n. 3, p. 67-71, 2002.

von SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias – Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos**. Vol. 1. 3. ed. Belo Horizonte-MG: Editora UFMG, 2005.

VUADEN, E. R. **Homeopatia**: uma alternativa na suinocultura. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_f0k21o9s.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2006.

YU, H. Q.; TAY, J. H; FANG, H. H. P. The Role of calcium in sludge granulation during uasb reactor start-up. **Water Research**, v. 35, n. 4, p. 1052-1060, 2001.

ZHANG, R. H.; YIN, Y.; SUNG, S.; DAGUE, R. R. Anaerobic treatment of swine waste by the anaerobic sequencing batch reactor. **Transactions of the ASAE**, v. 40, n. 3, p. 761-767, 1997.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Quadro 1A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de amoxicilina

Tempo (h)	Concentração de Amoxicilina (mg/L)				
	Controle	15,7	31,3	62,6	93,9
0	2.699,2	2.382,5	2.540,8	2.524,2	2.557,5
12	1.628,3	1.831,4	1.787,8	2.091,9	1.976,2
24	1.376,2	1.382,5	1.541,0	1.497,5	1.540,8
36	1.105,3	976,4	1.096,4	1.021,9	1.112,8
48	907,3	724,2	935,5	941,9	890,8
60	633,4	596,4	749,9	685,1	765,8
72	290,8	490,8	433,1	490,8	449,2
84	324,2	465,8	389,5	260,4	465,8
96	190,8	190,8	282,5	217,5	374,2
108	307,5	249,2	240,8	330,7	390,8
120	232,5	315,8	208,1	242,5	299,2

Quadro 2A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de enrofloxacin

Tempo (h)	Concentração de Enrofloxacin (mg/L)				
	Controle	12,5	25,0	50,0	75,0
0	2.970,8	3.012,5	2.995,8	3.112,5	3.004,2
12	2.970,8	3.012,5	2.995,8	3.112,5	3.004,2
24	2.070,3	2.325,9	2.108,2	2.575,9	2.327,6
36	1.715,7	1.772,4	1.816,6	1.848,2	1.818,0
48	1.484,7	1.224,4	1.291,7	1.261,6	1.298,7
60	1.189,2	897,8	1.101,7	1.163,7	1.047,6
72	936,5	750,5	883,4	845,2	896,8
84	622,6	604,7	511,9	605,7	531,4
108	622,4	592,2	458,2	321,9	552,7
120	426,5	244,0	333,2	267,5	438,5

Quadro 3A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de gentamicina

Tempo (h)	Concentração de Gentamicina (mg/L)				
	Controle	3,8	7,5	15,0	22,5
0	2.786,7	2.745,0	2.578,3	2.836,7	2.870,0
12	2.786,7	2.745,0	2.578,3	2.836,7	2.870,0
24	1.920,1	2.121,9	1.816,5	2.353,4	2.231,7
36	1.593,6	1.621,0	1.561,5	1.681,7	1.747,1
48	1.368,7	1.113,2	1.104,7	1.147,4	1.230,1
60	1.100,2	813,7	938,3	1.057,0	1.002,3
72	857,7	683,0	755,2	769,6	853,3
84	563,9	547,1	449,5	551,3	512,5
108	572,2	540,4	386,9	292,1	535,1
120	391,9	223,0	287,3	244,9	417,7

Quadro 4A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de oxitetraciclina

Tempo (h)	Concentração de Oxitetraciclina (mg/L)				
	Controle	12,5	25,0	50,0	75,0
0	2.865,0	2.806,7	2.923,3	2.748,3	2.819,2
12	2.865,0	2.806,7	2.923,3	2.748,3	2.819,2
24	2.010,6	2.164,8	2.056,4	2.270,8	2.180,7
36	1.664,7	1.645,9	1.773,4	1.633,7	1.701,4
48	1.447,1	1.143,0	1.263,0	1.115,5	1.223,5
60	1.156,7	840,4	1.078,7	1.029,8	982,4
72	916,4	700,0	863,9	746,8	843,2
84	613,4	566,9	496,2	535,4	496,5
108	607,7	551,1	449,8	285,1	515,5
120	416,6	226,7	324,9	235,4	412,1

Quadro 5A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação de tilosina

Tempo (h)	Concentração de Tilosina (mg/L)				
	Controle	5,5	11,0	22,0	33,0
0	2.865,0	2.990,0	2.856,7	3.006,7	3.398,3
12	2.865,0	2.990,0	2.856,7	3.006,7	3.398,3
24	2.010,6	2.303,3	2.007,8	2.487,2	2.642,7
36	1.664,7	1.746,6	1.734,6	1.785,9	2.069,1
48	1.447,1	1.220,5	1.239,9	1.219,1	1.456,2
60	1.156,7	900,3	1.062,2	1.124,8	1.186,8
72	916,4	746,7	848,4	816,7	1.010,3
84	613,4	608,4	477,6	585,3	607,0
108	607,7	586,1	445,6	311,2	633,8
120	416,6	240,8	317,0	258,1	494,5

Quadro 6A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações de todos os antibióticos avaliados

Tempo (h)	Concentração da Combinação de Todos os Antibióticos				
	Controle	0,5X	X	2X	3X
0	2.036,0	2.071,0	2.146,0	2.301,0	2.248,5
12	1.254,3	1.803,8	1.931,0	1.990,7	2.126,0
24	1.033,6	1.457,2	1.736,0	1.786,0	1.974,4
36	978,8	1.336,0	1.656,0	1.677,8	1.896,0
48	922,7	1.141,0	1.348,5	1.341,0	1.516,0
60	665,5	956,0	1.101,0	1.326,0	1.450,4
72	546,9	782,2	998,5	1.226,0	1.330,4
84	468,1	621,0	878,5	1.061,0	1.195,4
96	229,2	421,0	732,2	916,7	1.000,9
108	216,2	316,0	596,0	826,0	815,4
120	193,5	286,0	421,0	536,0	805,4

X = concentrações de 31,3, 25,0, 7,5, 25,0 e 11,0 mg.L⁻¹ de amoxicilina, enrofloxacina, gentamicina, oxitetraciclina e tilosina, respectivamente.

Quadro 7A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações dois a dois de todos os antibióticos avaliados

Tempo (h)	Combinação de Antibióticos										
	Controle	AE	AG	AO	AT	EG	EO	ET	GO	GT	OT
0	2.224,7	2.486,7	2.628,3	2.553,3	2.636,7	2.603,3	2.828,3	2.836,7	2.603,3	2.745,0	2.678,3
12	1.501,3	1.973,1	1.939,3	2.061,2	1.818,4	1.836,7	1.890,2	2.245,0	2.063,1	2.221,9	1.994,1
24	1.252,2	1.741,4	1.570,0	1.460,5	1.583,4	1.730,8	1.686,7	2.035,6	1.427,2	1.800,1	1.828,3
42	1.112,2	1.314,1	1.308,8	1.349,5	1.411,8	1.290,4	1.294,6	1.586,1	1.307,8	1.589,5	1.498,3
60	689,6	944,3	949,1	937,1	859,1	836,1	915,0	1.153,9	831,7	1.066,9	1.047,3
72	603,0	869,3	753,3	849,7	653,3	816,3	1048,3	999,8	648,3	902,8	902,9
93	338,0	496,5	420,5	545,0	378,3	502,7	523,3	603,8	440,0	556,7	564,3
120	103,5	286,7	228,9	291,1	222,1	228,5	315,0	298,3	273,3	297,7	377,3

A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacin 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹

Quadro 8A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações três a três de todos os antibióticos avaliados

Tempo (h)	Combinação de Antibióticos										
	Controle	AE	AG	AO	AT	EG	EO	ET	GO	GT	OT
0	1.891,0	2.151,0	1.941,0	1.911,0	1.991,0	1.861,0	2.664,7	2.433,0	2.629,7	2.514,7	2.411,3
12	1.274,4	1.704,3	1.438,2	1.544,3	1.372,4	1.311,4	1.772,4	1.970,7	2.110,7	2.082,5	1.803,3
24	1.048,5	1.505,9	1.156,0	1.094,8	1.195,3	1.234,0	1.574,4	1.781,3	1.464,4	1.669,7	1.627,1
42	940,9	1.136,9	964,4	1.011,5	1.066,4	923,5	1.207,5	1.376,5	1.338,1	1.480,5	1.393,2
60	601,6	817,0	697,0	701,3	649,2	594,2	852,1	992,9	805,6	1.011,9	950,8
72	508,9	754,6	547,6	636,4	493,2	581,6	978,2	850,0	607,2	862,7	809,2
93	289,6	430,6	305,9	406,9	284,1	356,5	485,1	521,2	390,3	519,3	492,3
120	87,7	249,6	168,3	216,8	168,3	161,0	288,1	260,5	244,9	290,4	347,4

A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacin 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹.

Quadro 9A – Média dos valores de DQO obtidos para avaliação das combinações quatro a quatro de todos os antibióticos avaliados

Tempo (h)	Combinação de Antibióticos					
	Controle	AEGO	AEGT	AEOT	AGOT	EGOT
0	2.041.3	2.211.3	1.941.3	1.881.3	1.943.0	1.753.0
12	1.421.4	2.076.0	1.807.7	1.752.2	1.812.9	1.627.7
24	1.060.3	1.578.3	1.333.4	1.370.0	1.402.7	1.151.6
42	1.039.2	1.279.2	1.217.8	1.148.5	1.306.1	1.096.4
60	680.7	963.9	942.2	886.7	1.023.1	991.2
72	584.5	851.2	794.1	709.2	830.7	735.7
93	317.7	461.0	589.7	678.9	724.1	627.9
120	119.9	291.8	305.3	433.0	446.0	550.1

A = amoxicilina 31,3 mg.L⁻¹, E = enrofloxacin 25,0 mg.L⁻¹, G = gentamicina 7,5 mg.L⁻¹, O = oxitetraciclina 25,0 mg.L⁻¹ e T = tilosina 11,0 mg.L⁻¹