

PEDRO TOLEDO NETTO

Avaliação sobre o comportamento de antimicrobianos veterinários em solo e em cama de frango: estudos de adsorção e previsão do potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Rosa Rodrigues de Marchi

Araraquara
2014

DADOS CURRICULARES

Dados Pessoais

Nome: Pedro Toledo Netto

Nascimento: 08/02/1983

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Avaré – SP

Estado civil: solteiro

Filiação: José Carlos Toledo e Maria Olga Ribeiro Toledo

Profissão: Químico

Endereço residencial: Av. Alberto Toloi, 185. Araraquara – SP

Nome em citações bibliográficas: TOLEDO NETTO, P.

e-mail: ptolledo@gmail.com

Formação Acadêmica/Titulação

2007 – 2009: Mestrado em Química

Instituição: Instituto de Química, Campus Araraquara-SP, Universidade Estadual Paulista

Orientadora: Profa. Dra. Mary Rosa Rodrigues de Marchi

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Lúcia Ribeiro

Título da dissertação: Exposição a misturas de pesticidas em baixas doses: validação de método e aplicação a tecido adiposo de animais de experimentação (ratos Lewis)

2002 – 2005: Graduação em Química – Bacharelado em Química Tecnológica

Instituição: Instituto de Química, Campus Araraquara-SP, Universidade Estadual Paulista

Estágio de conclusão do curso: Centro de Monitoramento e Pesquisa da Qualidade de Combustíveis, Petróleo e Derivados - CEMPEQC

Supervisor do estágio: Prof. Dr. José Eduardo de Oliveira

Orientadora institucional da UNESP: Profa. Dra. Maria Aparecida Zaghete Bertochi

Atuação Profissional

2006 – 2006: Analista Químico

Empresa: Plantec Ltda. – Piracicaba/SP

Atividades: Determinação de resíduos de pesticidas em alimentos vegetais

2006 – 2007: Supervisor de Produção

Empresa: CJ do Brasil Ltda. – Piracicaba/SP

Atividades: Supervisionar e acompanhar a implantação do setor de purificação de lisina; gerenciamento de pessoas e de produção

Produção Bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

TOLEDO NETTO, P.; TEIXEIRA JÚNIOR, O. J.; DE CAMARGO, J. L. V.; RIBEIRO, M. L.; MARCHI, M. R. R. A rapid, environmentally friendly, and reliable method for pesticide analysis in high-fat samples. **Talanta**, v. 101, p. 322-329, 2012.

LOPES, M. N. T.; TOLEDO NETTO, P.; LOURENCETTI, C.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Validação e aplicação de método para análise de pesticidas em água para consumo humano de Dourados (MS) por CLAE-UV e CG-DTE. **Pesticidas (Online)**, v. 21, p. 103-116, 2011.

Artigos completos a serem submetidos

TOLEDO NETTO, P.; MARCHI, M. R. R. Estimativa de risco de contaminação das águas superficiais e subterrâneas por antimicrobianos mais utilizados na cultura avícola do Brasil. Será submetido na revista Química Nova.

TOLEDO NETTO, P.; MARCHI, M. R. R. Characteristics sorption of nine veterinary antimicrobials in soil and peat and estimative of the leaching potential in soil. Será submetido na revista Journal of Environmental Management.

ZAMARIOLA, N.; TOLEDO NETTO, P.; DE CAMARGO, J. L. V.; MARCHI, M. R. R. Pesticide residues in adipose tissue associated with reproductive organs: validation of analytical method and application in experimental animals. Será submetido na revista Talanta.

CARBO, L.; TOLEDO NETTO, P.; RIBEIRO, M. L. Ação mitigadora de faixa de contenção em lavouras de algodão sobre a contaminação de recursos hídricos superficiais por resíduos de pesticidas. Será submetido na revista Journal of the Brazilian Chemical Society.

Principais participações em eventos e congressos nacionais e internacionais

TOLEDO NETTO, P.; PAVANI, V. D.; ZOCCOLO, G. J.; MARCHI, M. R. R. Optimization and validation method for determination of veterinary antimicrobials: occurrence in poultry litter. 2013. Apresentação de Trabalho em Evento Internacional (Bogotá, Colômbia).

MARCHI, M. R. R.; TOLEDO NETTO, P.; LOURENCETTI, C. Leaching potential of antibiotics estimated in soil and peat. 2013. Apresentação de Trabalho em Evento Internacional (Indianápolis, Estados Unidos).

TOLEDO NETTO, P.; RIBEIRO, M. L.; DE MARCHI, M. R. R. Estimativa de risco de contaminação de águas superficiais por antibióticos de uso veterinário empregados na avicultura. 2011. Apresentação de Trabalho em Evento Internacional (Salvador, Brasil).

TOLEDO NETTO, P.; TEIXEIRA JUNIOR, O. J.; CAMARGO, J. L. V.; RIBEIRO, M. L.; DE MARCHI, M. R. R. Comparison of analytical methods: determination of

pesticides in adipose tissue. 2011. Apresentação Oral em Evento Internacional (Montevideo, Uruguai).

TOLEDO NETTO, P.; CARVALHO, A. P. A.; RIBEIRO, M. L.; DE MARCHI, M. R. R.; CAMARGO, J. L. V. Quantification of Pesticides in Rat Adipose Tissue: Development and Validation of a Simple, Fast and Sensitive Method. 2009. Apresentação de Trabalho em Evento Internacional (Santa Fé, Argentina).

TOLEDO NETTO, P.; RIBEIRO, M. L.; DE MARCHI, M. R. R.; CAMARGO, J. L. V. Avaliação do efeito de matriz: determinação de resíduos de pesticidas em tecido adiposo de ratos. 2009. Apresentação de Trabalho (Salvador, Brasil).

TOLEDO NETTO, P.; RIBEIRO, M. L.; De MARCHI, M. R. R.; CAMARGO, J. L. V. Exposure to mixtures of pesticides at low doses: determination in rat adipose tissue. 2009. Apresentação de Trabalho em Evento Internacional (Ribeirão Preto, Brasil).

CARVALHO, A. P. A ; TOLEDO NETTO, P.; RIBEIRO, M. L.; DE MARCHI, M. R. R.; CAMARGO, J. L. V. Analysis of Pesticides in Animal Liver Using Gas Chromatography With Electron-Capture Detector. 2009. Apresentação de Trabalho em Evento Internacional (Santa Fé, Argentina).

Co-orientações de acadêmicos

Supervisão científica do aluno de iniciação científica Victor Damasceno Pavani na monografia que teve como título “Determinação de antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas em cama de frango por HPLC-FLU”, contemplado com bolsa CNPQ (período: março de 2011 a dezembro de 2011).

Supervisão científica da aluna de iniciação científica Danielle dos Santos Araújo, no projeto que teve como título “Estudos de degradação de antimicrobianos de uso veterinário em solo do município de Araraquara (SP)”, contemplado com bolsa da FUNADESP (período: agosto de 2012 a dezembro de 2013).

Supervisão científica da aluna de iniciação científica Cynthia de Oliveira Melo, no projeto que teve como título “Avaliação do desempenho de sistema passivo para amostragem de nicotina no ar”, contemplado com bolsa da FAPESP (período: setembro de 2010 a fevereiro de 2011).

Supervisão científica do aluno de iniciação científica Ovídio José Teixeira Júnior, bolsista BAAE, que trabalhou no projeto “Determinação de pesticidas em tecido adiposo de animais de experimentação (ratos Lewis)” (período: março de 2010 a dezembro de 2010).

Estágio no Exterior

Treinamento pela empresa CJ do Brasil Ltda.: Realizado na Coreia do Sul e Indonésia.

Propósito: Conhecer visão, missão, valores e história da empresa; Treinamento relacionado à parte técnica da produção de lisina.

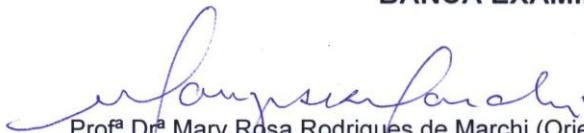
Período: Outubro/2006 a Dezembro/2006.

PEDRO TOLEDO NETTO

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 22 de abril de 2014.

BANCA EXAMINADORA



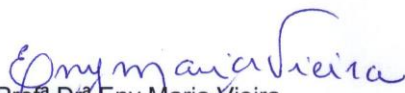
Prof^a Dr^a Mary Rosa Rodrigues de Marchi (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



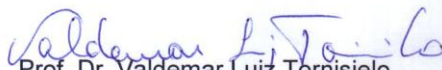
Prof^a Dr^a Maria Lucia Ribeiro
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Manoel Lima de Menezes
Faculdade de Ciências / UNESP, Bauru



Prof^a Dr^a Eny Maria Vieira
Instituto de Química / USP, São Carlos



Prof. Dr. Valdemar Luiz Tornisielo
Centro de Energia Nuclear na Agricultura / USP, Piracicaba

DEDICATÓRIA

A Deus e à minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à minha família.

À minha querida orientadora e professora Dra. Mary Rosa pelo prazer de conviver durante todos esses anos, pelos ensinamentos profissionais e amadurecimento pessoal.

Ao Grupo de Estudos em Saúde Ambiental e Contaminantes Orgânicos (GRESKO) pela oportunidade de realização deste trabalho.

Aos amigos Danielle dos Santos Araújo, Mariana Fonseca e Victor Damasceno Pavani que sempre me ajudaram e participaram diretamente neste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos e à Fundação de Apoio à Ciência Tecnologia e Educação (FACTE).

Aos professores, colegas e funcionários do curso pelo incentivo e prontidão sempre que necessário.

Aos amigos do laboratório e das “repúblicas” pela amizade e anos de convivência.

RESUMO

Antimicrobianos veterinários são muito utilizados na criação de frangos de corte para prevenção de doenças e promoção de crescimento. Estima-se que para alguns deles, até 90% da dose administrada seja eliminada em sua forma não metabolizada ou como metabólitos ativos. Portanto, elevadas quantidades destas substâncias são lançadas no meio ambiente, cujos impactos causados por sua dispersão podem alcançar grandes proporções, contaminando águas superficiais e subterrâneas, ar, solos, plantas, ameaçando organismos terrestres e aquáticos e a disseminação de bactérias resistentes. Entretanto, dados relativos sobre a ocorrência e comportamentos de antimicrobianos veterinários no meio ambiente são muito escassos no Brasil. Portanto, os objetivos deste trabalho foram: (i) avaliar a adsorção de nove antimicrobianos veterinários (amoxicilina, lincomicina, tilosina, trimetropina, sulfadiazina, oxitetraciclina, ciprofloxacina, enrofloxacina e norfloxacina) em solo e turfa do Estado de São Paulo e em cama de frango associada ao solo; (ii) propor modelos de adsorção que melhor se ajustam a este fenômeno; (iii) realizar previsão do potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas. A determinação dos compostos foi realizada utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência com detectores de ultravioleta e fluorescência, apresentando resolução cromatográfica e limites de quantificação adequados. Para os antimicrobianos determinados individualmente no solo, o modelo de adsorção linear foi mais satisfatório com coeficientes de correlação situados entre 0,844 e 0,983. Embora os modelos de adsorção aplicados não tenham sido adequados ao processo de adsorção dos antimicrobianos em mistura, tanto no solo quanto na cama de frango associada ao solo, foi possível indicar que estes fatores provocam diminuição da adsorção para a maioria dos antimicrobianos estudados em todos os níveis de concentração avaliados, exceto para amoxicilina que apresentou efeito contrário. Os resultados dos estudos de adsorção do solo e turfa sobre diferentes tratamentos indicaram que a calcinação foi responsável pelo aumento dos valores do K_d para lincomicina, sulfadiazina, trimetropina, norfloxacina, ciprofloxacina, sugerindo que na ausência de matéria orgânica, estes compostos apresentaram maior afinidade pelo solo com fortes interações com a sua fração mineral. Para o solo esterilizado houve um incremento dos valores do K_d para lincomicina, trimetropina, tilosina, norfloxacina e ciprofloxacina, sugerindo que na ausência de microorganismos, os antimicrobianos estão menos susceptíveis a degradação biótica, permitindo que uma maior quantidade possa ser adsorvida. A aplicação dos coeficientes de adsorção normalizados (K_{oc}) obtidos neste trabalho nos modelos que prevêem o potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas indicou que os antimicrobianos estudados apresentam maior mobilidade no solo de Araraquara quando comparado com os mesmos compostos em solos de outros países. Entre os compostos estudados neste trabalho os que apresentaram maior potencial de atingir águas superficiais e subterrâneas foram lincomicina, sulfadiazina, trimetropina, enrofloxacina e ciprofloxacina, merecendo prioridade nos estudos de ocorrência e monitoramento de antimicrobianos no ambiente. De forma geral, este estudo contribui para uma primeira investigação sobre o comportamento de antimicrobianos veterinários mais utilizados no Brasil na criação de frangos de corte e pode servir de base em estudos posteriores. Dessa forma pode contribuir para o diagnóstico da contaminação de recursos hídricos por antimicrobianos que o uso da cama de frango pode ocasionar.

Palavras-chave: Antimicrobianos. Solo. Cama de frango. Adsorção. Contaminação.

ABSTRACT

Veterinary antimicrobials are widely used in the poultry production for disease prevention and growth promotion. It is estimated that for some of them, up to 90 % of the administered dose is eliminated in its unmetabolized form or as active metabolites. Therefore, large amounts of these substances are released into the environment, whose impacts caused by its dispersion can reach large proportions, contaminating surface and groundwater, air, soil, plants, threatening aquatic and terrestrial organisms and spreading of resistant bacteria. However, data about the occurrence and behavior of veterinary antimicrobials in the environment are very limited in Brazil. Therefore, the objectives of this work were: (i) to evaluate the adsorption nine veterinary antimicrobials (amoxicillin, lincomycin, tylosin, trimethoprim, sulfadiazine, oxytetracycline, ciprofloxacin, enrofloxacin, and norfloxacin) in soil and peat of the State of São Paulo using different treatments and in poultry litter associated to soil; (ii) to propose adsorption models that best represents this process; (iii) to estimate the potential for contamination of surface and groundwater using the normalized adsorption coefficients (K_{oc}) obtained in this study. The determination of the compounds was performed using high performance liquid chromatography with ultraviolet and fluorescence detectors, with good chromatographic resolution and suitable quantification limits. For antimicrobials analyzed individually in soil, the adsorption linear model was satisfactory with correlation coefficients ranging between 0,844 and 0,983. Although the adsorption models applied were not appropriate for the mixture antimicrobials adsorption for the soil and soil associated to poultry litter, these factors caused a decrease of adsorption for most antimicrobials studied in all concentration levels evaluated, except for amoxicillin that showed opposite effect. The calcination of soil and peat was responsible by the increase of the K_d values for lincomycin, sulfadiazine, trimethoprim, norfloxacin, and ciprofloxacin, suggesting that in the absence of organic matter these compounds have a high affinity by the mineral fraction. There was an increment in the K_d values of sterilized soil for lincomycin, trimethoprim, tylosin, norfloxacin and ciprofloxacin, suggesting that in the absence of microorganisms, the antimicrobials are less susceptible to biotic degradation, allowing that a larger amount of compound may be adsorbed. While for the sterilized peat the increase in K_d values occurred only for sulfadiazine and norfloxacin. The K_{oc} values obtained in this study applied to the predictive models of contamination indicate that antimicrobial showed greater mobility in soil Araraquara compared to the same compounds in soils from other countries. Among the compounds studied lincomycin, sulfadiazine, trimethoprim, enrofloxacin, and ciprofloxacin were the ones with greater potential to reach surface water and groundwater. Overall, this work contributes to an initial investigation about the behavior of veterinary antimicrobials most used in Brazil in the poultry production and can assist in further studies. Thus may contribute to the contamination diagnosis of water resources by antimicrobials due the poultry litter used in the field.

Keywords: Antimicrobial. Soil. Poultry Litter. Adsorption. Contamination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção e exportação mundial em toneladas de carne de frango em 2012.....	19
Figura 2 – Série histórica das exportações de carne de frango do Brasil (1990 – 2012).....	20
Figura 3 – Produção de frangos de corte por estado brasileiro em 2012.....	21
Figura 4 – Evolução do consumo das carnes bovina, de frango e suína.....	22
Figura 5 – Sistema de criação intensiva de frango de corte: granja com milhares de animais.....	23
Figura 6 – Principais rotas de contaminação do solo por fármacos de uso humano e veterinário.....	27
Figura 7 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para estimar a razão solo/solução apropriada para execução dos estudos de adsorção.....	56
Figura 8 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para execução dos estudos de estabilidade, de adsorção na superfície do recipiente e de adsorção dos antimicrobianos individuais em solos.....	57
Figura 9 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para construção das isotermas de adsorção para os antimicrobianos individuais em todos os tipos de solos e tratamentos (X S/T, X ES, X MU, Z S/T, Z ES e Z MU).....	59
Figura 10 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para execução dos estudos de adsorção dos antimicrobianos em mistura no solo Z S/T e neste mesmo solo associado à cama de frango.....	64
Figura 11 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para construção das isotermas de adsorção para os antimicrobianos em mistura no solo Z S/T e neste mesmo solo associado à cama de frango.....	66
Figura 12 – Espectros de absorvância dos antimicrobianos lincomicina, sulfadiazina, trimetropina e oxitetraciclina.....	77
Figura 13 – Cromatogramas dos antimicrobianos em mistura analisados por CLAE-FLU-UV (lincomicina 88,9 mg L ⁻¹ , sulfadiazina 59,8 mg L ⁻¹ , trimetropina 69,7 mg L ⁻¹ , oxitetraciclina 72,3 mg L ⁻¹ , tilosina 68,3 mg L ⁻¹ , amoxicilina 61,9 mg L ⁻¹ , norfloxacin 105 µg L ⁻¹ , ciprofloxacina 95 µg L ⁻¹ e enrofloxacin 90 µg L ⁻¹). Condições cromatográficas descritas na Tabela 4.....	79
Figura 14 – Cromatogramas das substâncias analisadas individualmente por CLAE-UV sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 5 (lincomicina 88,9 mg L ⁻¹ , sulfadiazina 59,8 mg L ⁻¹ , trimetropina 69,7 mg L ⁻¹ , oxitetraciclina 72,3 mg L ⁻¹ e tilosina 68,3 mg L ⁻¹).....	80
Figura 15 – Cromatogramas das substâncias analisadas individualmente por CLAE-FLU sobre as condições cromatográficas descritas da Tabela 5 (amoxicilina 20,1 mg L ⁻¹ , norfloxacin 50 µg L ⁻¹ , ciprofloxacina 50 µg L ⁻¹ e enrofloxacin 90 µg L ⁻¹).....	81
Figura 16 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos individuais obtidos por CLAE-UV.....	84
Figura 17 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos individuais obtidos por CLAE-FLU.....	85
Figura 18 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos analisados em mistura obtidos por CLAE-UV.....	87

Figura 19 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos analisados em mistura obtidos por CLAE-FLU.....	88
Figura 20 – Relação entre diferentes razões solo/solução, diferentes valores de K_d e de porcentagens da substância adsorvida.....	91
Figura 21 – Gráficos da estabilidade dos antimicrobianos em solução analisados por CLAE-UV durante o período de 48 horas.....	93
Figura 22 – Gráficos da estabilidade dos antimicrobianos em solução analisados por CLAE-FLU durante o período de 48 horas.....	94
Figura 23 – Cromatogramas das amostras testemunhas dos solos X S/T, X ES, X MU, Z S/T, Z ES e Z UM e solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução padrão de lincomicina (90 mg L^{-1}) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 5 (análise individual).....	97
Figura 24 – Cromatogramas da amostra testemunha do solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução padrão de lincomicina (90 mg L^{-1}) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 5 (análise individual).....	98
Figura 25 – Cromatogramas das amostras testemunhas do solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução em mistura dos antimicrobianos analisados por CLAE-UV (lincomicina $88,9 \text{ mg L}^{-1}$, sulfadiazina $59,8 \text{ mg L}^{-1}$, trimetoprim $69,7 \text{ mg L}^{-1}$ e tilosina $68,3 \text{ mg L}^{-1}$) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 4.....	98
Figura 26 – Cromatogramas das amostras testemunhas do solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução em mistura dos antimicrobianos analisados por CLAE-FLU (amoxicilina $61,9 \text{ mg L}^{-1}$, norfloxacin $105 \mu\text{g L}^{-1}$, ciprofloxacina $95 \mu\text{g L}^{-1}$ e enrofloxacin $90 \mu\text{g L}^{-1}$) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 4.....	99
Figura 27 – Porcentagens de adsorção dos antimicrobianos individuais na turfa (solo X S/T, Taquaral-SP) e no solo Z S/T (Araraquara-SP).....	102
Figura 28 – Comparação das porcentagens de adsorção dos antimicrobianos individuais no solo Z S/T (Araraquara-SP) com os antimicrobianos em mistura neste mesmo tipo de solo.....	103
Figura 29 – Comparação das porcentagens de adsorção dos antimicrobianos mistura no solo Z S/T (Araraquara – SP) e neste mesmo solo associado à cama de frango.....	104
Figura 30 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano lincomicina em função do tempo de análise.....	106
Figura 31 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano sulfadiazina em função do tempo de análise.....	107
Figura 32 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano trimetropina em função do tempo de análise.....	109
Figura 33 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano oxitetraciclina em função do tempo de análise.....	111
Figura 34 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano tilosina em função do tempo de análise.....	113

Figura 35 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano amoxicilina em função do tempo de análise.....	115
Figura 36 – Variação da porcentagem de adsorção dos antimicrobianos norfloxacin, ciprofloxacina em enrofloxacin em função do tempo de análise.....	117
Figura 37 – Variação da porcentagem de adsorção dos antimicrobianos lincomicina, sulfadiazina, trimetropina e tilosina sobre diferentes tratamentos e em diferentes níveis de concentração.....	127
Figura 38 – Variação da porcentagem de adsorção dos antimicrobianos amoxicilina, ciprofloxacina, norfloxacin e enrofloxacin sobre diferentes tratamentos e em diferentes níveis de concentração.....	128
Figura 39 – Coeficientes de correlação dos modelos de isotermas avaliados obtidos no estudo dos antimicrobianos individuais sobre os solos X e Z e em diferentes tipos de tratamentos.....	134
Figura 40 – Comparação dos coeficientes de adsorção lineares (K_d) dos antimicrobianos individuais analisados por CLAE-UV, nos dois tipos de solos em diferentes tratamentos.....	136
Figura 41 – Comparação dos coeficientes de adsorção lineares (K_d) dos antimicrobianos individuais analisados por CLAE-FLU, nos dois tipos de solos em diferentes tratamentos.....	137
Figura 42 – Classificação em ordem crescente de adsorção dos antimicrobianos em ambos os tipos de solos in natura.....	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ocorrência de antimicrobianos de diferentes grupos farmacológicos no ambiente.....	29
Tabela 2 – Dados de adsorção de antimicrobianos obtidos em diferentes tipos de solos e países compilados por Pereira et al. (2012).....	38
Tabela 3 – Propriedades físicas e químicas dos antimicrobianos veterinários estudados neste trabalho.....	45
Tabela 4 – Condições cromatográficas para análise em mistura dos antimicrobianos.....	50
Tabela 5 – Condições cromatográficas para análise individual dos antimicrobianos.....	51
Tabela 6 – Codificação dos solos investigados de acordo com o tratamento utilizado.....	54
Tabela 7 – Concentrações dos antimicrobianos (soluções individuais) utilizadas para o estudo de estabilidade em solução e de adsorção em solos X S/T (turfa, Taquaral-SP) e Z S/T (solo, Araraquara-SP).....	58
Tabela 8 – Concentrações dos antimicrobianos em soluções individuais utilizadas para construção das isotermas de adsorção nos solos X (turfa, Taquaral – SP) e Z (solo, Araraquara – SP), in natura, estéril e calcinado e no solo de Araraquara-SP associado à cama de frango.....	62
Tabela 9 – Concentrações dos antimicrobianos (soluções em mistura) utilizadas para o estudo de adsorção no solo Z S/T (Araraquara – SP) e solo Z associado à cama de frango.....	65
Tabela 10 – Concentrações dos antimicrobianos em mistura utilizadas para construção das isotermas de adsorção no solo Z (Araraquara-SP) in natura e este mesmo solo associado à cama de frango.....	67
Tabela 11 – Critérios de mobilidade dos antimicrobianos veterinários de acordo com o Diretório de Segurança de Pesticidas do Reino Unido (DSPRU).....	68
Tabela 12 – Critérios para a avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais segundo método de Goss (GOSS, 1992).....	70
Tabela 13 – Antimicrobianos mais utilizados na criação de frangos de corte no Brasil de acordo com o relatório do PAMvet-PR (SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO PARANÁ, 2013).....	73
Tabela 14 – Resultados nas análises dos solos.....	74
Tabela 15 – Resultados das análises de cama de frango e cama de frango associada ao solo Z (Araraquara-SP).....	75
Tabela 16 – Comprimentos de onda selecionados para análise por CLAE-FLU.....	78
Tabela 17 – Precisão intermediária dos tempos de retenção e áreas cromatográficas para os antimicrobianos analisados individualmente e em mistura.....	82
Tabela 18 – Faixa linear, equações das curvas analíticas e coeficientes de correlação dos antimicrobianos individuais obtidos por CLAE-FLU-UV.....	86

Tabela 19 – Faixa linear, equações das curvas analíticas e coeficientes de correlação dos antimicrobianos analisados em mistura obtidos por CLAE-FLU-UV.....	89
Tabela 20 – Diferença percentual dos coeficientes angulares das equações das curvas analíticas: H_3PO_4 $0,020 \text{ mol L}^{-1}$ versus $CaCl_2$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$	90
Tabela 21 – Áreas cromatográficas e coeficientes de variação obtidos entre as replicatas (n=3, exemplo para sulfadiazina individual $20 \mu\text{g cm}^{-3}$).....	92
Tabela 22 – Repetibilidade e variação da concentração ao longo do estudo de estabilidade em solução.....	95
Tabela 23 – Dados de adsorção obtidos pelas isothermas lineares, Freundlich e Langmuir para os antimicrobianos individuais e em mistura no solo Z S/T (Araraquara – SP) e em mistura neste mesmo solo associado à cama de frango.....	121
Tabela 24 – Dados de adsorção obtidos pelas isothermas lineares, Freundlich e Langmuir para os antimicrobianos individuais nos solos X e Z, sobre os três tratamentos: in natura, esterilizado e calcinado.....	130
Tabela 25 – Comparação dos coeficientes de adsorção (K_d e K_{OC}) para o solo Z S/T (Araraquara – SP) e demais da literatura.....	140
Tabela 26 – Comparação da mobilidade dos antimicrobianos veterinários de acordo com o Diretório de Segurança de Pesticidas do Reino Unido (DSPRU) (BOXALL et al., 2013): aplicação da abordagem aos do K_{OCs} obtidos neste trabalho para o solo Z S/T e àqueles encontrados na literatura.....	142
Tabela 27 – Comparação da estimativa de contaminação de águas superficiais utilizando o método de Goss: aplicação da abordagem aos do K_{OCs} obtidos neste trabalho para o solo Z S/T e àqueles encontrados na literatura.....	143
Tabela 28 – Resultados da aplicação do índice de GUS aos antimicrobianos no solo Z S/T (Araraquara – SP).....	145

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APTAS	Alto Potencial de Transporte Associado ao Sedimento
APTDA	Alto Potencial de Transporte Dissolvido na Água
BPTAS	Baixo Potencial de Transporte Associado ao Sedimento
BPTDA	Baixo Potencial de Transporte Dissolvido na Água
CAS	Chemical Abstracts Service
CLAE-FLU	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de fluorescência
CLAE-UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de ultravioleta
CO	Carbono Orgânico
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
CV	Coeficiente de Variação
C18	Octadecil Silano
DSPRU	Diretório de Segurança de Pesticidas do Reino Unido
EUA	Estados Unidos da América
GUS	Groundwater Ubiquity Score
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
H+Al	Acidez Potencial
K_d	Coeficiente de Adsorção
K_{oc}	Coeficiente de Adsorção normalizado
K_L	Coeficiente de Adsorção de Langmuir
K_F	Coeficiente de Adsorção de Freundlich
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MIX	Solução em Mistura dos Antimicrobianos
MM	Massa Molar
MO	Matéria Orgânica
MPTAS	Médio Potencial Transporte Associado ao Sedimento
OECD	Organization for Economic Co-Operation and Development
PAMvet-PR	Programa Estadual de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal
PLN	Potencial de Lixiviação Nulo
PPL	Provável Potencial de Lixiviação
SESA	Secretaria da Saúde do Estado do Paraná
$t_{1/2}$	Tempo de Meia Vida no Solo
t_R	Tempo de retenção em minutos
UBABEF	União Brasileira de Avicultura
UV-VIS	Detector de Ultravioleta e Visível
V%	Porcentagem de Saturação por Bases
X S/T	Turfa de Taquaral-SP in natura (sem tratamento)
X ES	Turfa de Taquaral-SP esterilizado
X MU	Turfa de Taquaral-SP calcinado
Z S/T	Solo de Araraquara-SP in natura (sem tratamento)
Z ES	Solo de Araraquara-SP esterilizado
Z MU	Solo de Araraquara-SP calcinado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Avicultura industrial no Brasil e no mundo: aspecto econômico, sistemas de criação e riscos gerais associados à produção avícola	19
1.1.1. Aspecto econômico.....	19
1.1.2. Sistemas de criação.....	22
1.1.3. Riscos gerais associados à produção avícola.....	25
1.2. Vias de entrada, ocorrência e comportamento de antimicrobianos no ambiente	26
1.2.1. Vias de entrada e ocorrência de antimicrobianos no ambiente.....	26
1.2.2. Comportamento de antimicrobianos no ambiente.....	34
3. APRESENTAÇÃO DA TESE	42
3. OBJETIVOS	43
3.1. Objetivo geral	43
3.2. Objetivos específicos	43
4. MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1. Materiais	44
4.1.1. Solventes, reagentes e padrões analíticos.....	44
4.1.2. Vidraria e equipamentos.....	44
4.2. Métodos	48
4.2.1. Limpeza de vidraria.....	48
4.2.2. Preparo de soluções padrão dos antimicrobianos.....	48
4.2.3. Estratégia para escolha dos antimicrobianos veterinários.....	49
4.2.4. Obtenção dos espectros de absorvância para análise por CLAE-UV e seleção dos comprimentos de onda de excitação e emissão para análise por CLAE-FLU.....	50
4.2.5. Desenvolvimento e otimização das condições cromatográficas.....	50
4.2.6. Determinação da linearidade da resposta dos detectores (CLAE-UV e CLAE-FLU), curvas analíticas e limites de quantificação.....	51

4.2.7. Comparação da resolução cromatográfica: analitos preparados em H_3PO_4 0,020 mol L^{-1} versus analitos preparados em $CaCl_2$ 0,010 mol L^{-1}	52
4.2.8. Obtenção das amostras de cama de frango e de solos.....	53
4.2.9. Incorporação da cama de frango ao solo Z S/T (Araraquara-SP).....	54
4.2.10. Estudos de adsorção.....	54
4.2.10.1. Estudos de adsorção com os antimicrobianos analisados individualmente.....	55
4.2.10.2. Estudos de adsorção com os antimicrobianos misturados para o solo Z S/T (Araraquara – SP) e em cama de frango associada a este solo.....	62
4.2.10.3. Determinação dos coeficientes de adsorção K_d , K_L , K_F e K_{oc} dos antimicrobianos individuais e em mistura.....	67
4.2.11. Avaliação da mobilidade dos antimicrobianos e do potencial de contaminação de águas superficiais.....	68
4.2.12. Avaliação do potencial de lixiviação dos antimicrobianos estudados.....	70
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	72
5.1. Considerações gerais.....	72
5.2. Antimicrobianos selecionados para o estudo.....	73
5.3. Análises físicas e químicas das amostras de solo e cama de frango.....	74
5.4. Otimização das condições cromatográficas.....	75
5.5. Linearidade da resposta cromatográfica dos detectores e curvas analíticas obtidas por CLAE-FLU-UV.....	83
5.6. Resultados da comparação da resposta cromatográfica dos antimicrobianos preparados em H_3PO_4 0,020 mol L^{-1} versus antimicrobianos individuais preparados em $CaCl_2$ 0,010 mol L^{-1}.....	89
5.7. Resultados do estudo para determinação da razão massa/volume do sistema solo/solução.....	90
5.8. Resultados do estudo de estabilidade dos antimicrobianos em solução.....	92
5.9. Resultados dos estudos de adsorção.....	96
5.9.1. Seletividade.....	96
5.9.2. Resultados dos estudos de adsorção em uma única concentração.....	99
5.10. Isotermas de adsorção.....	119
5.10.1. Discussão das estratégias números 1 e 2.....	120
5.10.2. Discussão da estratégia número 3.....	128
5.10.3. Avaliação da mobilidade e estimativa da contaminação de águas superficiais e subterrâneas.....	141

6. CONCLUSÕES.....	147
7. PERSPECTIVAS PARA CONTINUIDADE DO ESTUDO.....	149
REFERÊNCIAS.....	150
APÊNDICE A.....	159
APÊNDICE B.....	165
APÊNDICE C.....	179

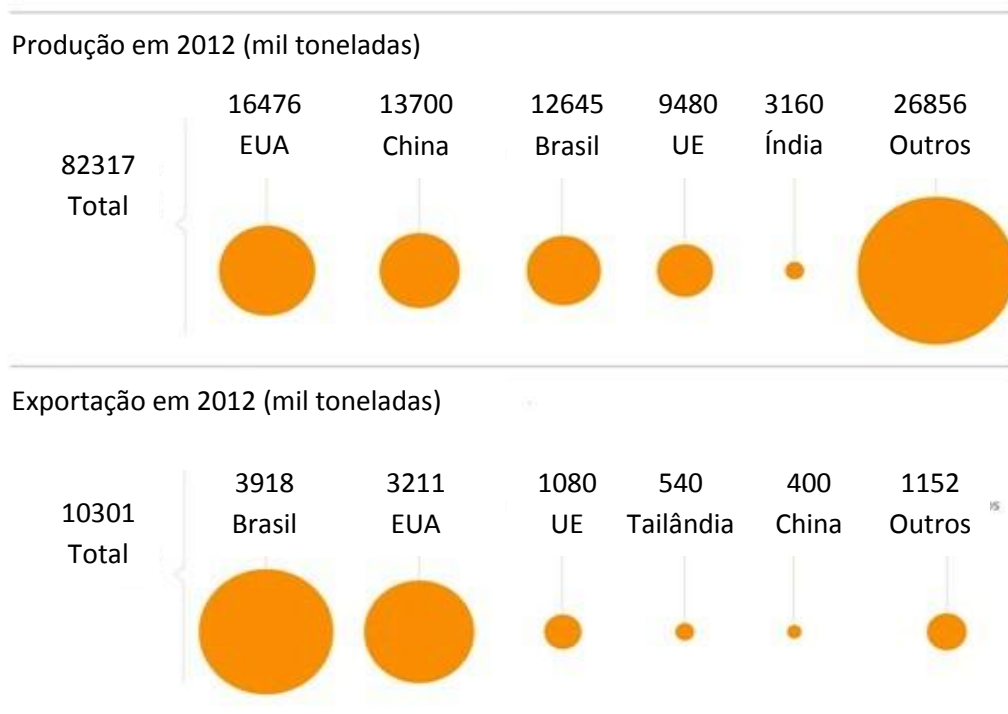
1. INTRODUÇÃO

1.1. Avicultura industrial no Brasil e no mundo: aspecto econômico, sistemas de criação e riscos gerais associados à produção avícola

1.1.1. Aspecto Econômico

A carne de frango é produzida em escala industrial em todo o mundo e o Brasil é um dos maiores produtores. Ela está se tornando cada vez mais popular na refeição diária, por tratar-se de um tipo de carne com baixo teor de gorduras e menor custo que suína e bovina (PARANÁ, 2013). Atualmente o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de frango, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e China, com uma participação de 15,4% da produção mundial no ano de 2012. E em 2004, tornou-se o primeiro exportador e desde lá não perdeu seu posto, com uma participação de 38,0% das exportações mundiais (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA, 2013b). Os gráficos da Figura 1 ilustram a produção e exportação mundial em toneladas de carne de frango no ano de 2012.

Figura 1 – Produção e exportação mundial em toneladas de carne de frango em 2012.

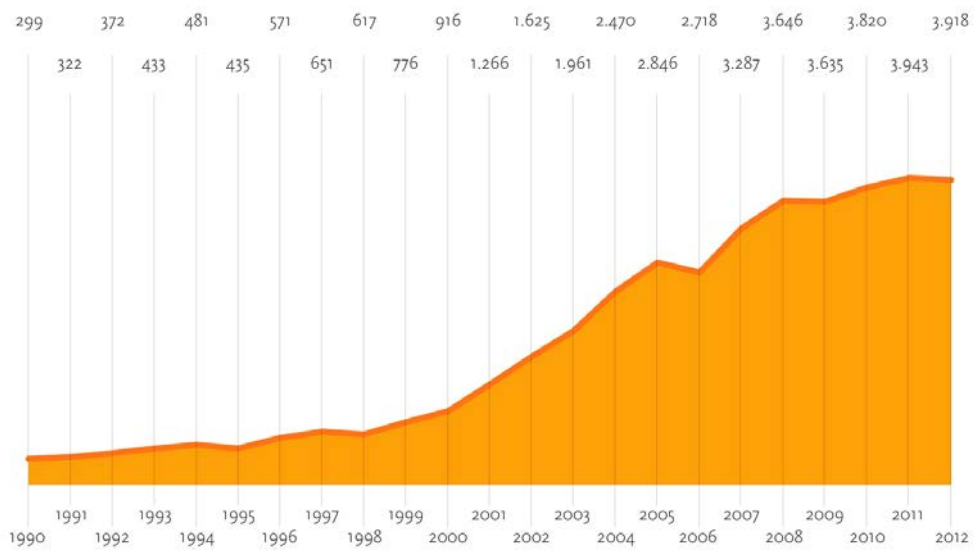


Fonte: adaptado de União Brasileira de Avicultura (2013b).

A Figura 2 mostra a série histórica acerca da exportação mundial de carne de frango de 1990 até 2012. Nesse período houve um crescimento de 1310,4%, evidenciando porque o Brasil tornou-se o maior exportador mundial.

Figura 2 – Série histórica das exportações de carne de frango do Brasil (1990 – 2012).

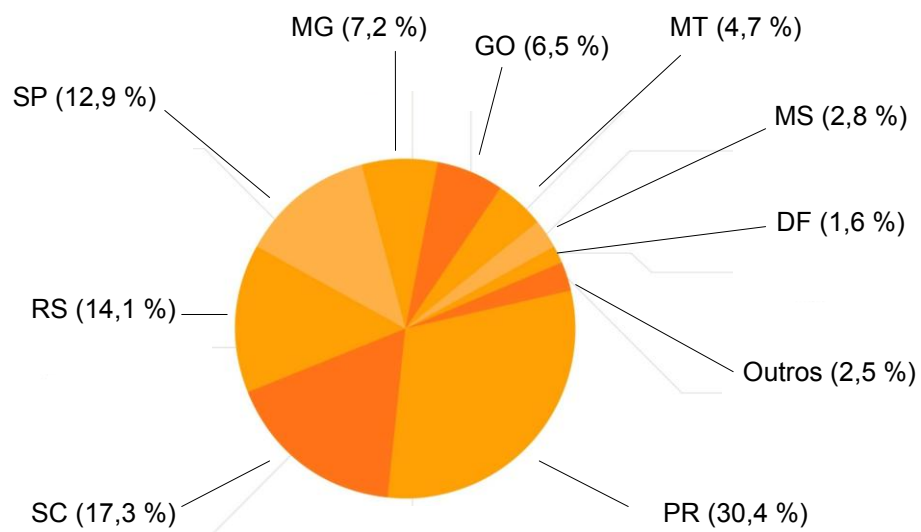
Exportação – série histórica (mil toneladas)



Fonte: adaptado de União Brasileira de Avicultura (2013b).

Atualmente, o Estado de São Paulo é o quarto maior produtor e exportador de frango de corte do país, o que representa 12,9 % e 7,1 % da participação nacional em produção e exportação, respectivamente (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA, 2013b), sendo superado apenas pelos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, demonstrando sua importância no cenário nacional (Figura 3). As unidades de produção estão distribuídas por todo Estado, mas concentram-se nas regiões de Campinas, Araraquara, São Carlos, Sorocaba, Bragança Paulista e Tietê.

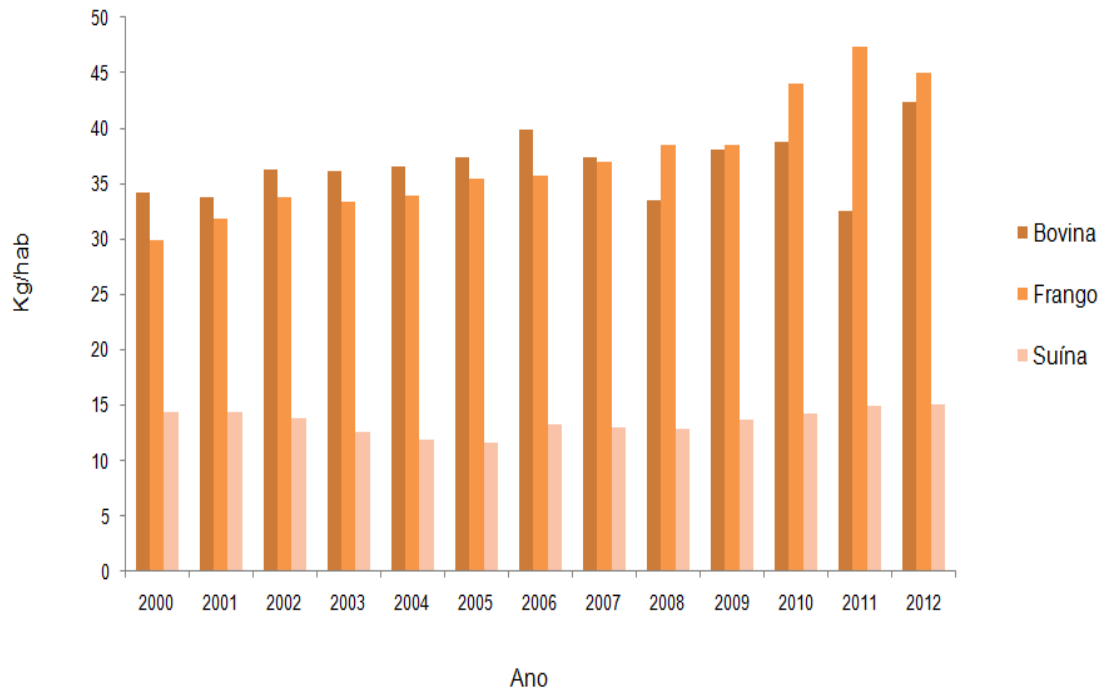
Figura 3 – Produção de frangos de corte por Estado brasileiro em 2012.



Fonte: adaptado de União Brasileira de Avicultura (2013b).

Ainda segundo a União Brasileira de Avicultura (UBABEF), no ano de 2011, o consumo per capita de carne de frango no Brasil foi de 47,4 kg/hab/ano, sendo o 7º maior de um ranking de 77 países e a frente de grandes exportadores e produtores como Estados Unidos e China (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA, 2013b). O consumo de carne de frango cresceu 50,5% nos últimos doze anos, passando de 29,9 para 45,0 kg por habitante. Graças a este elevado crescimento, o consumo de carne de frango ultrapassou pela primeira vez o de carne bovina no ano de 2008, tornando-se a carne mais consumida pelos brasileiros (Figura 4). Com todo este desempenho, a carne de frango passou a ser a carne mais produzida, mais consumida e mais exportada pelo Brasil.

Figura 4 – Evolução do consumo das carnes bovina, de frango e suína.



Fonte: elaborada pelo autor.

1.1.2. Sistemas de criação

Os sistemas de manejo avícola podem ser classificados em três formas de exploração: extensiva, semi-intensiva e intensiva. A forma extensiva tem como característica fundamental a criação dos animais em liberdade, recebendo uma porção diária de milho, passando o resto do tempo ciscando e procurando outros alimentos como pequenos animais e vegetais, debicando e esgratando em volta da casa à procura de alimento, ou seja, sem controle específico do que é ingerido (ALBUQUERQUE, 2005).

Já na forma semi-intensiva, as aves encontram-se restritas a um campo aberto, porém delimitado por uma cerca aramada. Neste espaço existe um pequeno galinheiro no qual os animais são mantidos em local fechado durante a noite. É um sistema mais controlado do que o extensivo, uma vez que permite ao criador fornecer praticamente todo alimento e água. O número de aves varia entre 50 e 200, sendo considerada uma criação de pequena escala (SARCINELLI et al., 2007).

E por último, o sistema intensivo é utilizado para criações que requerem maior investimento, tanto financeiro, como operacional envolvendo mão de obra, sendo

atualmente, a forma de criação mais utilizada no Brasil, tendo como principal característica o número elevado de aves, podendo chegar aos milhares, como ilustrado na Figura 5 (SARCINELLI et al., 2007).

Figura 5 – Sistema de criação intensiva de frango de corte: granja com milhares de animais.



Fonte: Google imagens.

Esse sistema de criação tem possibilitado à avicultura ser explorada com resultados similares durante todo o ano, não dependendo das condições climáticas, que era um fator limitante no passado, devido ao desenvolvimento das técnicas de criação, alimentação e instalação. Tal progresso foi consequência direta dos avanços na investigação sobre incubação artificial, necessidades nutricionais e controle de doenças (SARCINELLI et al., 2007). O conhecimento das diversas patologias e dos procedimentos para preveni-las ou curá-las permitiu viabilizar a intensificação da produção animal. Outras áreas do conhecimento como o melhoramento genético, a determinação das necessidades nutricionais e o balanceamento da ração também foram fundamentais e têm permitido um aumento da eficiência zootécnica desses animais (ALBUQUERQUE, 2005).

Em uma criação intensiva de frangos os gastos com a alimentação representam de 60 a 70% do total e deve ser equilibrada para garantir a qualidade da carne e dos ovos (LIMA, 2005). A ração deve ser composta de milho e sorgo

como fonte de carboidratos, de óleos vegetais e gordura animal para fornecimento de lipídios e, como fonte de proteína, o farelo de soja, de algodão, de girassol e a farinha de origem animal (NICOLETTI, 2005).

Além das fontes de energia, proteína, minerais e vitaminas, são utilizados outros ingredientes aditivos na ração, cuja finalidade é dar aroma, cor, sabor e, principalmente, substâncias que previnem doenças e que estimulam o crescimento das aves, os antimicrobianos (PALERMO NETO, 2006). Cabe ressaltar que uso de hormônios na criação dos frangos é considerado inviável e uma prática proibida no Brasil (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA, 2013a).

Além de atuarem como promotores de crescimento e prevenção de doenças, os antimicrobianos apresentam a vantagem da diminuição do tempo necessário para que se atinja o peso ideal para o abate, diminuição do consumo de ração, aumento da eficiência alimentar, melhoria das qualidades organolépticas e conservação da ração, além da diminuição da mortalidade (ALBUQUERQUE, 2005).

Alguns mecanismos têm sido sugeridos como explicação para utilização dos antimicrobianos como promotores de crescimento, entre eles destacam-se: (a) inibição das infecções subclínicas e, portanto, um animal mais saudável; (b) diminuição da espessura da parede intestinal e; (c) controle dos microrganismos patogênicos presentes no intestino. A atuação dos antimicrobianos, de acordo com os mecanismos propostos, facilitaria a absorção de nutrientes e o animal teria um desenvolvimento mais acelerado (KUMAR et al., 2005).

A produção de frango de corte, no modo intensivo, gera grande volume de cama de frango. A cama de frango é o material distribuído sobre o piso dos galpões e apresenta a finalidade de servir como leito para as aves, absorvendo a umidade, funcionando como isolante térmico e amortecendo o impacto. O material utilizado como cama normalmente pode apresentar de cinco a quinze centímetros de espessura e ser composto por pó de serra, maravalha, cascas de arroz e /ou amendoim, sabugo de milho triturado, palha das culturas em geral e feno de gramíneas (PAGANINI, 2004).

Em vários países, inclusive no Brasil, a cama de frango pode ser reutilizada de três a cinco gerações, acumulando restos de ração, penas e excreta dos animais. A reutilização da cama de frango repercute em um impacto econômico favorável ao

criador uma vez que diminui os custos relativos à aquisição, retirada e disposição, além de evitar a escassez do material e mão de obra para retirá-la do galpão, diminuindo a necessidade de locais apropriados para disposição da cama de frango utilizada (OVIÉDO-RONDÓN, 2008).

1.1.3. Considerações sobre os riscos gerais associados à cama de frango

O sistema intensivo da produção de aves gera uma grande quantidade de resíduo, proveniente da criação, abate e processamento dos animais. Estima-se que no Brasil gera-se anualmente em torno de 9,1 bilhões de quilogramas de cama de frango (SANTOS, 2002).

Este material era amplamente utilizado na alimentação de ruminantes, entretanto, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) proíbe desde 2001 esse tipo de uso em todo o território nacional através da Instrução Normativa nº 15 de dezessete de julho deste mesmo ano, no seu 2º artigo (BRASIL, 2001). Esta decisão foi tomada porque estudos associaram os casos da doença encefalopatia espongiforme bovina, comumente denominada de “síndrome da vaca louca”, ocorridos na Europa, com a possibilidade de transmissão dessa patogenia por meio da cama de frango. Estes resíduos poderiam conter ingredientes de origem animal, que ao serem ingeridos pelos bovinos, passariam a ser portadores desta doença.

Portanto, essa proibição resultou na intensificação do uso da cama de frango como adubo orgânico na lavoura, que apresenta concentrações importantes de nitrogênio, fósforo, potássio, cobre e zinco. Além desses elementos, os antimicrobianos estão presentes na cama de frango, uma vez que para alguns deles a taxa de excreção representa até 90% da dose administrada (KUMAR et al., 2005).

Sabe-se que todo medicamento ingerido ou injetado no animal passa por um processo de absorção, distribuição, biotransformação e excreção. Dessa forma, o destino final dos medicamentos e de seus metabólitos é a excreta das aves, (GONZALES et al., 2005). Portanto, a cama de aviário pode apresentar resíduos destes antimicrobianos e de seus metabólitos e o desconhecimento sobre os impactos destas substâncias no ambiente é motivo de grande preocupação.

Segundo Santos (2002), se a degradação destes compostos na cama avícola não ocorrer eficientemente, o risco de resistência microbiológica pode ser iminente. As bactérias podem passar por alterações do material genético, adquirindo resistência aos fármacos, por exemplo, e tais microrganismos quando presentes em um rio que contenha resíduos de antimicrobianos podem adquirir resistência a essas substâncias. Desde a década de 80, pesquisadores vêm observando que determinadas cepas bacterianas têm se tornado resistentes aos antimicrobianos promotores de crescimento utilizados em aves, e que o uso contínuo desses produtos pode expandir os tipos de genes de resistência na natureza. Nesse sentido, a grande preocupação é que bactérias resistentes em animais de produção possam contribuir para a resistência aos antimicrobianos em humanos.

A contaminação ambiental causada pela cama de frango pode se originar de diferentes formas: pelos elementos inorgânicos nitrogênio e fósforo principalmente; por microrganismos, tais como *Salmonellas* sp e *Escherichia coli* devido à elevada concentração de nutrientes, matéria orgânica e fezes dos animais, nas quais muitos dos microrganismos patogênicos presentes são resistentes aos antimicrobianos usados no tratamento de doenças em humanos e em outros animais de criação doméstica e; por compostos orgânicos, tais como os antimicrobianos. Assim, quando a cama de frango é aplicada ao solo sem nenhum tratamento prévio, como a compostagem, por exemplo, estes microrganismos, os compostos inorgânicos e orgânicos podem contaminar o próprio solo, as lavouras e os mananciais de água (HAHN, 2004; OVIEDO-RONDÓN, 2008).

1.2. Vias de entrada, ocorrência e comportamento de antimicrobianos no ambiente

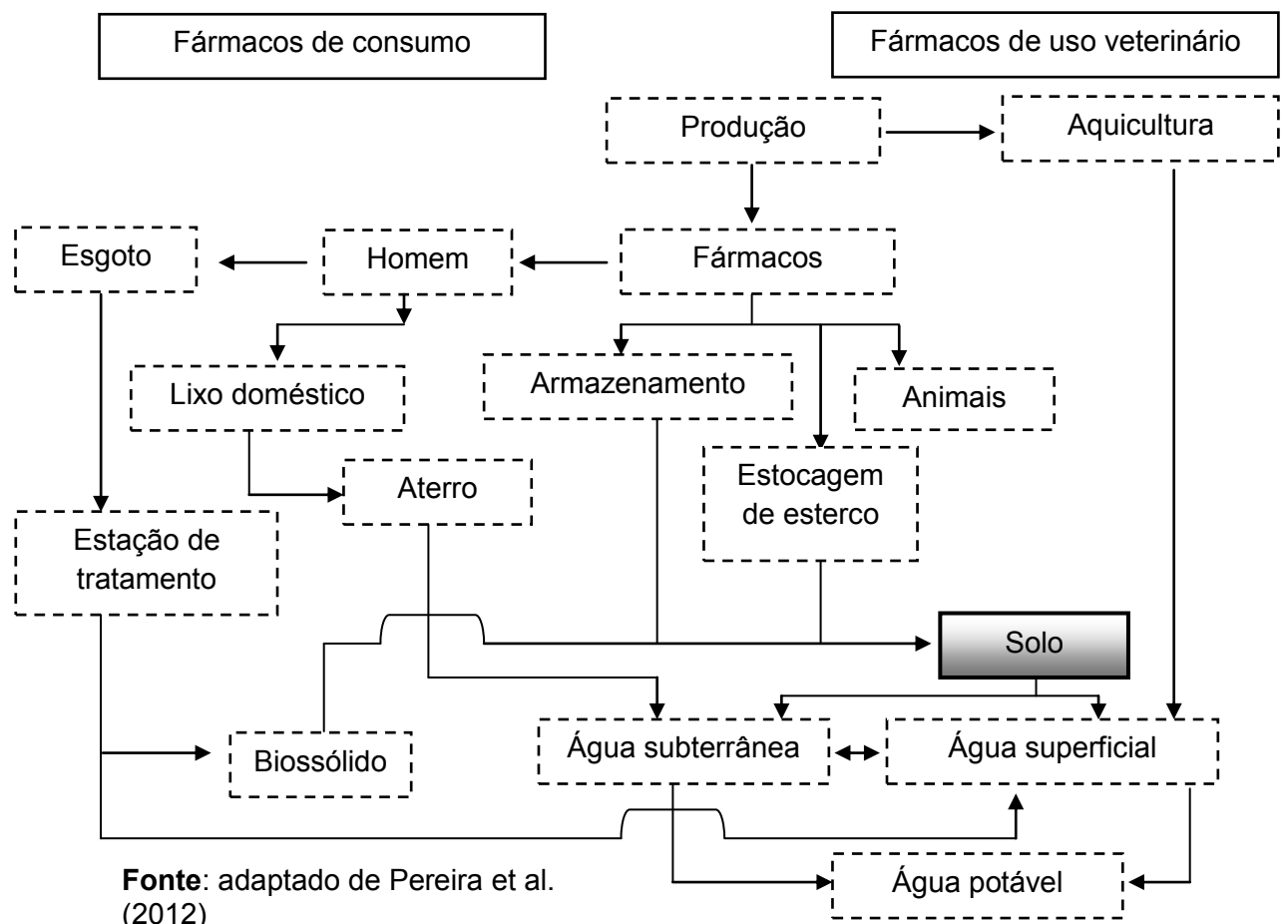
1.2.1. Vias de entrada e ocorrência de antimicrobianos no ambiente

Com a intensificação no uso da cama de frango como adubo na lavoura, o problema passou a ter caráter ambientalista, uma vez que a excreta é muitas vezes lançada diretamente no campo ou empregado como fertilizante em solos cultiváveis sem nenhum cuidado prévio. Além disso, processos atuais de tratamento destes resíduos não são capazes de eliminar completamente os antimicrobianos, podendo tornar uma ameaça ao ambiente já que fármacos veterinários e seus metabólitos

podem ser lixiviados no solo e atingir ecossistemas terrestres e aquáticos, influenciando na potabilidade dos recursos hídricos (GONZALES et al., 2005).

Conforme apresentado na Figura 6, a inserção de antimicrobianos e outros fármacos no ambiente podem ocorrer por meio dos excrementos dos animais, pela contaminação por esgotos industriais e sanitários, pelas más condições de armazenagem dos produtos não utilizados ou com prazo de validade expirado e através de tratamentos administrados na aquicultura. Dentre estes, as fezes e a urina são as maiores fontes de contaminação, já que o esterco é muitas vezes lançado diretamente no pasto ou empregado como fertilizante sem nenhum tratamento prévio (GONZALES et al., 2005; PEREIRA et al., 2012).

Figura 6 – Principais rotas de contaminação do solo por fármacos de uso humano e veterinário.



Apesar da importância da produção avícola para o agronegócio brasileiro de acordo como descrito no item precedente desta tese, o país carece de pesquisas na área, não dispondo de levantamentos abrangentes sobre a ocorrência de resíduos dos principais antimicrobianos de uso veterinário no ambiente. Entre os poucos estudos encontrados na literatura sobre a ocorrência destes compostos no Brasil, destacam-se:

Locatelli et al. (2011) avaliaram a presença de amoxicilina, ampicilina, cefalexina, ciprofloxacina, norfloxacina, sulfamethoxazol e tetraciclina em água do rio Atibaia (SP). Todos os antimicrobianos estudados foram encontrados em pelo menos uma das amostras analisadas, com destaque para norfloxacina cujas concentrações variaram de 0,50 até 51 ng L⁻¹ e para cefalexina, cuja faixa de concentração variou de 2,4 até 133,0 ng L⁻¹.

Leal et al. (2012) investigaram a presença dos antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacin, norfloxacina e danofloxacin) em amostras de solo e cama de frango. Ciprofloxacina, norfloxacina e enrofloxacin foram encontradas em amostras de cama de frango e solo na faixa de concentração de 0,39 a 30,97 mg kg⁻¹. Em outro estudo, estes mesmos compostos, exceto danofloxacin, foram analisados em amostras de cama de frango provenientes do Distrito de Bueno de Andrada, Araraquara (SP), e foram identificados os antimicrobianos ciprofloxacina e enrofloxacin na ordem de 100 µg kg⁻¹ (PAVANI, 2011).

Por outro lado, esse cenário é diferente no mundo uma vez que foram reportados na literatura diversos trabalhos sobre essa temática em diferentes países. Estão listados na Tabela 1 trabalhos encontrados na literatura que mostram a presença de antimicrobianos em águas superficial e subterrânea, solo e em diferentes tipos de esterco animal. Esta tabela foi dividida destacando-se as principais classes de compostos que vêm sendo analisadas nas diferentes matrizes citadas.

Tabela 1 - Ocorrência de antimicrobianos de diferentes grupos farmacológicos no ambiente.

Grupo farmacológico	Antimicrobiano	Concentração	Matriz	País	Referência
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	0,28 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Esterco animal	Reino Unido	Boxall et al., 2002
		0,053 mg kg^{-1}	Solo	Alemanha e Turquia	Uslu et al., 2008
		0,3 a 3,0 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Xiang-Gang et al., 2008
		Até 45,6 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Zhao et al., 2010
		Até 17,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Solo	China	Huang et al., 2013
		Até 2,4 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Huang et al., 2013
	Norfloxacina	Até 225,5 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Zhao et al., 2010
		Até 1,9 mg kg^{-1}	Cama de frango	Malásia	Ho et al., 2012
		Até 95,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Solo	Malásia	Ho et al., 2012
		Até 13,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Solo	China	Huang et al., 2013
		Até 3,6 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Huang et al., 2013
	Ofloxacina	Até 6,0 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Huang et al., 2013
		Até 25,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Solo	China	Huang et al., 2013
	Danofloxacina	Até 1,1 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Zhao et al., 2010
	Enrofloxacina	0,06 mg kg^{-1}	Cama de frango	Turquia	Karci e Balcioglu et al., 2009
		0,05 mg kg^{-1}	Solo	Turquia	Karci e Balcioglu et al., 2009
		Até 1420,8 mg kg^{-1}	Cama de frango	China	Zhao et al., 2010
		Até 61 ng L^{-1}	Estuário	China	Zheng et al., 2011
Até 26,9 mg kg^{-1}		Cama de frango	Malásia	Ho et al., 2012	
Até 377,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$		Solo	Malásia	Ho et al., 2012	
Até 20,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$		Solo	China	Huang et al., 2013	
Até 31,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$		Cama de frango	China	Huang et al., 2013	

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 1 – Continuação.

Grupo farmacológico	Antimicrobiano	Concentração	Matriz	País	Referência
Fluoroquinolonas	Enrofloxacina	Até 2,8 mg kg ⁻¹	Cama de frango	Áustria	Martínez-Carballo et al., 2007
		0,37 mg kg ⁻¹	Solo	Áustria	Martínez-Carballo et al., 2007
		Até 0,204 mg kg ⁻¹	Solo	Alemanha e Turquia	Uslu et al., 2008
β-lactâmicos	Amoxicilina	< 10 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
	Piperaciclina	Até 15 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
	Azitromicina	Até 13 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
	Claritromicina	Até 20 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
	Clindamicina	Até 30 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
Macrolídeos	Eritromicina	Até 1,70 µg L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Hirsch et al., 1999
		2,5 µg L ⁻¹	Água superficial	EUA	Campagnolo et al., 2002
	Roxitromicina	Até 300 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
		Até 31,6 µg kg ⁻¹	Cama de frango	Malásia	Ho et al., 2012
		Até 30 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
		Até 210 µg kg ⁻¹	Cama de frango	China	Huang et al., 2013
	Tilosina	90 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
		Até 13,7 mg kg ⁻¹	Cama de frango	Malásia	Ho et al., 2012
		Até 679 µg kg ⁻¹	Solo	Malásia	Ho et al., 2012
	Lincomicina	Até 240 µg L ⁻¹	Água superficial	EUA	Campagnolo et al., 2002
21,1 µg L ⁻¹		Água superficial	Reino Unido	Boxall et al., 2005	
8,5 µg kg ⁻¹		Solo	Reino Unido	Boxall et al., 2005	
	Até 8,7 µg kg ⁻¹	Biossólido	EUA	Ding et al., 2011	

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 1 – Continuação.

Grupo Farmacológico	Antimicrobiano	Concentração	Matriz	País	Referência
Tetraciclinas	Clortetraciclina	0,15 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	EUA	Lindsey et al., 2001
		Até 1 mg L^{-1}	Água superficial	EUA	Campagnolo et al., 2002
		4,6 a 7,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Solo	Alemanha	Hamscher et al., 2002
		Até 46 mg kg^{-1}	Esterco de suíno	Áustria	Martínez-Carballo et al., 2007
		Até 347 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Biossólido	EUA	Ding et al., 2011
		Até 73 $\mu\text{g L}^{-1}$	Águas residuais de manejo	China	Wei et al., 2011
		Até 2,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	China	Wei et al., 2011
	Oxitetraciclina	Até 410 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	EUA	Campagnolo et al., 2002
		71,7 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	Inglaterra	Kay et al., 2005
		Até 29 mg kg^{-1}	Esterco de Suíno	Áustria	Martínez-Caballo et al., 2007
		Até 744 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Biossólido	EUA	Ding et al., 2011
		Até 3,7 $\mu\text{g L}^{-1}$	Águas residuais de manejo	China	Wei et al., 2011
		Até 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	China	Wei et al., 2011
		0,07 a 1,34 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	EUA	Lindsey et al., 2001
Tetraciclina	27 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Solo	Alemanha	Kim et al., 2011	
	282 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Biossólido	EUA	Ding et al., 2011	
	Até 10,3 $\mu\text{g L}^{-1}$	Águas residuais de manejo	China	Wei et al., 2011	
		Até 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	China	Wei et al., 2011

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 1 – Continuação.

Grupo Farmacológico	Antimicrobiano	Concentração	Matriz	País	Referência
Sulfonamidas	Trimetropina	Até 0,20 µg L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Hirsch et al., 1999
		2,5 µg L ⁻¹	Água superficial	EUA	Campagnolo et al., 2002
		Até 71 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
		0,5 µg kg ⁻¹	Solo	Reino Unido	Boxall et al., 2005
		Até 17 mg kg ⁻¹	Cama de frango	Áustria	Martínez-Carballo et al., 2007
		Até 3,4 mg kg ⁻¹	Cama de frango	Malásia	Ho et al., 2012
		Até 60,1 µg kg ⁻¹	Solo	Malásia	Ho et al., 2012
	Sulfametoxazole	0,47 µg L ⁻¹	Água subterrânea	Alemanha	Hirsch et al., 1999
		1,02 µg L ⁻¹	Água superficial	EUA	Lindsey et al., 2001
		0,22 µg L ⁻¹	Água subterrânea	EUA	Lindsey et al., 2001
		Até 98 ng L ⁻¹	Água superficial	Alemanha	Christian et al., 2003
		Até 64 µg L ⁻¹	Águas residuais de manejos	China	Wei et al., 2011
		Até 0,6 µg L ⁻¹	Água superficial	China	Wei et al., 2011
		Até 2,5 µg kg ⁻¹	Solo	França	Tamtam et al., 2011
Sulfametazina	Até 36 mg kg ⁻¹	Biossólido	EUA	Ding et al., 2011	
	Até 2,6 ng g ⁻¹	Solo	Espanha	García-Galán et al., 2013	
	0,16 µg L ⁻¹	Água subterrânea	Alemanha	Hirsch et al., 1999	
	400 µg L ⁻¹	Água superficial	EUA	Campagnolo et al., 2002	
	2 µg kg ⁻¹	Solo	Alemanha	Hamscher et al., 2005	
	Até 211 µg L ⁻¹	Águas residuais de manejos	China	Wei et al., 2011	
	Até 4,7 µg L ⁻¹	Água superficial	China	Wei et al., 2011	
0,22 µg L ⁻¹	Água superficial	EUA	Lindsey et al., 2001		
Até 132 mg kg ⁻¹	Biossólido	EUA	Ding et al., 2011		
Até 20,4 ng g ⁻¹	Solo	Espanha	García-Galán et al., 2013		

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 1 – Continuação.

Grupo Farmacológico	Antimicrobiano	Concentração	Matriz	País	Referência	
Sulfonamidas	Sulfatiazole	0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	EUA	Lindsey et al., 2001	
		Até 0,72 ng g^{-1}	Solo	Espanha	García-Galán et al., 2013	
	Sulfadiazina		51 mg kg^{-1}	Cama de Frango	Áustria	Martínez-Carballo et al., 2007
			91 mg kg^{-1}	Esterco de Peru	Áustria	Martínez-Carballo et al., 2007
			562 mg kg^{-1}	Biossólido	EUA	Ding et al., 2011
			Até 17 $\mu\text{g L}^{-1}$	Águas residuais de manejos	China	Wei et al., 2011
		Até 1 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	China	Wei et al., 2011	
	Até 4,26 ng g^{-1}	Solo	Espanha	García-Galán et al., 2013		
Ionóforos	Monensina	Até 4,1 mg kg^{-1}	Cama de frango	EUA	Sun et al., 2013	
	Salinomicina	Até 21,9 mg kg^{-1}	Cama de frango	EUA	Sun et al., 2013	
	Narasina	Até 3,3 mg kg^{-1}	Cama de frango	EUA	Sun et al., 2013	

Fonte: elaborada pelo autor

De acordo com a Tabela 1 diversas classes de antimicrobianos estão sendo encontradas, em diversos países, em água de rio, solo e esterco, além de cama de frango. Segundo este levantamento, os países que mais reportam trabalhos relacionados com a ocorrência de antimicrobianos no ambiente são os Estados Unidos e China, seguidos dos países europeus Reino Unido, Alemanha, Áustria e Espanha. Completam a lista a Turquia, país euro-asiático e Malásia do sudeste da Ásia.

Esta elevada frequência de antimicrobianos no ambiente fez com que vários países da União Européia e os Estados Unidos iniciassem programas de monitoramento e avaliação do impacto ambiental causado por esses compostos (SARMAH et al., 2006). Nos Estados Unidos, por exemplo, uma pesquisa revelou que antimicrobianos foram encontrados em 27% dos 139 rios investigados em concentrações de até 0,7 mg L⁻¹ e que a principal fonte desses compostos era o esterco animal aplicado na agricultura como adubo contendo resíduos dessas substâncias (KOLPIN et al., 2002; BAGUER et al., 2000).

1.2.2. Comportamento de antimicrobianos no ambiente

Embora existam alguns estudos brasileiros sobre a ocorrência de antimicrobiano no ambiente, ainda são incipientes as informações quanto ao seu comportamento em matrizes ambientais, tais como solo e água e matrizes de interesse ambiental como lodo de esgoto e cama de frango (LOCATELLI et al., 2011; LEAL et al., 2012; PAVANI, 2011).

Como são poucas essas informações quanto ao destino e comportamento dos antimicrobianos no ambiente e o impacto à saúde humana, investigações para elucidar a influência destes compostos no ecossistema são necessárias a fim de estabelecer uma gestão segura de destinação e tratamento destes resíduos. Algumas das estratégias para avaliar o comportamento desses compostos no ambiente são investigar as interações com o solo, por meio de estudos de adsorção, dessorção, lixiviação e degradação (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011a; ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011b).

A distribuição de uma substância entre as fases sólida e aquosa do solo é um processo complexo que depende de uma série de fatores: a natureza química da substância, as características do solo e fatores climáticos, como precipitação pluviométrica, temperatura, exposição à radiação e vento. Estudos de adsorção e lixiviação geram informações importantes sobre a mobilidade de substâncias químicas e sua distribuição nos compartimentos solo, água e ar. Podem ser utilizadas na previsão ou estimativa, por exemplo, da disponibilidade de uma substância química para degradação, para transformação e incorporação por organismos, para lixiviação através do perfil do solo e o escoamento até as águas superficiais e subterrâneas. Assim, informações valiosas sobre o impacto ambiental de uma substância química e os numerosos fenômenos e mecanismos envolvidos podem ser obtidas por esses estudos (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011a; ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011b).

Fan et al. (2011) investigaram a adsorção e lixiviação de sulfametazina radiomarcada (classe das sulfonamidas), em sistema solo-água, em escala laboratorial e diferentes tipos de solo. Os estudos de adsorção indicaram que a sulfametazina radiomarcada foi degradada a um metabólito mais polar que o composto precursor, porém sua estrutura química não foi elucidada. Os coeficientes de adsorção (K_d) para sulfametazina situaram-se entre 7,5 e 206,2 L kg⁻¹ e que havia correlações fortemente positivas entre a adsorção do metabólito mais polar com as frações silte e argila dos solos, assim como com a matéria orgânica e, correlações negativas com a fração arenosa dos solos. Os experimentos de lixiviação mostraram que de 33 a 70 % de sulfametazina foi degradada em seis horas e que de 69 a 99,7 % do composto precursor e seu metabólito foram recuperados no eluato das colunas de lixiviação, sugerindo que ambos apresentam elevada mobilidade.

Boxall et al. (2002) variaram o pH de solos argiloso e arenoso para verificar o comportamento de outra sulfonamida, a sulfacloropiridazina. Foi observado que a adsorção deste composto diminuiu em ambos os solos com o aumento do pH, apresentando baixos valores de K_d (0,9 a 1,8 L kg⁻¹), os quais indicaram que a substância seria altamente móvel.

A adsorção dos antimicrobianos oxitetraciclina, tetraciclina e clortetraciclina, da classe das tetraciclinas, foi estudada por Sassman e Lee (2005) em solos com diferentes pHs, quantidade de argila, capacidade de troca catiônica e carbono orgânico. As três tetraciclinas apresentaram elevada adsorção, especialmente nos solos mais ácidos e altamente argilosos e quando normalizada a capacidade de troca catiônica, houve um decréscimo da adsorção com o aumento do pH. Como as tetraciclinas apresentam múltiplos grupos funcionais, elas podem existir de três formas: catiônica, apresentando uma carga positiva; neutra (zwitteriônica) com uma carga positiva e uma negativa; e aniônica possuindo duas cargas negativas e uma positiva. Nesse sentido foram estimados os coeficientes de adsorção (K_d) para cada espécie e os autores identificaram que os maiores valores desta constante foram para as espécies catiônicas, sugerindo que a adsorção ocorre nos sítios negativos do solos.

Pils e Laird (2007) também estudaram o comportamento de duas tetraciclinas (tetraciclina e clortetraciclina) em dois tipos de solos argilosos. Os autores constataram que havia adsorção preferencial na fração argilosa, seguida pelas substâncias húmicas e, por último, pela mistura de argila com as substâncias húmicas.

Enquanto os trabalhos citados anteriormente estudaram apenas um grupo farmacológico em cada um de seus estudos, Rabolle e Spliid (2000) avaliaram a adsorção de antimicrobianos de diferentes classes em vários tipos de solos. Os coeficientes de adsorção (K_d) variaram entre 0,5 e 0,7 L kg⁻¹ para metronidazol, (classe dos nitroimidazóis); de 0,7 a 1,7 L kg⁻¹ para olaquinox, (grupo das quinoxalinas); e de 8 a 128 L kg⁻¹ para tilosina (classe dos macrolídeos). O estudo mostrou que a adsorção de tilosina parece correlacionar-se positivamente com o teor de argila do solo e que nenhuma outra relação foi observada. Exceto para a oxitetraciclina que foi fortemente adsorvida em todos os solos investigados, com valores de 417 L kg⁻¹ para solo arenoso até 1026 L kg⁻¹ em solo franco-arenoso.

Kim et al. (2012) investigaram as influências do pH e do teor de matéria orgânica na adsorção de antimicrobianos (oxitetraciclina, amoxicilina e sulfatiazol) em dois tipos de solos sul-coreanos. A capacidade de adsorção dos compostos aumentou com a diminuição do pH dos solos e com o aumento do teor de matéria

orgânica. Os autores concluíram também que a adsorção foi maior no solo argiloso comparado ao arenoso. Além disso, os resultados indicaram que a amoxicilina e sulfatiazol são altamente móveis e, portanto, podem ser transportados rapidamente no perfil dos solos atingindo as águas superficiais. No entanto, a oxitetraciclina apresentou elevada adsorção em solos ácidos e com alta porcentagem de matéria orgânica. Além dessas avaliações, os autores propuseram o modelo de adsorção que melhor representou este fenômeno e concluíram que o modelo de Freundlich se ajustava melhor que o de Langmuir, sugerindo que a energia de adsorção decresce logaritmicamente à medida que a superfície vai se tornando coberta pelo composto.

Os trabalhos descritos anteriormente foram todos realizados em outros países assim como a maioria dos que estão publicados na literatura. A Tabela 2 reúne estudos compilados por Pereira et al. (2012), apresentando trabalhos que se referem aos dados de adsorção de antimicrobianos com diferentes tipos de solos e em diversos países.

Tabela 2 – Dados de adsorção de antimicrobianos obtidos em diferentes tipos de solos e países compilados por Pereira et al. (2012).

Grupo farmacológico	Antimicrobiano	Características do solo			K_d (L g ⁻¹)	K_{oc} (L g ⁻¹)
		pH	Carbono orgânico (%)	Matéria orgânica (%)		
Sulfonamidas	Sulfaclopiridazina	6,5 / 6,8	-	-	0,9 / 1,8	-
	Sulfaclopiridazina	7,2 / 7,5	0,94 / 1,8	-	-	-
	Sulfadiazina	6,7 - 7,0	1,6 - 4,4	-	1,4 - 2,8	37 - 125
	Sulfadimetoxina	6,7 - 7,0	1,6 - 4,4	-	2,3 - 4,6	89 - 144
	Sulfadimidina	6,7 - 7,0	1,6 - 4,4	-	2,3 - 2,7	61 - 150
	Sulfametazina	7,2 / 7,5	0,94 / 1,8	-	-	-
	Sulfametoxazol	4,3 / 6,8	0,4 / 7,1	-	0,23 - 38	62 - 530
	Sulfanilamida	6,7 - 7,0	1,6 - 4,4	-	1,5 - 1,7	34 - 106
	Sulfapiridina	6,9 - 7,0	1,6 - 2,4	-	1,6 - 7,4	101 - 308
	Sulfapiridina	6,9 - 7,0	1,6 - 4,4	-	3,1 - 3,5	80 - 218
Macrolídeos	Tilosina	5,6 - 6,3	1,1 - 1,6	-	8,3 - 128	553 - 7988
	Efrotomicina	5,0 / 6,7 / 7,5	-	0,1 - 4,6	(8 - 290) 10 ⁻³	1,5 - 11

- Dado não fornecido

Fonte: adaptado de Pereira et al. (2012).

Tabela 2 – Continuação.

Grupo farmacológico	Antimicrobiano	Características do solo			K _d (L g ⁻¹)	K _{oc} (L g ⁻¹)
		pH	Carbono orgânico (%)	Matéria orgânica (%)		
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	4,0 / 7,0	0,05 - 8,9	-	150 - 45000	-
	Enrofloxacina	4,8 - 6,6	0,7 - 1,6	-	140 - 5612	(1,7 - 7,7) 10 ⁴
	Norfloxacina	4,0 / 7,0 / 10,0	-	1,9 - 3,3	0,1 - 0,6	5 - 30
	Ofloxacina	4,3 / 6,8	0,4 / 7,1	-	(1,2 - 3,6) 10 ³	(50 - 322) 10 ³
Tetraciclina	Clortetraciclina	5,8 / 7,0	< 5,2	-	> 10 ⁴	-
	Oxitetraciclina	5,6 - 6,3	1,1 - 1,6	-	417 - 1026	(2,8 - 9,3) 10 ⁴
	Oxitetraciclina	1,5 - 11,0	-	-	-	-
	Oxitetraciclina	4,0 - 9,0	0,12 / 0,23	-	80 - 289	-
	Tetraciclina	5,8 / 7,0	3,2 / 5,2	-	> 4 10 ³	-
Nitroimidazóis	Metronidazol	5,6 - 6,3	1,1 - 1,6	-	0,54 - 0,67	39 - 56
Quinoxalinas	Olaquinox	5,6 - 6,3	1,1 - 1,6	-	0,69 - 1,67	46 - 116

- Dado não fornecido

Fonte: adaptado de Pereira et al. (2012).

Os estudos de adsorção apresentados e descritos anteriormente referem-se aos realizados em outros países que apresentam características ambientais bem diferentes quando comparadas às brasileiras. A maioria deles foi realizada em regiões de clima temperado, que apresenta condições ambientais diferentes dos climas tropicais, com elevado volume de chuvas e temperaturas elevadas, além de solos com diferentes texturas e características de fertilidade distintas, como a porcentagem de matéria orgânica e valores de pH. Todas essas peculiaridades tropicais podem contribuir para um comportamento diferente dos antimicrobianos em solos brasileiros e, portanto, necessitam ser avaliados. No Brasil os estudos sobre o comportamento de antimicrobianos em solos são escassos e recentes.

Doretto e Rath (2013) avaliaram o comportamento de adsorção e dessorção do antimicrobiano sulfadiazina (classe das sulfonamidas) em quatro tipos de solos representativos do Estado de São Paulo. Nos experimentos de adsorção os autores encontraram que a sulfadiazina adsorve-se mais fortemente nos solos com maiores teores de matéria orgânica e de argila. Os ensaios de dessorção revelaram que o antimicrobiano se dessorve mais facilmente dos solos mais argilosos em relação aos arenosos, uma vez que a constante de dessorção ($K_{d\text{ess}}$) foi maior do que a constante de adsorção (K_{ads}) nos solos com mais argila. Além disso, os autores indicaram que pode existir fraca interação entre a sulfadiazina e os solos estudados, devido aos baixos coeficientes de adsorção encontrados, o que sugere que tal composto apresenta potencial para atingir águas superficiais e subterrâneas.

Outro estudo brasileiro que destaca o comportamento de antimicrobianos em solos foi realizado por Leal et al. (2012), que avaliaram a adsorção e dessorção de enrofloxacina, ciprofloxacina, danofloxacina e norfloxacina, pertencentes a classe das fluoroquinolonas, em solo e em amostras de cama de frango do Estado de São Paulo. O potencial de adsorção foi muito menor nas amostras cama de frango ($K_d \leq 65 \text{ L kg}^{-1}$) do que nos solos avaliados ($K_d \sim 40.000 \text{ L kg}^{-1}$). A adição de 5 % de cama de frango ao solo não afetou significativamente os fenômenos de adsorção e dessorção dos antimicrobianos. Além disso, ensaios complementares revelaram que apenas 0,5 % da quantidade adsorvida inicialmente nas amostras de solo foi dessorvida posteriormente, enquanto até 42 % de dessorção foi observado para cama de frango. Esta pesquisa revelou ainda a ocorrência destes quatro

antimicrobianos em cama de frango (1,37 a 6,68 mg kg⁻¹) e em solos (até 22,93 mg kg⁻¹).

Embora existam inúmeros estudos envolvendo o comportamento ambiental dos antimicrobianos em solos e outras matrizes, desenvolvidos em diversos países (Tabelas 1 e 2) e que no Brasil os estudos nesta área estão sendo iniciados, existem ainda lacunas importantes a serem preenchidas. Destacamos alguns dos aspectos que deveriam ser priorizados nestes estudos: (i) um número mais expressivo de antimicrobianos de diferentes classes farmacológicas; (ii) avaliação em diferentes tipos de solos, principalmente quanto ao teor de matéria orgânica e de granulometria; (iii) avaliação da influência de diferentes tratamentos prévios aplicados aos solos (calagem, plantio direto, adubação química, aplicação de adubação orgânica); (iv) investigação do efeito sinérgico dos antimicrobianos, uma vez que a maioria dos estudos apresentados na literatura sobre o comportamento de antimicrobianos em diferentes matrizes enfoca um ou mais compostos, porém todos separados, fazendo com que estes estudos se distanciem da realidade; (v) avaliação da influência das excretas incorporadas ao solo no fenômeno de adsorção e/ou degradação destas substâncias, visto que esse material é a fonte dos antimicrobianos veterinários no ambiente; (vi) e por último, com os dados obtidos pelos ensaios anteriores é possível prever o potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas utilizando modelos de dispersão de contaminantes, experimentos de lixiviação e colunas de solo de laboratórios e de campo.

2. Apresentação da tese

A presente tese visou pesquisar algumas das lacunas existentes neste cenário, apresentando estudos de adsorção de nove antimicrobianos, pertencentes a sete diferentes classes farmacológicas, em dois tipos de solos e em cama de frango associada a um tipo de solo, com diferentes tratamentos (esterilizado, isento de matéria orgânica e in natura). Os estudos de adsorção foram realizados com os antimicrobianos juntos e separados uma vez que em uma mistura química, seus componentes podem ter efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos, tornando difícil estimar a contribuição de cada um deles para o fenômeno de adsorção. E finalmente, com os resultados obtidos, avaliou-se o potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas, utilizando modelos de avaliação de risco ambiental relatados na literatura que foram aplicados para diferentes compostos orgânicos tais como pesticidas e antimicrobianos (GOSS, 1992; BOXALL et al. 2013; CABRERA et al., 2008; DORES et al., 2001; LOURENCETTI, 2006).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Considerando que no Brasil dados sobre o papel de antimicrobianos (de uso humano e veterinário) no ambiente são praticamente inexistentes e que levantamentos sobre a comercialização e uso destes compostos nos abatedouros de frango é incipiente, frente à importância desse segmento para o país, o objetivo geral deste estudo foi gerar dados em relação ao comportamento de antimicrobianos no solo, solo associado à cama de frango e estimar o potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas.

3.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste estudo foram:

- ✓ Selecionar os principais antimicrobianos de uso veterinário comercializados e utilizados na criação de frangos de cortes no Brasil e também aqueles que têm sido mais frequentemente encontrados em solo, cama de frango e em outras matrizes tal como o biossólido.
- ✓ Otimizar e validar método cromatográfico por CLAE-UV e CLAE-FLU para análise individual e simultânea dos nove antimicrobianos ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina, amoxicilina, lincomicina, tilosina, trimetropina, sulfadiazina e oxitetraciclina, selecionados pelos critérios do item anterior, no sistema solo/fase aquosa (cloreto de cálcio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$);
- ✓ Determinação das curvas de adsorção e isothermas de adsorção em solo do município de Araraquara (SP) e em turfa proveniente de Taquaral (SP) sobre três tratamentos: esterilização, calcinação (eliminação da matéria orgânica) e in natura;
- ✓ Determinação das isothermas de adsorção em solo do município de Araraquara (SP) associado à cama de frango;
- ✓ Utilização dos dados obtidos pelos estudos de adsorção dos antimicrobianos para avaliar o potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas, aplicando modelos de dispersão de contaminantes no ambiente.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

4.1.1. Solventes, reagentes e padrões analíticos

Os solventes e reagentes utilizados foram metanol, acetonitrila e acetona (grau HPLC, Mallinckrodt, EUA); ácido fosfórico (85%, Chemis, Brasil); Água de alta pureza (obtida de sistema MilliQ, Millipore, EUA) e cloreto de cálcio dihidratado (75%, J.T. Baker, Japão).

Os padrões analíticos dos antimicrobianos amoxicilina (99,3%), lincomicina (100,9%), sulfadiazina (99,7%), trimetropina (99,1%), oxitetraciclina (98,1%), tilosina (83,9%), norfloxacina (99,8%) e ciprofloxacina (99,6%) foram adquiridos do laboratório Sigma-Aldrich. Enrofloxacina (99,0%) foi obtida do laboratório Dr. Ehrenstorfer GmbH. As fórmulas estruturais destes compostos e algumas propriedades físicas e químicas estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Propriedades físicas e químicas dos antimicrobianos veterinários estudados neste trabalho.

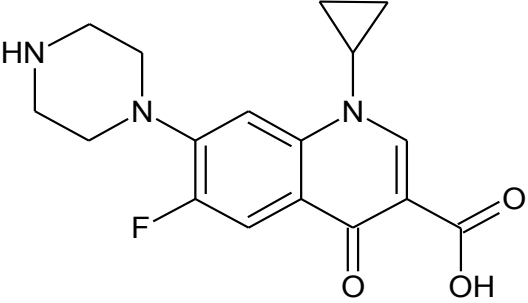
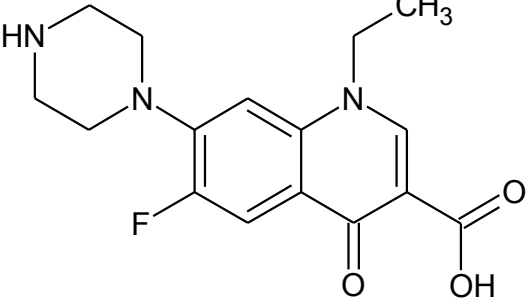
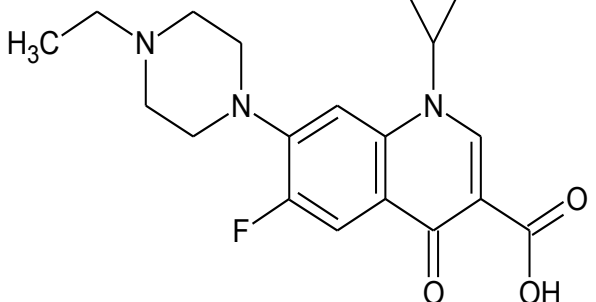
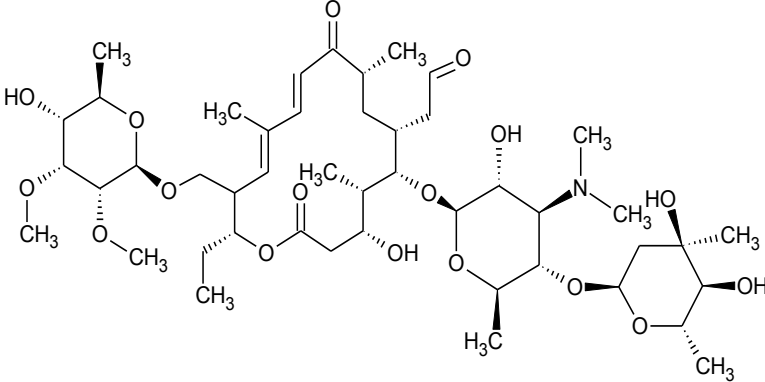
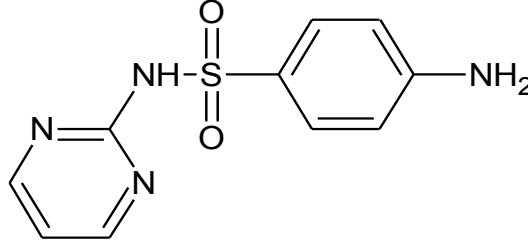
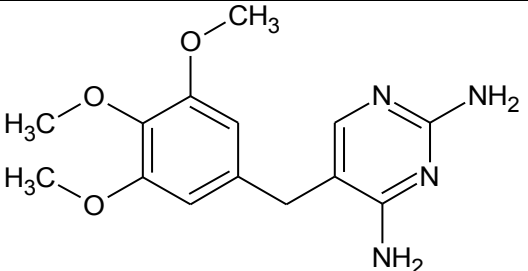
Nome CAS Fórmula Molecular Classe farmacológica	Massa Molar (g mol ⁻¹)	Estrutura	pK _{a(s)}	Solubilidade (mg L ⁻¹)
Ciprofloxacina 85721-33-1 C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃ Fluoroquinolonas	331,34		3,0/6,1/8,7/10,6	1,3 x 10 ³
Norfloxacina 70458-96-7 C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃ Fluoroquinolonas	319,33		3,1/6,1/8,6/10,6	1,8 x 10 ⁵
Enrofloxacin 93106-60-6 C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃ Fluoroquinolonas	359,39		3,9/6,2/7,6/9,9	1,3 x 10 ⁵

Tabela 3 – Continuação.

Nome CAS Fórmula Molecular Classe farmacológica	Massa Molar (g mol ⁻¹)	Estrutura	pK _{a(s)}	Solubilidade (mg L ⁻¹)
Amoxicilina 26787-78-0 C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S β-lactâmicos	365,40		2,4	300
Oxitetraciclina 79-57-2 C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉ Tetraciclinas	460,43		3,3/7,3/9,1	1,4 x 10 ³
Lincomicina 154-21-2 C ₁₈ H ₃₄ N ₂ O ₆ S Macrolídeos	406,54		12,9	0,9 x 10 ³

Tabela 3 – Continuação.

Nome CAS Fórmula Molecular Classe farmacológica	Massa Molar (g mol ⁻¹)	Estrutura	pK _{a(s)}	Solubilidade (mg L ⁻¹)
Tilosina 1401-69-0 C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇ Macrolídeos	916,10		7,1/7,7	0,5
Sulfadiazina 68-35-9 C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S Sulfonamidas	250,28		6,4	77,0
Trimetropina 738-70-5 C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃ Pirimidinas	290,32		3,2/6,8	2,3 x 10 ³

Fonte: elaborada pelo autor

4.1.2. Vidraria e equipamentos

Foi utilizada vidraria comum de laboratório (béquer, pipetas graduadas e volumétricas, funil, balão volumétrico, vidro de relógio, proveta, micropipetas, frascos âmbar de 2 e 40 mL).

Os equipamentos utilizados foram:

- ✓ Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) (Varian, modelo 920-LC), equipado com bomba ternária, injetor automático, detectores de fluorescência e ultravioleta, em série nesta sequência e software Galaxie para aquisição dos dados;
- ✓ Coluna analítica de aço inoxidável Gemini C18 (150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno x 5 µm tamanho da partícula, marca Phenomenex);
- ✓ Espectrofotômetro de Absorção UV-Vis HP8453;
- ✓ Ultrassom Cleaner Thornton; Estufa Fanem, modelo 315 SE; Balança analítica Mettler Toledo AG 245 (0,1 mg); Incubadora refrigerada Marconi MA830; Mufla EDG 3P-S 7000; Autoclave Vertical Norte Científica.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Limpeza de vidraria

O material de vidro utilizado foi imerso em solução de Extran 2% (MA-02-neutro, Merck) e após 24 horas foi enxaguado em água corrente, água de alta pureza e acetona. A secagem da vidraria foi realizada em estufa à 130°C, sendo o material volumétrico seco em temperatura ambiente.

4.2.2. Preparo de soluções padrão dos antimicrobianos

A solução estoque individual de cada antimicrobiano foi preparada na concentração de 1,00 mg mL⁻¹ pela dissolução de 10,0 mg do padrão analítico em 10,0 mL de metanol para os antimicrobianos ciprofloxacina, enrofloxacin, lincomicina, oxitetraciclina, sulfadiazina, trimetropin e tilosina, enquanto amoxicilina e norfloxacina foram dissolvidos em 10,0 mL de água de alta pureza. As soluções de trabalho dos antimicrobianos (em mistura e individuais) foram preparadas por diluição adequada a partir das soluções estoque utilizando como solvente CaCl₂

0,010 mol L⁻¹. Todas as soluções foram armazenadas à 6 °C em frascos âmbar, vedadas com parafilm e renovadas a cada 30 dias.

4.2.3. Estratégia para escolha dos antimicrobianos veterinários

Os antimicrobianos foram escolhidos de acordo com os critérios estabelecidos a seguir, priorizando compostos pertencentes a diferentes classes farmacológicas e considerando suas propriedades físicas e químicas:

(i) No levantamento sobre os principais antimicrobianos de uso veterinário utilizados na criação de frangos de corte no Brasil, segundo um relatório da Secretaria da Saúde do Estado do Paraná, que através do Programa Estadual de Controle de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMvet-PR), realizou um levantamento em 2004, que apontou quais eram as principais classes de antimicrobianos utilizados para a produção de frango de corte nas fases inicial, crescimento e final, nas formas preventiva e terapêutica (PARANÁ, 2013).

(ii) Na avaliação do cenário atual quanto aos compostos que têm sido mais frequentemente encontrados em solo, cama de frango, águas superficiais e subterrâneas, bem como em outras matrizes de interesse ambiental, tanto no Brasil quanto no mundo, cujos trabalhos publicados foram apresentados nas Tabelas 1 e 2 desta tese.

4.2.4. Obtenção dos espectros de absorvância para análise por CLAE-UV e seleção dos comprimentos de onda de excitação e emissão para análise por CLAE-FLU

Para avaliar qual comprimento de onda apresenta melhor detectabilidade e seletividade para análise por CLAE-UV, espectros de absorvância foram obtidos utilizando espectrofotômetro, cujas varredura foi realizada no intervalo de 190 a 600 nm. Por outro lado, para análise por CLAE-FLU, os comprimentos de onda de excitação e emissão foram baseados em dados publicados na literatura, cujos valores eram similares independentemente dos solventes ou mistura desses em que estavam dissolvidos (ZHAO et al., 2010; KARCI; BALCIOGLU et al., 2009; USLU et al., 2008; MARTÍNEZ-CARBALLO et al., 2007).

Os compostos lincomicina, sulfadiazina, trimetropina, oxitetraciclina e tilosina foram analisados por CLAE-UV e amoxicilina, norfloxacina, ciprofloxacina e enrofloxacina foram determinados por CLAE-FLU, por serem fluorescentes e uma vez que esse detector apresenta melhor detectabilidade e seletividade para estas substâncias.

4.2.5. Desenvolvimento e otimização das condições cromatográficas.

A identificação dos antimicrobianos foi realizada pela injeção de cada padrão individualmente e os parâmetros cromatográficos utilizados para as análises dos antimicrobianos em mistura e individuais estão detalhados nas Tabelas 4 e 5 respectivamente.

Tabela 4 – Condições cromatográficas para análise em mistura dos antimicrobianos.

Equipamento	Varian 920-LC	
Coluna cromatográfica	Gemini C18 (150 mm x 4,6 mm , partículas de 5 μm)	
Temperatura da coluna	27°C	
Componentes da fase móvel	H ₃ PO ₄ 0,020 mol L ⁻¹ (A) e Acetonitrila (B)	
Programação do gradiente de eluição	Tempo (min.)	Acetonitrila (B)
	0-11	10%
	11-13	30%
	13-16,5	40%
	16,5-16,8	100%
	16,8-19,0	100%
	Tempo de condicionamento = 5 minutos Tempo de corrida cromatográfica = 25 minutos	
Vazão da fase móvel	1,0 mL min ⁻¹	
Volume de injeção	20 μL	
Compostos - Detecção por UV (comprimentos de onda)	Lincomicina (205 nm); Sulfadiazina, trimetoprim e oxitetraciclina (264 nm); Tilosina (280 nm).	
Compostos - Detecção por FLU (comprimentos de onda)	Amoxicilina (Excitação: 235 nm/ Emissão: 310 nm); Norfloxacina, ciprofloxacina e enrofloxacina (Excitação: 280 nm/ Emissão: 480 nm).	

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 5 – Condições cromatográficas para análise individual dos antimicrobianos.

Equipamento	Varian 920-LC	
Coluna cromatográfica	Gemini C18 C18 (150 mm x 4,6 mm x 5 µm)	
Temperatura da coluna	27°C	
Componentes da fase móvel	H ₃ PO ₄ 0,020 mol L ⁻¹ (A) e Acetonitrila (B)	
Composição da fase móvel por antimicrobiano (modo isocrático)	Antimicrobiano	Acetonitrila (B)
	Amoxicilina	12%
	Lincomicina	16%
	Sulfadiazina	16%
	Trimetoprim	16%
	Norfloxacina	20%
	Ciprofloxacina	20%
	Enrofloxacina	20%
	Oxitetraciclina	25%
Tilosina	31%	
Vazão da fase móvel / tempo de corrida	1,0 mL min ⁻¹ / 5 minutos	
Volume de injeção	20 µL	
Compostos - Detecção por UV (comprimentos de onda)	Lincomicina (205 nm); Sulfadiazina, trimetoprim e oxitetraciclina (264 nm); Tilosina (280 nm).	
Compostos - Detecção por FLU (comprimentos de onda)	Amoxicilina (Excitação: 235 nm/ Emissão: 310 nm); Norfloxacina, ciprofloxacina e enrofloxacina (Excitação: 280 nm /Emissão: 480 nm).	

Fonte: elaborada pelo autor.

4.2.6. Determinação da linearidade da resposta dos detectores (CLAE/UV e CLAE/FLU), curvas analíticas e limites de quantificação.

Soluções padrões individuais e em mistura dos antimicrobianos amoxicilina, lincomicina, sulfadiazina, trimetoprim, oxitetraciclina, tilosina, ciprofloxacina, enrofloxacina e norfloxacina, preparadas em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹, com concentrações entre 0,90 µg L⁻¹ e 90,0 mg L⁻¹ foram injetadas em triplicata nos sistemas CLAE-FLU-UV. Gráficos para avaliar a linearidade foram construídos para cada composto, relacionando-se o valor de área do pico cromatográfico dividida pela concentração (Área/Concentração), no eixo das ordenadas, e concentração no eixo das abscissas, de acordo com o procedimento descrito por Huber como explicitado por Valente et al. (2013).

As curvas analíticas (áreas versus concentração) foram construídas com no mínimo cinco concentrações para cada antimicrobiano, preparadas em CaCl₂ 0,010

mol L⁻¹ e respeitando a linearidade da resposta de cada detector obtida pelo método Huber citado anteriormente. As respectivas equações das curvas analíticas foram obtidas utilizando o método dos mínimos quadrados e estimados pelo *software* Origin Pro 8.0. As injeções foram realizadas em ordem crescente de concentração e em triplicata nos sistemas CLAE-FLU-UV.

Os limites de quantificação dos detectores de UV e FLU foram determinados considerando a menor concentração das soluções padrão dos antimicrobianos individuais e em mistura, preparadas em cloreto de cálcio 0,010 mol L⁻¹, e situada dentro da região linear.

4.2.7. Comparação da resolução cromatográfica: analitos preparados em H₃PO₄ 0,020 mol L⁻¹ versus analitos preparados em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹.

A fim de determinar a influência da solução de cloreto de cálcio 0,010 mol L⁻¹ na resposta cromatográfica, que é utilizada para minimizar a troca catiônica nos estudos de adsorção em solos (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011a), foram construídos gráficos relacionando-se área versus concentração para todos os antimicrobianos estudados individualmente. Essa avaliação foi realizada comparando-se os coeficientes angulares das curvas analíticas preparadas em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹ com os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas para as soluções padrão em H₃PO₄ 0,020 mol L⁻¹, respeitando a faixa linear da resposta do detector. O cálculo para avaliar essa diferença foi efetuado utilizando a equação 1 a seguir:

$$\text{Diferença percentual entre os coeficientes angulares} = \frac{X_1 - X_2}{X_2} \times 100 \quad (1)$$

Sendo X₁ o coeficiente angular da equação da curva analítica preparada em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹ e X₂ o coeficiente angular da equação da curva analítica preparada em H₃PO₄ 0,020 mol L⁻¹. Dessa forma, foi verificado se a solução de cloreto de cálcio 0,010 mol L⁻¹ exerce algum efeito sobre o resultado da análise. Quando o resultado desse cálculo for acima de 10,0%, será considerado que existe um efeito significativo e, portanto, para quantificação dos analitos deverão ser utilizadas as equações das curvas analíticas preparadas em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹.

4.2.8. Obtenção das amostras de cama de frango e de solo

As amostras de cama de frango foram coletadas em uma granja de Bueno de Andrada, Distrito do município de Araraquara e transportadas em caixas isotérmicas até o Instituto de Química da UNESP. Em seguida, foram secas à temperatura ambiente (25 °C), peneiradas (2 mm), homogeneizadas e armazenadas em recipientes de alumínio.

Para os estudos de adsorção foram avaliados dois tipos de solo. Um deles com alto teor de matéria orgânica (turfa) que foi cedida pelo Prof. Dr. Júlio Cesar Rocha do Instituto de Química - UNESP, tendo sido amostrada a uma profundidade de 50 cm no distrito de Taquaral (município de Ribeirão Preto – SP). O objetivo de estudar a adsorção dos antimicrobianos em turfa foi verificar a influência da matéria orgânica envolvida nesse processo. O outro tipo de solo estudado foi coletado em uma região não agrícola do município de Araraquara, a uma profundidade de 20 cm.

As amostras de solo foram secas à temperatura ambiente (25 °C) por uma semana e em seguida homogeneizadas utilizando peneira de 2 mm. Na sequência, foram submetidas a dois tratamentos:

- Esterilização por autoclavagem à 120°C durante 1 hora, baseando-se em Soares et al. (2010). Esse procedimento foi realizado para eliminar a biota do solo a fim de avaliar sua contribuição no processo de adsorção;

- Calcinação em mufla durante 5 horas à 600°C. Esse procedimento foi realizado para eliminar a matéria orgânica a fim de avaliar a sua contribuição no processo de adsorção.

Os estudos de adsorção foram realizados na turfa e no solo, nas formas estéreis, calcinadas e em in natura, ou seja, sem tratamento (apenas secos e homogeneizados utilizando peneira de 2 mm). A Tabela 6 reúne os códigos utilizados para os solos investigados ao longo deste trabalho.

Tabela 6 – Codificação dos solos investigados de acordo com o tratamento utilizado

Solo	in natura (sem tratamento)	Calcinado	Esterilizado
	Códigos adotados		
X - Turfa-Taquaral-SP	X S/T	X MU	X ES
Z - Solo-Araraquara-SP	Z S/T	Z MU	Z ES

Fonte: elaborada pelo autor.

4.2.9. Incorporação da cama de frango ao solo Z S/T (Araraquara-SP).

O procedimento para adição da cama de frango ao solo Z S/T (Araraquara-SP) foi baseada em Abreu (2008), o qual avaliou a produtividade de alface em relação a diferentes fontes de adubos orgânicos. Em uma caixa isotérmica de 12000 cm³ (30 cm comprimento, 20 cm de largura e 20 cm de altura), revestida internamente com papel alumínio, foi colocada uma porção de solo in natura suficiente para formar uma camada de 15 cm. Em seguida, 90 gramas de cama de frango foram adicionadas para que se atingisse a proporção de 1,5 kg/m² (15 ton/hectare), cuja relação foi utilizada por Abreu (2008). Finalmente, homogeneizou-se este material até uma profundidade de 10 cm, permanecendo na incubadora à 25 °C durante três dias até o início dos estudos de adsorção.

4.2.10. Estudos de adsorção.

Os estudos de adsorção basearam-se em um guia da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico sobre adsorção de substâncias químicas em solos e em alguns relatos da literatura que enfocaram estudos com antimicrobianos e matrizes similares ao presente estudo (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011a).

De forma geral, o método consiste em adicionar soluções com concentrações conhecidas dos antimicrobianos, preparadas em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹, em amostras de solos pré-equilibrados com essa solução. A mistura é agitada durante um período apropriado, como por exemplo, até que a concentração permaneça constante. Em seguida, as suspensões do solo são separadas por centrifugação ou decantação, filtradas e a fase aquosa é analisada. A quantidade de substância em estudo adsorvida no solo é calculada como a diferença entre a quantidade, em massa, da

substância inicialmente presente na solução e a quantidade remanescente no final do experimento.

Os estudos de adsorção realizados durante o desenvolvimento desta tese foram divididos em dois grupos: antimicrobianos analisados individualmente e em mistura, cujos ensaios foram realizados separadamente e com diferenças experimentais entre si, as quais estão explicitadas nos próximos itens (4.2.10.1 e 4.2.10.2).

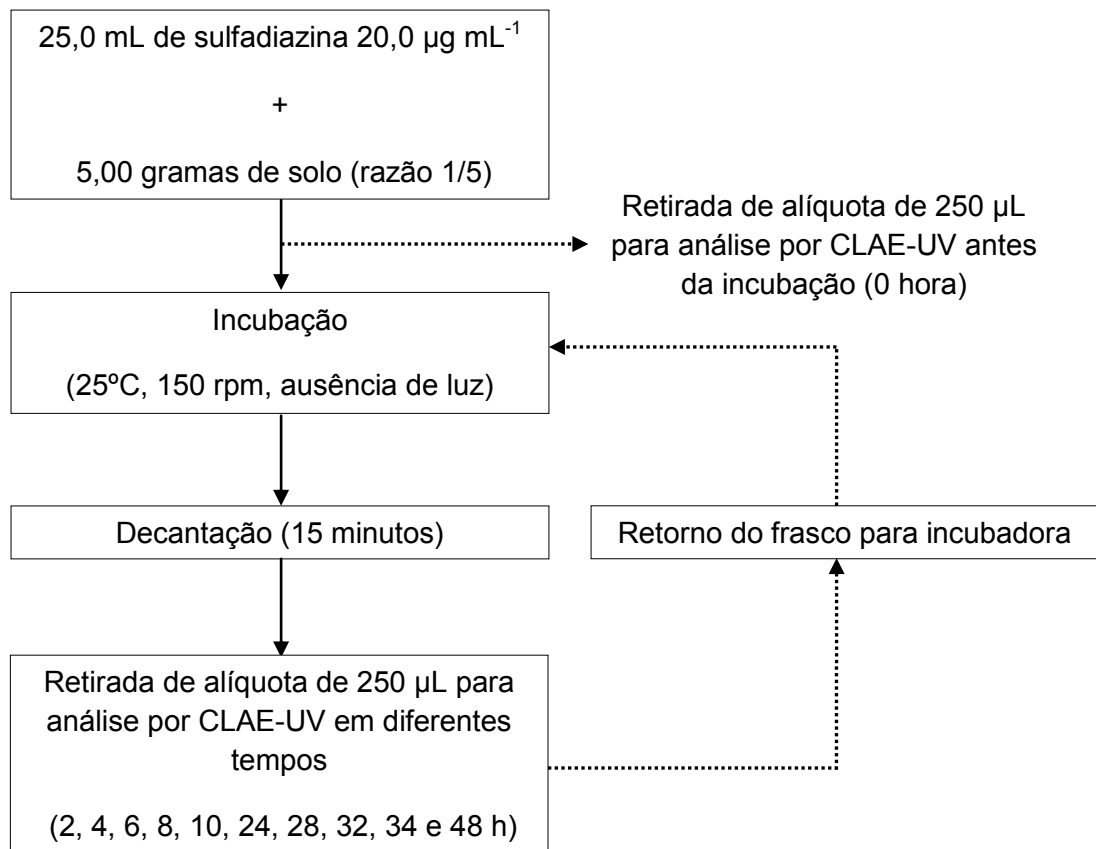
4.2.10.1. Estudos de adsorção com os antimicrobianos analisados individualmente.

Os estudos de adsorção com os antimicrobianos separados foram realizados para os solos X (Taquaral-SP) e Z (Araraquara-SP), sobre os diferentes tratamentos (in natura, esterilizado e calcinado) e em cama de frango associada ao solo Z S/T. Esta etapa do trabalho foi dividida em três níveis:

Nível 1 – Estudo preliminar a fim de determinar a razão massa/volume do sistema solo/solução.

Utilizou-se uma abordagem prática indicada pelo guia da ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (2011a) para selecionar esta razão, baseando-se em uma estimativa do valor de K_d , em $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$, para o antimicrobiano de solubilidade intermediária entre os estudados nesta tese (sulfadiazina). Procedimento: 25,0 mL de sulfadiazina $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, em duplicata, preparada em solução aquosa de CaCl_2 $0,010 \text{ mol L}^{-1}$, foram adicionados em frascos âmbar de 40 mL contendo 5,00 gramas de solo Z S/T, pré-equilibradas por 12 horas com este mesmo sal inorgânico (Figura 7).

Figura 7 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para estimar a razão solo/solução apropriada para execução dos estudos de adsorção.

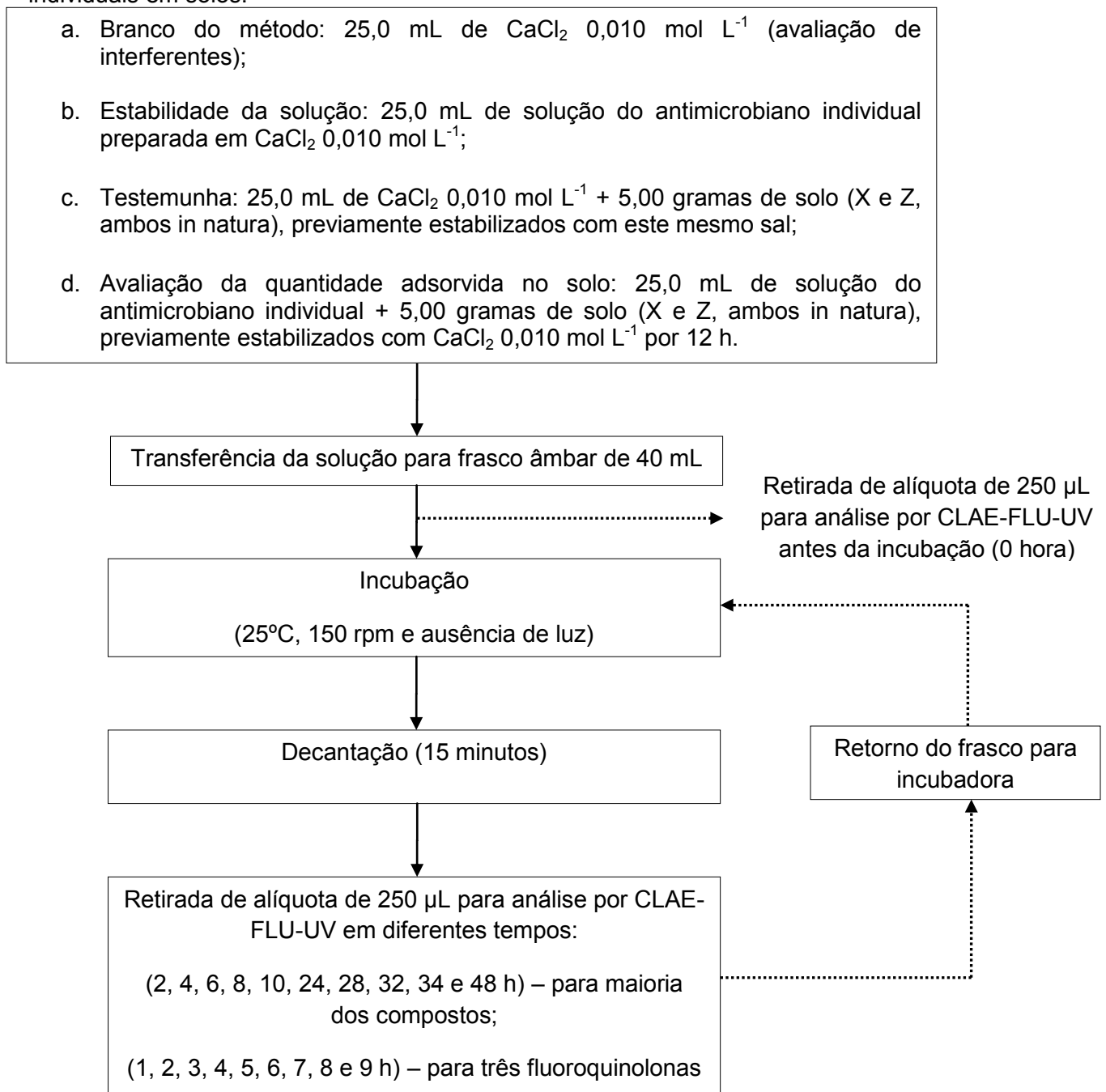


Fonte: elaborada pelo autor.

Nível 2 – Avaliação da estabilidade dos antimicrobianos durante o período do experimento e estimativa da quantidade adsorvida no solo durante o tempo de contato.

O fluxograma apresentado na Figura 8 ilustra o procedimento realizado para avaliação da estabilidade destes compostos em solução e para calcular a quantidade adsorvida de cada antimicrobiano. Estes ensaios foram realizados com todos os antimicrobianos separadamente e nos solos X (Taquaral-SP) e Z (Araraquara-SP), ambos sem tratamento (in natura).

Figura 8 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para execução dos estudos de estabilidade, de adsorção na superfície do recipiente e de adsorção dos antimicrobianos individuais em solos.



Fonte: elaborada pelo autor.

Para cada alíquota retirada, uma solução padrão individual com concentração igual a inicial foi injetada no sistema CLAE-FLU-UV a fim de avaliar se a resposta do detector não variava durante o período de ensaio. As concentrações escolhidas (Tabela 7) estão entre os valores encontrados em trabalhos da literatura em estudos

envolvendo solos (FAN et al., 2011; KASTEEL et al., 2010), cama de frango e esterco de peru (MARTÍNEZ-CARBALLO et al., 2007); além de obedecer a capacidade de detecção dos sistemas cromatográficos utilizados neste trabalho.

Tabela 7 – Concentrações dos antimicrobianos (soluções individuais) utilizadas para o estudo de estabilidade em solução e de adsorção em solos X S/T (turfa, Taquaral-SP) e Z S/T (solo, Araraquara-SP).

Antimicrobiano (CLAE-UV)	Concentração (mg L⁻¹)	Antimicrobiano (CLAE-FLU)	Concentração (mg L⁻¹)
Tilosina	30,0	Ciprofloxacina	0,050
Lincomicina	30,0	Enrofloxacina	0,050
Sulfadiazina	20,0	Norfloxacina	0,050
Trimetropina	30,0	Amoxicilina	1,00
Oxitetraciclina	30,0		

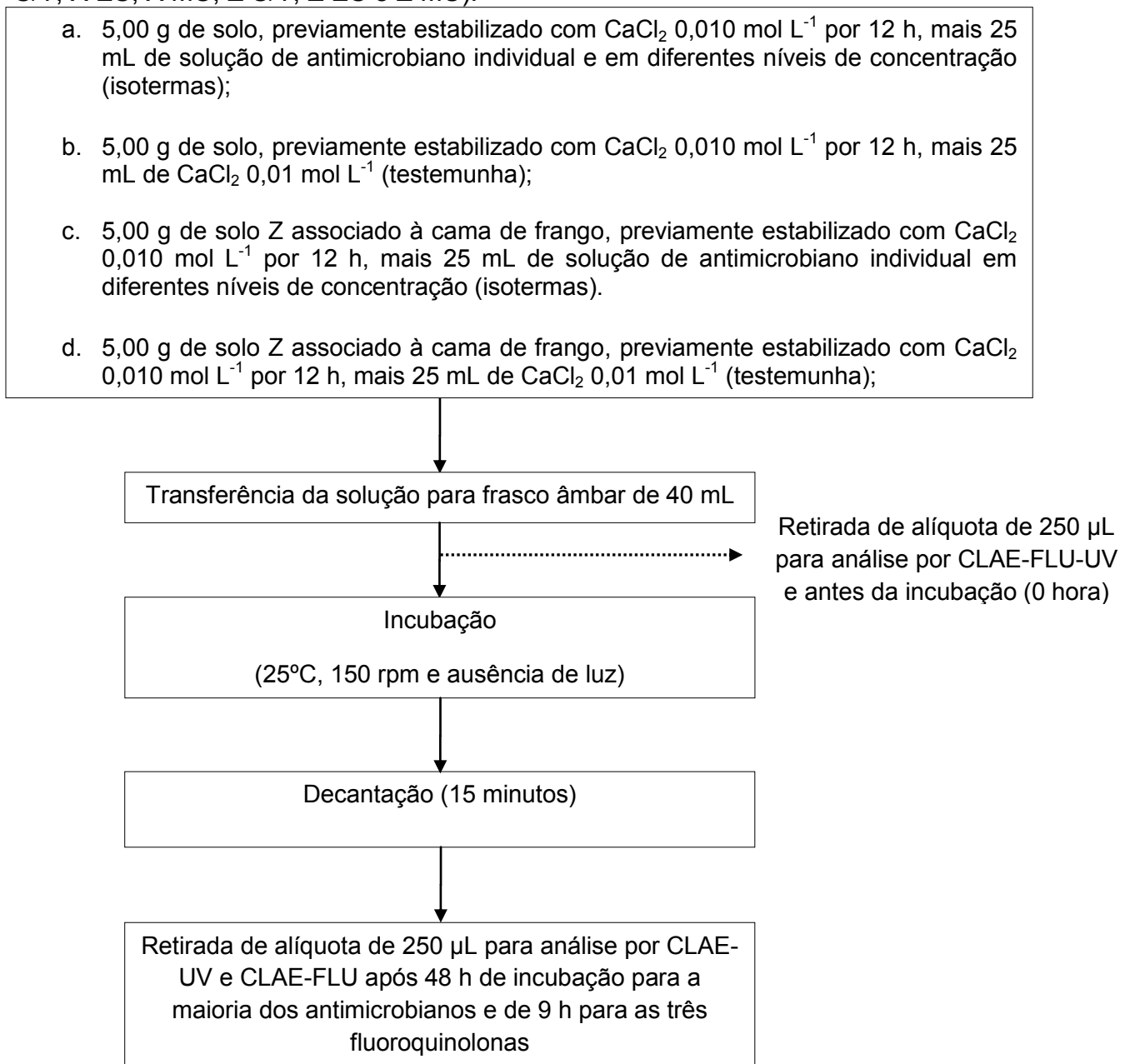
Fonte: elaborada pelo autor.

Utilizando os dados fornecidos por esse experimento, curvas de adsorção foram construídas para cada antimicrobiano relacionando-se a porcentagem de adsorção versus o tempo de análise.

Nível 3 – Determinação das isotermas de adsorção dos antimicrobianos individuais (diferentes níveis de concentração).

Os experimentos realizados no nível 2 precedente avaliaram o fenômeno de adsorção em função do tempo em uma única concentração. Entretanto, no ambiente as concentrações dos compostos são variadas e deve-se investigar a influência desta grandeza no processo de adsorção em solos, ou seja em baixos e elevados valores de concentração do antimicrobiano em solução. O fluxograma apresentado na Figura 9 ilustra o procedimento realizado para construção das isotermas dos antimicrobianos individuais e em todos os tipos de solos e tratamentos (X S/T, X ES, X MU, Z S/T, Z ES e Z MU).

Figura 9 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para construção das isotermas de adsorção para os antimicrobianos individuais em todos os tipos de solos e tratamentos (X S/T, X ES, X MU, Z S/T, Z ES e Z MU).



Fonte: elaborada pelo autor.

Em seguida, isotermas de adsorção foram construídas em diferentes níveis de concentração, plotando-se a quantidade de antimicrobiano adsorvida no eixo das ordenadas e a concentração remanescente na solução no eixo das abscissas.

Conforme descrito anteriormente, os resultados obtidos por este experimento são úteis para avaliar a influência da concentração em diferentes níveis no processo

de adsorção, mas também é possível ajustar um melhor modelo de adsorção ao fenômeno observado. Três modelos foram testados: linear, Langmuir e Freundlich, por estes serem os mais frequentemente encontrados na literatura para descrever a adsorção de antimicrobianos em solo ou em solo associado a esterco animal (DORETTO; RATH, 2013; LEAL et al., 2012; KASTEEL et al., 2010).

O modelo de Langmuir sugere que a adsorção é homogênea, que ocorre em sítios específicos, sem interação com as moléculas do analito e que se torna máxima quando uma camada monomolecular cobre totalmente a superfície do adsorvente. O modelo de Freundlich sugere que a energia de adsorção decresce logaritmicamente à medida que a superfície vai se tornando coberta pelo soluto, pois é considerada a heterogeneidade da superfície do adsorvente, o que o diferencia do modelo de Langmuir. E o modelo linear indica que a adsorção aumenta linearmente com a concentração (GILES et al., 1974). As equações 2, 3 e 4 destes modelos estão apresentadas a seguir:

$$\text{Equação do modelo linear: } K_d = \frac{C_s}{C_{aq}} \quad (2)$$

Na qual C_s é a concentração adsorvida no solo ($\mu\text{g g}^{-1}$), C_{aq} a concentração do antimicrobiano na solução ($\mu\text{g mL}^{-1}$) e K_d é coeficiente de adsorção linear ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$).

$$\text{Equação do modelo de Langmuir: } C_s = \frac{K_L \times C_{aq} \times b_L}{1 + K_L \times C_{aq}} \quad (3)$$

Sendo C_s a concentração adsorvida no solo ($\mu\text{g g}^{-1}$), C_{aq} a concentração do antimicrobiano na solução ($\mu\text{g mL}^{-1}$), b_L a adsorção máxima ($\mu\text{g g}^{-1}$) e K_L ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) a coeficiente de adsorção relacionada com o grau de interação do antimicrobiano no solo.

$$\text{Equação do modelo de Freundlich: } C_s = K_F \times C_{aq}^{1/n} \quad (4)$$

Onde C_S é concentração adsorvida no solo ($\mu\text{g g}^{-1}$), C_{aq} a concentração do antimicrobiano na solução ($\mu\text{g mL}^{-1}$) e K_F é o coeficiente de adsorção de Freundlich ($(\mu\text{g g}^{-1}) (\text{cm}^3 \text{g}^{-1})^{1/n}$) e n é uma grandeza adimensional que está relacionada com o formato da isoterma. Segundo Giles et al. (1974), quando $n > 1$ a forma é convexa do tipo L que representa um soluto que tem uma alta afinidade pelo adsorvente em uma baixa concentração, mas reduzida em valores mais elevados; se $n < 1$, a isoterma é do tipo S, côncava, sugerindo que existe uma barreira à adsorção do analito, mas uma vez que esta limitação é sobreposta, a adsorção é similar a isoterma do tipo L, isto é, há um aumento da adsorção com a elevação da concentração do soluto na fase aquosa; e por último, quando $n = 1$ a isoterma passa a ser linear do tipo C, cuja equação passa ser idêntica ao modelo linear.

Dessa forma, as isotermas de adsorção obtidas foram classificadas de acordo com Giles et al. (1974), que dividem as isotermas para compostos orgânicos em quatro classes, de acordo com a inclinação inicial das curvas e, cada classe em vários subgrupos, baseando-se nos formatos das partes superiores. As principais classes são: tipo S (Spherical), que apresenta inclinação linear e convexa, indicando uma baixa adsorção inicial e é aumentada à medida que o número de moléculas adsorvidas também aumenta; L (Langmuir), cujos sítios de adsorção diminuem quando a concentração da solução aumenta; H (High affinity), que indica uma alta afinidade pelo analito adsorvido; e C (Constant partition), que representa uma característica de partição constante do analito entre o adsorvente e a solução.

As isotermas de adsorção foram realizadas para todos os antimicrobianos (soluções individuais) nos solos X (turfa, Taquaral-SP) e Z (solo, Araraquara-SP) sobre os três diferentes tipos: in natura, estéril e calcinado. Além disso, as isotermas de adsorção também foram avaliadas utilizando soluções individuais dos antimicrobianos no solo sem tratamento (Z S/T) de Araraquara-SP associado à cama de frango, exceto para oxitetraciclina que apresentou problemas de baixa resolução cromatográfica nesta etapa do trabalho, impedindo sua detecção e quantificação confiáveis nesse meio solo-cama de frango/solução.

Os níveis de concentrações escolhidos para construção das isotermas de adsorção estão apresentados na Tabela 8, cujos valores obedeceram a capacidade de detecção dos sistemas cromatográficos por ultravioleta e fluorescência e por

estarem entre os encontrados na literatura para solo (FAN et al., 2011; KASTEEL et al., 2010), cama de frango e esterco de peru (MARTÍNEZ-CARBALLO et al., 2007).

Tabela 8 – Concentrações dos antimicrobianos em soluções individuais utilizadas para construção das isotermas de adsorção nos solos X (turfa, Taquaral-SP) e Z (solo, Araraquara-SP), in natura, estéril e calcinado e no solo de Araraquara-SP associado à cama de frango.

Antimicrobiano	Níveis de concentração (mg L ⁻¹)	
	Solos X e Z (in natura, estéril e calcinado)	
	Solo Z S/T associado à cama de frango	
Tilosina		
Lincomicina		
Sulfadiazina	30,0 - 40,0 - 50,0 - 70,0 - 90,0	
Trimetropina		
Oxitetraciclina (exceto para solo Z S/T + cama de frango)		
Amoxicilina	1,5 - 5,0 - 10,0 - 15,0 - 20,0	
Ciprofloxacina		
Enrofloxacina	0,08 - 0,11 - 0,14 - 0,20 - 0,22	
Norfloxacina		

Fonte: elaborada pelo autor.

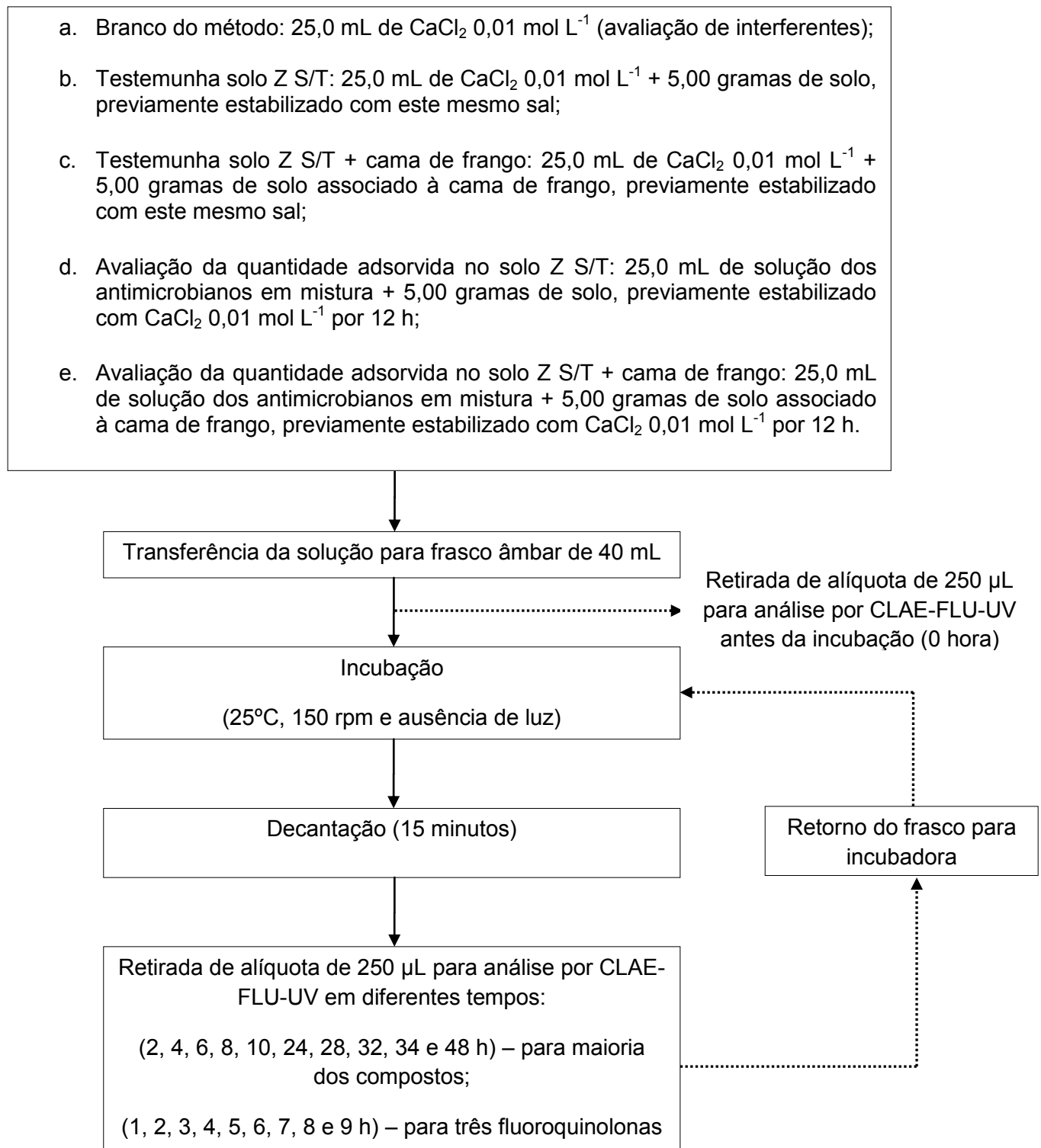
4.2.10.2. Estudos de adsorção com os antimicrobianos, em mistura, para o solo Z S/T (Araraquara-SP) e em cama de frango associada a este solo.

Os estudos de adsorção também foram realizados com os antimicrobianos juntos, uma vez que em uma mistura química, seus componentes podem ter efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos. Esta etapa do trabalho foi realizada para o solo de Araraquara-SP, na forma in natura (sem tratamento), e este mesmo solo associado à cama de frango, cujos experimentos foram divididos em dois níveis:

Nível 1 – Avaliação da adsorção dos antimicrobianos em mistura: estimativa da quantidade de substância adsorvida no solo durante o tempo de contato e em uma única concentração.

A razão massa/volume do sistema solo/solução utilizada nos estudos de adsorção para os antimicrobianos em mistura foi a mesma utilizada pelos ensaios de adsorção dos antimicrobianos analisados individualmente. O fluxograma apresentado na Figura 10 ilustra o procedimento realizado para avaliação da adsorção dos antimicrobianos em mistura em uma única concentração, cujos ensaios foram realizados com todos os compostos, exceto para a oxitetraciclina, utilizando o solo Z (Araraquara-SP) in natura e este mesmo solo associado à cama de frango.

Figura 10 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para execução dos estudos de adsorção dos antimicrobianos em mistura no solo Z S/T e neste mesmo solo associado à cama de frango.



Fonte: elaborada pelo autor.

Para cada alíquota retirada, uma solução padrão em mistura dos antimicrobianos e com concentrações iguais aos do início do experimento foi injetada no sistema CLAE-FLU-UV para avaliar se resposta do detector não variava durante o período de ensaio. As concentrações escolhidas para os antimicrobianos em mistura (Tabela 9) foram superiores às determinadas para os estudos de adsorção dos antimicrobianos analisados individualmente (Tabela 7), sendo obedecida a faixa linear e a capacidade de detecção dos sistemas cromatográficos por ultravioleta e fluorescência.

Tabela 9 – Concentrações dos antimicrobianos (soluções em mistura) utilizadas para o estudo de adsorção no solo Z S/T (Araraquara – SP) e solo Z associado à cama de frango.

Antimicrobiano (CLAE-UV)	Concentração (mg L ⁻¹)	Antimicrobiano (CLAE-FLU)	Concentração (mg L ⁻¹)
Tilosina	75,0	Ciprofloxacina	0,21
Lincomicina	75,0	Enrofloxacin	0,21
Sulfadiazina	75,0	Norfloxacin	0,21
Trimetropina	75,0	Amoxicilina	15,0

Fonte: elaborada pelo autor.

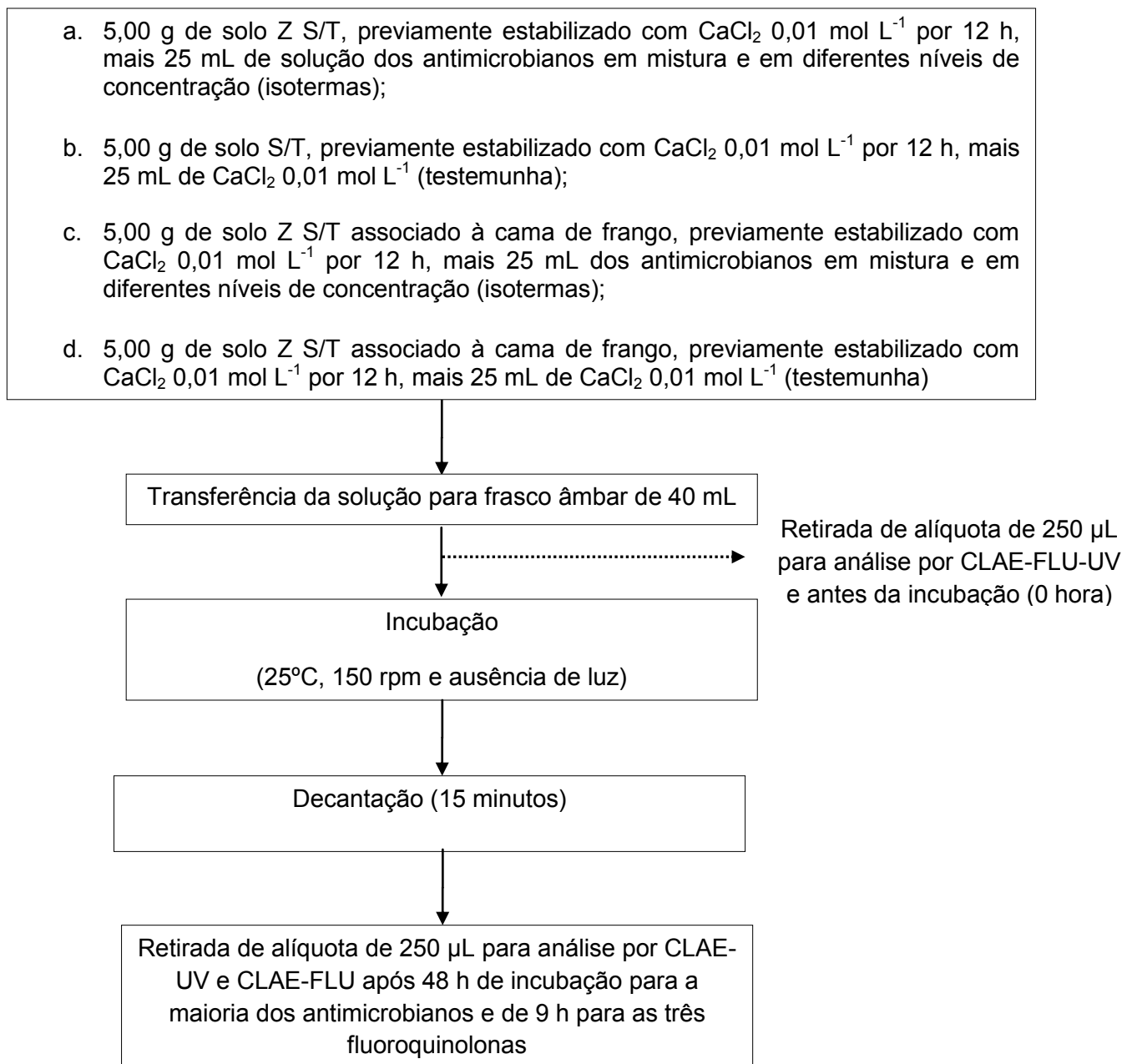
Utilizando os dados fornecidos por esse experimento, curvas de adsorção foram construídas para cada antimicrobiano em mistura relacionando-se a porcentagem de adsorção versus o tempo de análise.

Nível 2 – Determinação das isotermas de adsorção dos antimicrobianos em mistura (diferentes níveis de concentração).

Assim como para os antimicrobianos individuais, as isotermas de adsorção também foram construídas para os antimicrobianos analisados em mistura, a fim de avaliar a influência de diferentes valores de concentração no processo de adsorção. O fluxograma apresentado na Figura 11 ilustra o procedimento realizado para

construção das isothermas para os antimicrobianos em mistura no solo Z S/T (Araraquara – SP) in natura e este mesmo solo associado à cama de frango.

Figura 11 – Fluxograma ilustrativo do procedimento para construção das isothermas de adsorção para os antimicrobianos em mistura no solo Z S/T e neste mesmo solo associado à cama de frango.



Fonte: elaborada pelo autor.

Os níveis de concentração escolhidos para construção das isotermas de adsorção com os antimicrobianos em mistura estão apresentados na Tabela 10 e foram superiores aos determinados para os estudos de adsorção dos antimicrobianos analisados individualmente (Tabela 8), mas obedecendo a faixa linear e a capacidade de detecção dos sistemas cromatográficos por ultravioleta e fluorescência.

Tabela 10 – Concentrações dos antimicrobianos em mistura utilizadas para construção das isotermas de adsorção no solo Z (Araraquara-SP) in natura e este mesmo solo associado à cama de frango.

Níveis de concentração (mg L ⁻¹)	
Antimicrobiano	Solo Z S/T e Solo Z S/T associado à cama de frango
Tilosina	
Lincomicina	45,0 – 60,0 – 75,0 – 100,0 – 125,0
Sulfadiazina	
Trimetropina	
Amoxicilina	1,50 – 7,50 – 15,0 – 22,5 – 30,0
Ciprofloxacina	
Enrofloxacina	0,12 – 0,17 – 0,21 – 0,30 – 0,33
Norfloxacina	

Fonte: elaborada pelo autor.

As isotermas foram construídas em diferentes níveis de concentração, plotando-se a quantidade de antimicrobiano adsorvido no eixo das ordenadas e a concentração remanescente na solução no eixo das abscissas.

4.2.10.3. Determinação dos coeficientes de adsorção K_d , K_L , K_F e K_{oc} dos antimicrobianos individuais e em mistura.

Utilizando os modelos de isotermas avaliados anteriormente foi possível determinar os coeficientes de adsorção dos antimicrobianos individuais e em mistura para cada um deles testados: K_d para os antimicrobianos que apresentaram isotermas lineares, K_L para Langmuir e K_F para Freundlich.

Como a matéria orgânica é altamente variável entre os solos uma alternativa foi realizar a normalização dos coeficientes de adsorção em função do teor de carbono orgânico do solo. O coeficiente de adsorção normalizado (K_{oc} , $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) reduz a variabilidade nos dados de adsorção entre os solos para um determinado composto (DORETTO; RATH, 2013). Os valores de K_{oc} foram calculados utilizando a equação 5 a seguir:

$$K_{oc} = \frac{K_d}{\%CO} \times 100 \quad (5)$$

Sendo K_d o coeficiente de adsorção obtido pelo modelo linear e %CO o teor de carbono orgânico do solo. O coeficiente de adsorção normalizado (K_{oc}) foi selecionado para ser aplicado aos modelos de dispersão de contaminantes no ambiente para as águas superficiais e subterrâneas.

4.2.11. Avaliação da mobilidade dos antimicrobianos e do potencial de contaminação de águas superficiais.

Existe uma abordagem proposta pelo Diretório de Segurança de Pesticidas do Reino Unido (DSPRU) que classifica a mobilidade destes compostos em águas superficiais utilizando os valores de K_{oc} , cujo método é fruto de pesquisas realizadas em campo para solos argilosos. Estudos recentes indicaram que esta abordagem é adequada também para medicamentos de uso veterinário e, portanto, foi aplicada neste trabalho como apresentado na Tabela 11 (BOXALL et al., 2013).

Tabela 11 – Critérios de mobilidade dos antimicrobianos veterinários de acordo com o Diretório de Segurança de Pesticidas do Reino Unido (DSPRU).

Mobilidade	K_{oc} ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)
Muito móvel	< 15
Móvel	15 – 74
Moderadamente móvel	75 – 499
Ligeiramente móvel	500 – 4000
Baixa mobilidade	> 4000

Fonte: adaptado de BOXALL, 2013.

Um segundo critério utilizado para avaliar o potencial de contaminação de águas superficiais por compostos orgânicos é o método de Goss, o qual considera a meia-vida do composto no solo ($t_{1/2}$), solubilidade em água (S) e o coeficiente de adsorção normalizado (K_{oc}) (GOSS, 1992). Este modelo foi adotado por ser muito utilizado para estimar o risco de contaminação de águas superficiais por contaminantes orgânicos, principalmente pesticidas e em algumas localidades do país (CABRERA et al., 2008; RIBEIRO et al., 2007; PRIMEL et al., 2005; DORES et al., 2001).

De acordo com este modelo, o tempo de meia vida é um critério utilizado para determinar os efeitos ambientais relacionados à volatilização, potencial de lixiviação e características de degradação de vários compostos químicos. A solubilidade em água é uma propriedade importante para os processos de dispersão no ambiente, pois atua no comportamento, transporte e destino das substâncias, indicando a tendência de ser carregado superficialmente no solo atingindo águas superficiais. Adicionalmente, o coeficiente de adsorção normalizado (K_{oc}) permite avaliar a tendência da substância em ficar adsorvida no solo. Segundo o método de Goss os compostos são divididos quatro grupos:

1. Alto potencial de transporte associado ao sedimento, devido à afinidade da substância com partículas em suspensão na coluna de água (APTAS);
2. Baixo potencial de transporte associado ao sedimento, devido à baixa afinidade da substância com partículas em suspensão na coluna de água (BPTAS);
3. Alto Potencial de Transporte Dissolvido na Água (APTDA);
4. Baixo Potencial de Transporte Dissolvido na Água (BPTDA).

As substâncias que não se enquadram em nenhum dos critérios anteriores são consideradas como tendo potencial médio para contaminarem águas superficiais. Os compostos que apresentam APTAS e APTDA merecem maior atenção quanto à contaminação de águas superficiais do que os grupos BPTAS e BPTDA. Os valores de cada um dos parâmetros estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Critérios para a avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais segundo método de Goss (GOSS, 1992).

APTAS*	BPTAS**	APTDA***	BPTDA****
	$t_{1/2} < 1$ dia		
	ou		
$t_{1/2} \geq 40$ dias	$t_{1/2} \leq 40$ dias $K_{OC} \leq 500 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ $S \geq 0,5 \text{ mg L}^{-1}$	$t_{1/2} > 35$ dias $K_{OC} < 10^8 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ $S \geq 1 \text{ mg L}^{-1}$	$K_{OC} \geq 10^8 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$
$K_{OC} = 1000 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$	ou	ou	ou
ou	$t_{1/2} \leq 40$ dias $K_{OC} \leq 900 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ $S \geq 2 \text{ mg L}^{-1}$	$t_{1/2} \geq 40$ dias $K_{OC} \leq 700 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$	$t_{1/2} \leq 1$ dia $K_{OC} \leq 100 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$
$t_{1/2} \geq 40$ dias	ou	$10 \leq S \leq 100 \text{ mg L}^{-1}$	ou
$K_{OC} \geq 500 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$	$t_{1/2} \leq 2$ dias $K_{OC} \leq 500 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$		$t_{1/2} < 35$ dias $S < 0,5 \text{ mg L}^{-1}$
$S = 0,5 \text{ mg L}^{-1}$	ou		
	$t_{1/2} \leq 4$ dias $K_{OC} \leq 900 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ $S \geq 0,5 \text{ mg L}^{-1}$		

*APTAS (Alto potencial transporte associado ao sedimento); **BPTAS (Baixo potencial de transporte associado ao sedimento); ***APTDA (Alto potencial de transporte dissolvido na água); ****BPTDA (Baixo potencial de transporte dissolvido na água); $t_{1/2}$ (tempo de meia vida); K_{OC} (constante de adsorção à matéria orgânica do solo); S (solubilidade em água).

Fonte: elaborada pelo autor.

Para aplicação do modelo foram utilizados os valores de K_{OC} obtidos neste trabalho, enquanto o tempo de meia vida e solubilidade basearam-se naqueles encontrados na literatura.

4.2.12. Avaliação do potencial de lixiviação dos antimicrobianos estudados.

Para discutir o risco potencial de contaminação de águas subterrâneas pelos antimicrobianos foi utilizado o índice de GUS (Groundwater Ubiquity Score), que em

português pode ser traduzido para índice de vulnerabilidade de águas subterrâneas. Este índice é calculado através dos valores de meia vida do composto no solo ($t_{1/2}$) e do coeficiente de adsorção normalizado (K_{oc}), não levando em consideração outras propriedades como a solubilidade em água (COHEN et al., 1995). A equação para a estimativa deste índice está apresentada na equação 6 a seguir:

$$GUS = (\log t_{1/2}) \times (4 - \log K_{oc}) \quad (6)$$

As faixas de classificação dos compostos de acordo com sua tendência à lixiviação são: $GUS < 1,8$ – potencial de lixiviação nulo (PLN) ; $1,8 < GUS < 2,8$ – zona de transição (ZT) e; $GUS > 2,8$ – provável potencial de lixiviação (PPL). Assim como realizado na aplicação do modelo de Goss, os valores utilizados para estimar o índice de GUS foram os coeficientes de adsorção normalizados (K_{oc}) obtidos neste trabalho, enquanto os tempos de meia vida foram aqueles encontrados na literatura para cada antimicrobiano.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Considerações gerais.

As pesquisas que vêm sendo desenvolvidas no Brasil sobre o monitoramento de resíduos de fármacos foram reunidas por Bila e Dezotti (2003) em um trabalho de revisão, cujos dados apresentados restringiram-se na determinação de antilipêmicos, hormônios, anti-inflamatórios, principalmente em amostras de estação de tratamento de esgotos e águas superficiais. Apesar deste trabalho apresentar mais de dez anos, é uma importante revisão que reúne dados brasileiros sobre a ocorrência ambiental de fármacos no ambiente e em matrizes de interesse ambiental.

Além disso, há uma escassez de estudos no Brasil que envolvam a dinâmica e comportamento destes compostos bem como o impacto destes resíduos no ambiente aquático e terrestre. Segundo Regitano e Leal (2010), a grande maioria dos trabalhos publicados nesta temática foi realizada em condições de clima temperado, as quais são diferentes das encontradas nos trópicos úmidos, como maior precipitação, temperaturas mais altas, solos com predominância de argila de baixa atividade, com elevados teores de óxidos de ferro e de alumínio, além de menor porcentagem de matéria orgânica. Portanto, espera-se que o comportamento dos antimicrobianos nestas condições seja diferente do encontrado no clima temperado, principalmente para a classe dos Latossolos, os quais são muito intemperizados e de baixa fertilidade, sugerindo uma menor capacidade de adsorção (REGITANO; LEAL, 2010). Nesse sentido o presente estudo contribuiu para avaliação do comportamento de antimicrobianos em condições tropicais.

Os procedimentos adotados neste estudo seguiram recomendações do guia da ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (2011a) para estudos de adsorção em solos, trabalhos de revisão sobre ocorrência, destino e comportamento de antimicrobianos (KIM et al., 2011; SARMAH et al., 2006) e guias de validação de métodos analíticos (RIBANI et al., 2004), devido a importância que o dados ambientais gerados em laboratório podem fornecer.

5.2. Antimicrobianos selecionados para o estudo.

De acordo com o item 4.2.3 os antimicrobianos escolhidos basearam-se em dois critérios: nos compostos mais utilizados comercialmente na criação de frangos de corte no Brasil e naqueles mais freqüentemente encontrados em matrizes ambientais e de interesse ambiental em todo o mundo.

Considerando-se os antimicrobianos mais utilizados na criação de frangos de corte no Brasil, os grupos farmacológicos mais utilizados para prevenção de doenças são: fluoroquinolonas (34 %), ionóforos (20 %), macrolídeos (10 %), quinolonas e tetraciclina (6 %), sulfonamidas (4 %) e lincosamidas (3 %); enquanto que os mais utilizados no tratamento de doenças são: ionóforos (25 %), fluoroquinolonas (19 %), sulfonamidas (14 %), tetraciclina (11 %), β -lactâmicos (7 %), macrolídeos (5 %) e aminoglicosídeos (4 %) (PARANÁ, 2013). A Tabela 13 sumariza os principais antimicrobianos citados nesse relatório.

Tabela 13 – Antimicrobianos mais utilizados na criação de frangos de corte no Brasil de acordo com o relatório do PAMvet-PR (PARANÁ, 2013).

Classe	Princípio ativo	Classe	Princípio ativo
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	Macrolídeos	Azitromicina
	Norfloxacina		Claritromicina
	Danofloxacina		Clindamicina
	Enrofloxacina		Eritromicina
β - lactâmicos	Amoxicilina	Sulfonamidas	Roxitromicina
	Piperacilina		Tilosina
Tetraciclina	Clortetraciclina		Lincomicina
	Oxitetraciclina	Trimetropina	
	Tetraciclina	Sulfametoxazol	
Ionóforos	Monensina	Sulfametazina	
	Salinomina	Sulfatiazol	
	Avilamicina	Sulfadiazina	

Fonte: elaborada pelo autor.

Dos vinte e quatro antimicrobianos listados na Tabela 13, nove foram escolhidos para serem estudados nesta tese de doutorado, considerando aqueles com maior número de citações no relatório do PAMvet-PR e de diferentes classes. Foram incluídos neste trabalho os seguintes antimicrobianos: amoxicilina (β -lactâmico), ciprofloxacina (fluoroquinolona), enrofloxacina (fluoroquinolona),

lincomicina (macrolídeo), norfloxacina (fluoroquinolona), oxitetraciclina (tetraciclina), sulfadiazina (sulfonamida), tilosina (macrolídeo), trimetropina (pirimidina).

5.3. Análises físicas e químicas das amostras de solo e cama de frango.

Na Tabela 14 estão apresentados os resultados das análises granulométricas e dos parâmetros de fertilidade para os dois tipos de solos estudados.

Tabela 14 – Resultados nas análises de solo e turfa.

Parâmetros	Solos	
	Turfa – Taquaral – SP	Solo – Araraquara – SP
	Código adotado – X	Código adotado – Z
Fósforo (mg dm^{-3})	35	1
Potássio (mmol dm^{-3})	1,1	0,6
Cálcio (mmol dm^{-3})	16	6
Magnésio (mmol dm^{-3})	9	1
H + Al (mmol dm^{-3})	166	22
S.B. (mmol dm^{-3})	26,1	7,6
C.T.C. (mmol dm^{-3})	192,1	29,6
V% (%)	14	26
pH	3,6	4,8
Matéria Orgânica (%)	42,4	1,4
Carbono orgânico (%)	24,6	0,8
Argila (%)	37,0	65,5
Silte (%)	19,7	17,7
Areia (%)	43,3	16,8

Fonte: elaborada pelo autor.

O solo X (turfa, Taquaral-SP) foi classificado como franco-argiloso enquanto que o solo Z (Araraquara-SP) como muito argiloso de acordo com os métodos utilizados para análises químicas e físicas de solos do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), seguindo de maneira geral a classificação segundo o triângulo de classes de texturas para solos. O solo Latossolo Vermelho e Neossolo Quatzerônico apresenta como principais constituintes argila e areia, respectivamente, e

compreendem os principais solos identificados no município de Araraquara (LOURENCETTI, 2006).

Os resultados dos parâmetros de fertilidade analisados na Tabela 13 mostraram que a turfa possui maior concentração de macronutrientes em relação ao solo e os valores encontrados são semelhantes aos dados publicados na literatura (FERRAZ et al., 2005). Entre eles destacam-se: o teor de matéria orgânica, uma vez que a turfa apresentou 42,4 % enquanto o solo 1,4 %; o baixo valor de pH da turfa, bem como o elevado valor da capacidade troca catiônica, que estão relacionados ao elevado teor de matéria orgânica.

Os resultados das análises das amostras de cama de frango e cama de frango associado ao solo Z S/T (Araraquara – SP) estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Resultados das análises de cama de frango e cama de frango associada ao solo Z (Araraquara-SP).

Parâmetros	Cama de frango	Cama de frango + Solo Z (Araraquara-SP)
Fósforo (g Kg ⁻¹)	20,5	0,9
Potássio (mg Kg ⁻¹)	22721	2532
Cálcio (g Kg ⁻¹)	28,5	0,042
Magnésio (g Kg ⁻¹)	4,6	0,6
Zinco (mg Kg ⁻¹)	43,6	44,0
Ferro (mg Kg ⁻¹)	752	73228
Manganês (mg Kg ⁻¹)	477	300
Alumínio (mg Kg ⁻¹)	998	46221
Nitrogênio (g Kg ⁻¹)	34,4	6,2
pH	7,3	7,7
Matéria Orgânica (%)	50,1	17,5
Carbono orgânico (%)	43,6	3,5

Fonte: elaborada pelo autor.

5.4. Otimização das condições cromatográficas

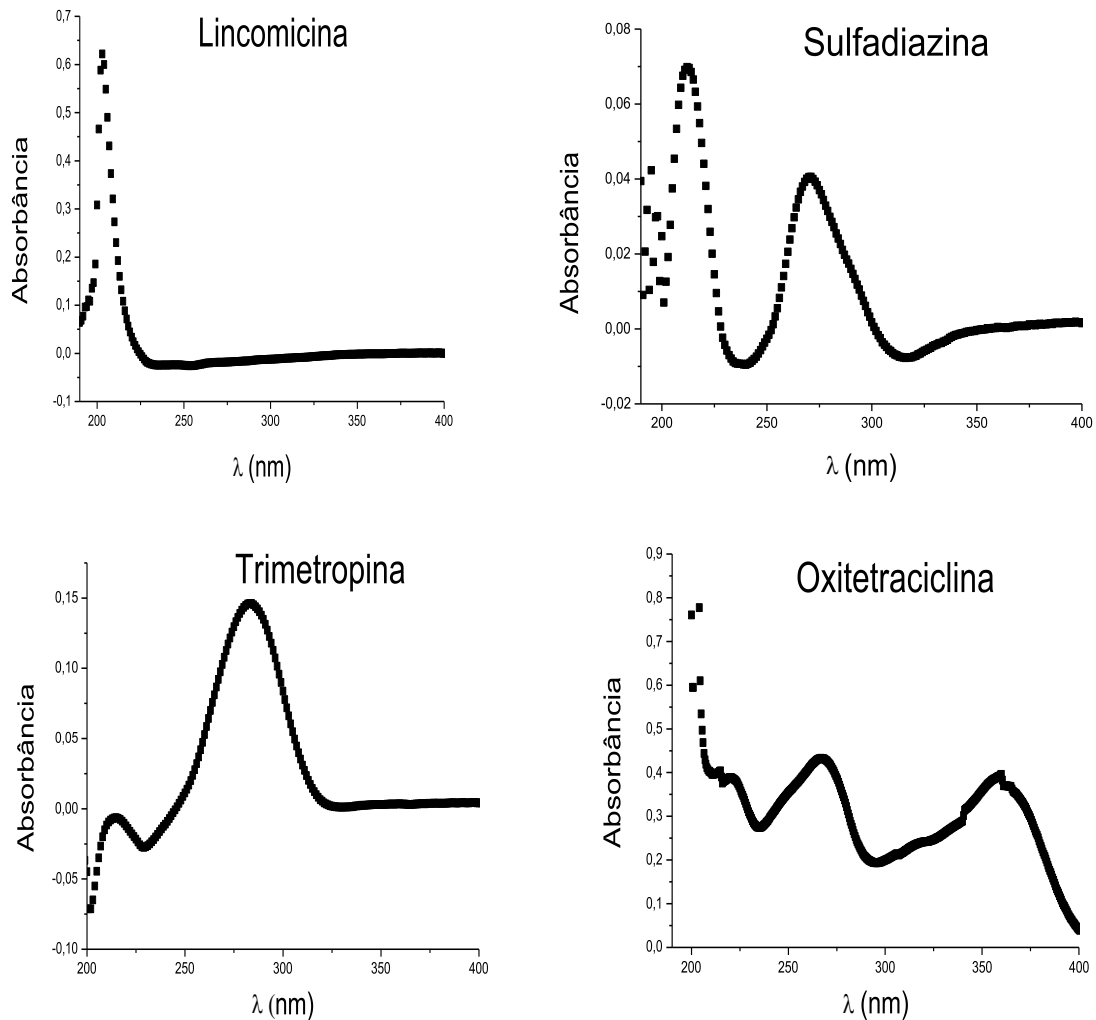
As condições cromatográficas foram otimizadas baseando-se em trabalhos da literatura (ZHAO et al., 2010; USLU et al., 2008; CHRISTIAN et al., 2003; CAMPAGNOLO et al., 2002), que incluíam compostos e matrizes similares a este

estudo. Também foram consideradas as propriedades físicas e químicas dos analitos de interesse, como por exemplo, solubilidade, pK_a e constante de partição octanol-água (K_{OW}). Considerando tais propriedades, selecionou-se como fase estacionária coluna de fase reversa de octadecilsilano e como fase móvel misturas de acetonitrila com ácido fosfórico $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3), por tratar-se de uma das combinações mais usadas em trabalhos descritos na literatura para determinação de antimicrobianos.

A fase C18 utilizada foi do tipo end-capped modelo Gemini (Phenomenex) para prevenir encaudamento dos picos, uma vez que os antimicrobianos apresentam diversos grupos polares de acordo com as estruturas apresentadas na Tabela 3. Este tipo de coluna pode trabalhar em pHs extremos (entre 1 e 12), tal como o utilizado neste trabalho (pH 3).

A escolha dos comprimentos de onda para determinação dos antimicrobianos lincomicina, oxitetraciclina, sulfadiazina, tilosina e trimetropina, por ultravioleta, foi efetuada com base nos espectros de absorbância que estão apresentados na Figura 12.

Figura 12 – Espectros de absorvância dos antimicrobianos lincomicina, sulfadiazina, trimetoprim e oxitetraciclina.



Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com os espectros de absorvância, os comprimentos de ondas que apresentam melhor detectabilidade são: 205 nm (lincomicina) e 264 nm (sulfadiazina, trimetropina e oxitetraciclina). Portanto, estes valores foram selecionados para determinação por CLAE-UV. Para tilosina foi utilizado 280 nm, cujo comprimento de onda é o que apresenta melhor absorvância no certificado de análise do padrão da Sigma-Aldrich.

Para análise de amoxicilina, norfloxacin, ciprofloxacina e enrofloxacin, os quais foram determinados por CLAE-FLU, os comprimentos de onda para detecção foram extraídos da literatura (ZHAO et al., 2010; KARCI; BALCIOGLU et al., 2009;

USLU et al., 2008; MARTÍNEZ-CARBALLO et al., 2007) e os valores estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Comprimentos de onda selecionados para análise por CLAE-FLU.

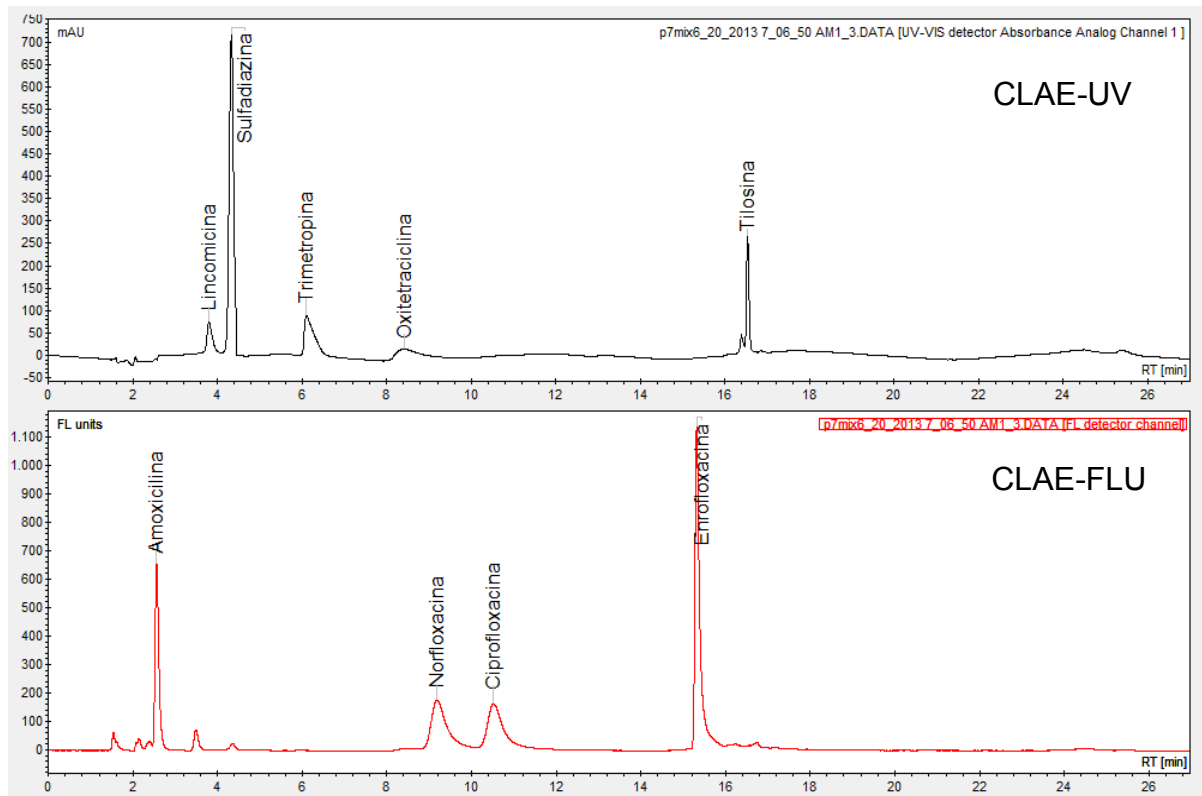
Antimicrobiano	$\lambda_{\text{excitação}} \text{ (nm)}$	$\lambda_{\text{emissão}} \text{ (nm)}$
Amoxicilina	235	310
Norfloxacina	280	480
Ciprofloxacina	280	480
Enrofloxacina	280	480

Fonte: elaborada pelo autor

Ressalta-se que embora os comprimentos de onda (excitação e emissão) dos compostos possam variar de acordo com o solvente que está solubilizado, não foram observadas diferenças significativas no λ em diversos trabalhos da literatura consultados, portanto, os valores apresentados na Tabela 16 foram utilizados para detecção por fluorescência para este grupo de substâncias.

Soluções padrão contendo os nove antimicrobianos em mistura foram analisados por CLAE-FLU-UV. A leitura nos dois detectores foi feita em série no mesmo equipamento, passando primeiramente pela cela de fluorescência seguida pela cela para leitura no ultravioleta, uma vez que o cromatógrafo a líquido de alta eficiência Varian 920-LC permite a aquisição de dois cromatogramas concomitantemente, um para cada detector. A Figura 13 mostra os cromatogramas obtidos para análise da mistura dos nove antimicrobianos em mistura, utilizando as condições cromatográficas descritas na Tabela 4.

Figura 13 – Cromatogramas dos antimicrobianos em mistura analisados por CLAE-FLU-UV (lincomicina 88,9 mg L⁻¹, sulfadiazina 59,8 mg L⁻¹, trimetoprim 69,7 mg L⁻¹, oxitetraciclina 72,3 mg L⁻¹, tilosina 68,3 mg L⁻¹, amoxicilina 61,9 mg L⁻¹, norfloxacina 105 µg L⁻¹, ciprofloxacina 95 µg L⁻¹ e enrofloxacina 90 µg L⁻¹). Condições cromatográficas descritas na Tabela 4.

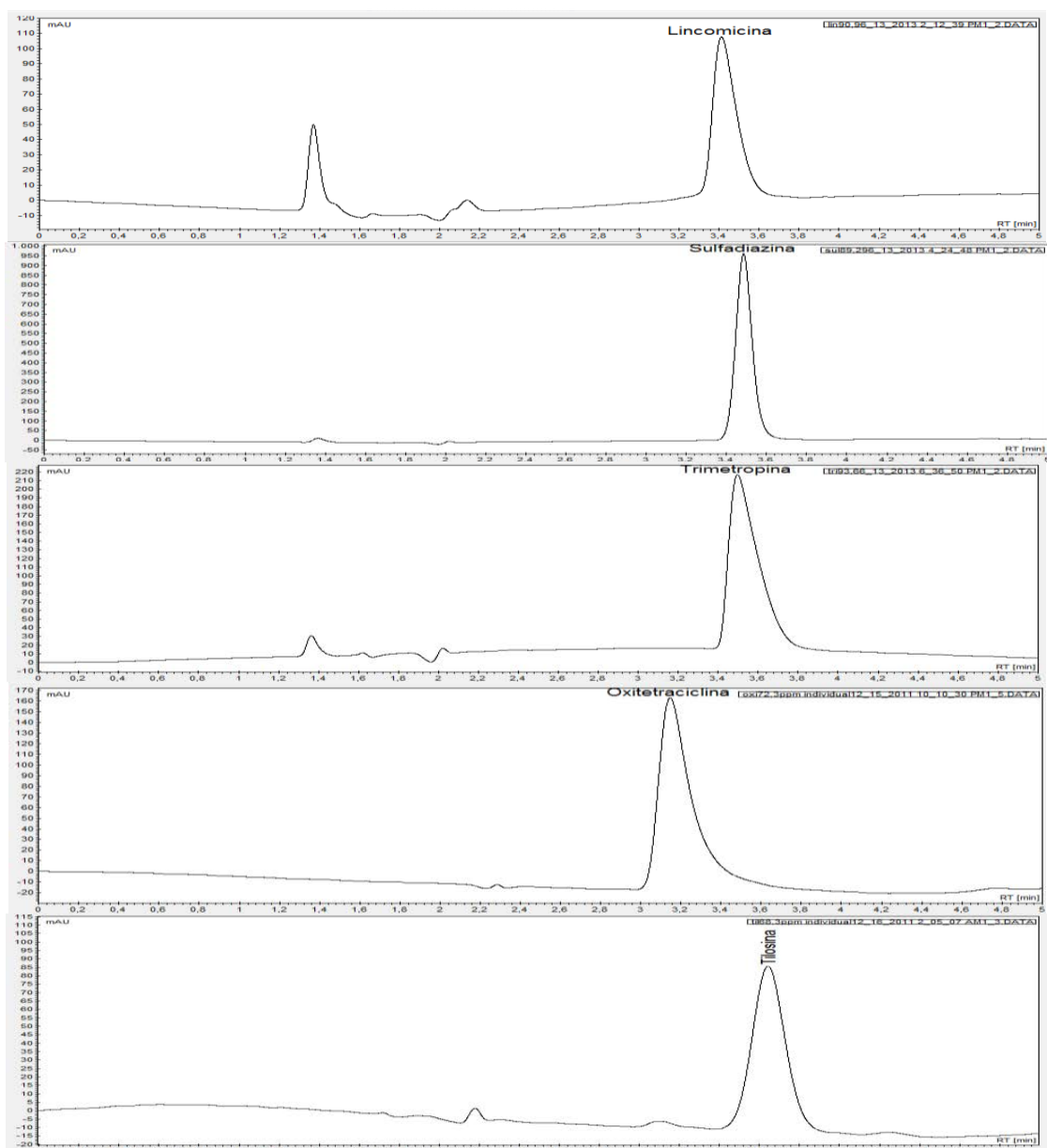


Fonte: elaborada pelo autor.

Em apenas vinte e cinco minutos de análise, boa separação cromatográfica foi obtida para a mistura dos compostos, exceto para trimetoprima, oxitetraciclina e norfloxacina que apresentaram encaudamento dos seus picos. Mesmo com este alargamento a resolução mínima foi de 1,73 entre os picos mais próximos norfloxacina e ciprofloxacina e, portanto, sendo adequada para fins quantitativos, pois a literatura recomenda o valor de 1,5 a resolução mínima para uma quantificação confiável (SNYDER et al., 2010). Além disso, o método cromatográfico apresentado permite análise simultânea dos nove compostos em um tempo relativamente curto quando comparado aos descritos na literatura, em estudos que envolvem antimicrobianos de diferentes classes farmacológicas com distintos grupos funcionais em suas estruturas e variadas massas molares.

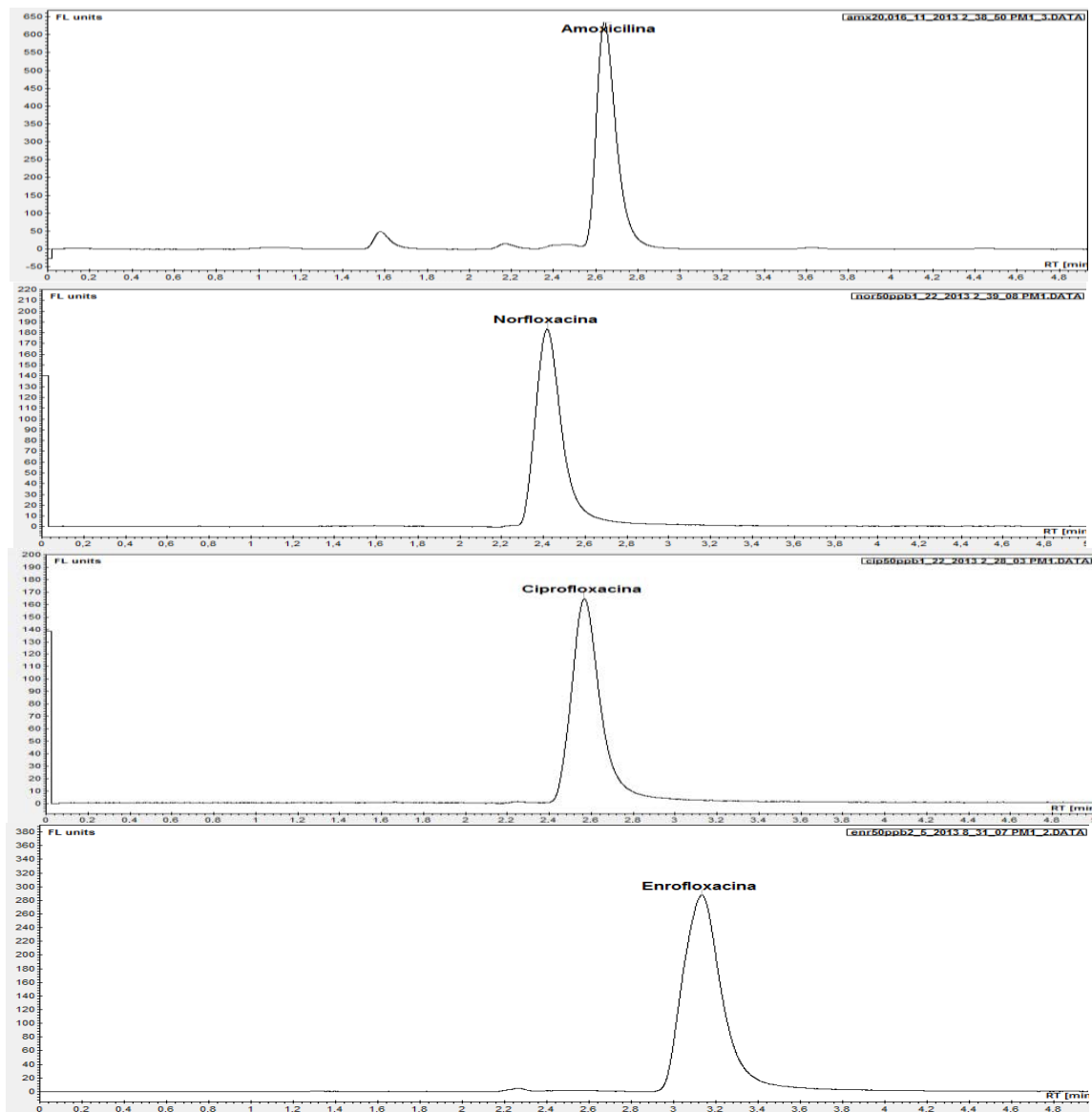
Soluções padrão dos antimicrobianos individuais também foram analisadas e os resultados obtidos mostraram boa resolução cromatográfica em um tempo de análise de cinco minutos para cada composto. As Figuras 14 e 15 mostram os cromatogramas das substâncias analisadas individualmente por CLAE-FLU-UV, utilizando as condições cromatográficas apresentadas na Tabela 5.

Figura 14 – Cromatogramas das substâncias analisadas individualmente por CLAE-UV sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 5 (lincomicina 88,9 mg L⁻¹, sulfadiazina 59,8 mg L⁻¹, trimetropina 69,7 mg L⁻¹, oxitetraciclina 72,3 mg L⁻¹ e tilosina 68,3 mg L⁻¹).



Fonte: elaborada pelo autor

Figura 15 – Cromatogramas das substâncias analisadas individualmente por CLAE-FLU sobre as condições cromatográficas descritas da Tabela 5 (amoxicilina 20,1 mg L⁻¹, norfloxacina 50 µg L⁻¹, ciprofloxacina 50 µg L⁻¹ e enrofloxacina 90 µg L⁻¹).



Fonte: elaborada pelo autor.

A precisão intermediária para três dias consecutivos dos tempos de retenção e áreas para os antimicrobianos quando analisados individualmente e em mistura por CLAE-FLU-UV, estão apresentados na Tabela 17. Os valores de tempo de retenção e área são médias de três injeções de cada solução (individual e em mistura).

Tabela 17 – Precisão intermediária dos tempos de retenção e áreas cromatográficas para os antimicrobianos analisados individualmente e em mistura.

Antimicrobiano	Análise individual		Análise em mistura	
	t _R (min) CV (%)	Área CV (%)	t _R (min) CV (%)	Área CV (%)
Lincomicina	3,41	760,0	3,80	577,7
	0,24	4,9	0,51	3,9
Sulfadiazina	3,49	3939,0	4,33	3622,7
	0,12	0,8	0,27	0,5
Trimetropina	3,50	1374,0	6,11	1412,3
	0,39	1,0	0,40	1,5
Oxitetraciclina	3,15	2051,0	NR*	NR*
	0,26	1,7		
Tilosina	3,64	1132,0	16,54	962,7
	0,23	0,6	0,03	0,8
Amoxicilina	2,76	4195,0	2,58	3809,0
	0,48	2,1	0,59	1,5
Norfloxacinina	2,87	878,0	9,15	1097,0
	0,36	1,3	0,73	4,8
Ciprofloxacina	3,01	557,0	10,49	577,3
	0,16	1,6	0,42	3,1
Enrofloxacinina	3,50	4469,0	15,31	5218,0
	0,13	1,0	0,10	0,2

CV: coeficiente de variação.

*NR: não realizado para oxitetraciclina em mistura com os demais compostos.

Fonte: elaborada pelo autor

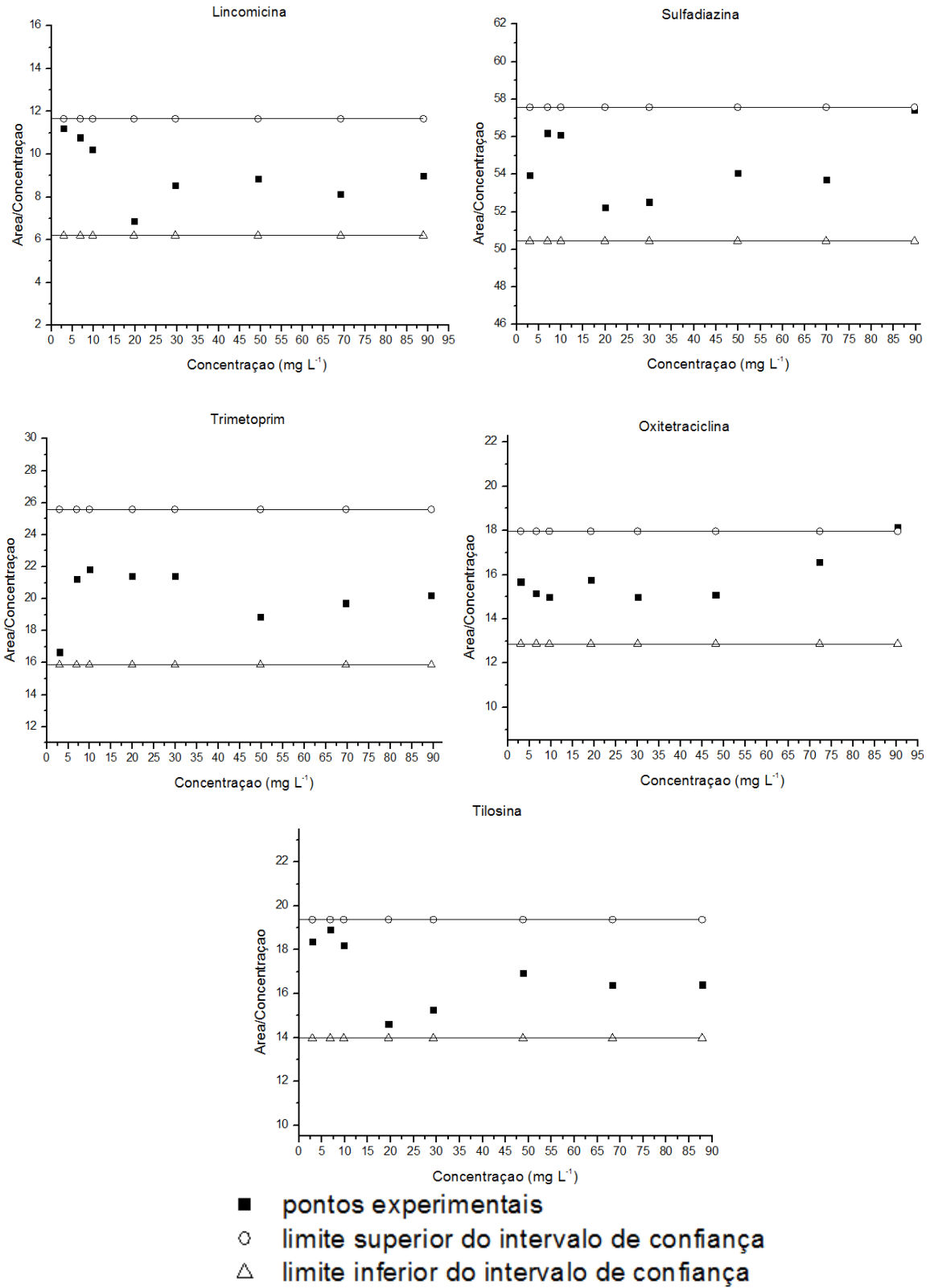
Os valores do coeficiente de variação demonstraram que os tempos de retenção e áreas foram repetitivos e, portanto, indicam que o método de análise cromatográfica possui precisão das injeções nas mesmas condições de operação em um curto intervalo de tempo. Os resultados de repetitividade para oxitetraciclina em mistura com os demais compostos não puderam ser calculados, pois este

antimicrobiano apresentou problemas de baixa resolução durante a execução dos ensaios, tais como o alargamento excessivo da banda cromatográfica e conseqüentemente baixa relação sinal ruído, impedindo, portanto, sua detecção e quantificação nos estudos de adsorção envolvendo as substâncias em mistura.

5.5. Linearidade da resposta cromatográfica dos detectores e curvas analíticas obtidas por CLAE-FLU-UV.

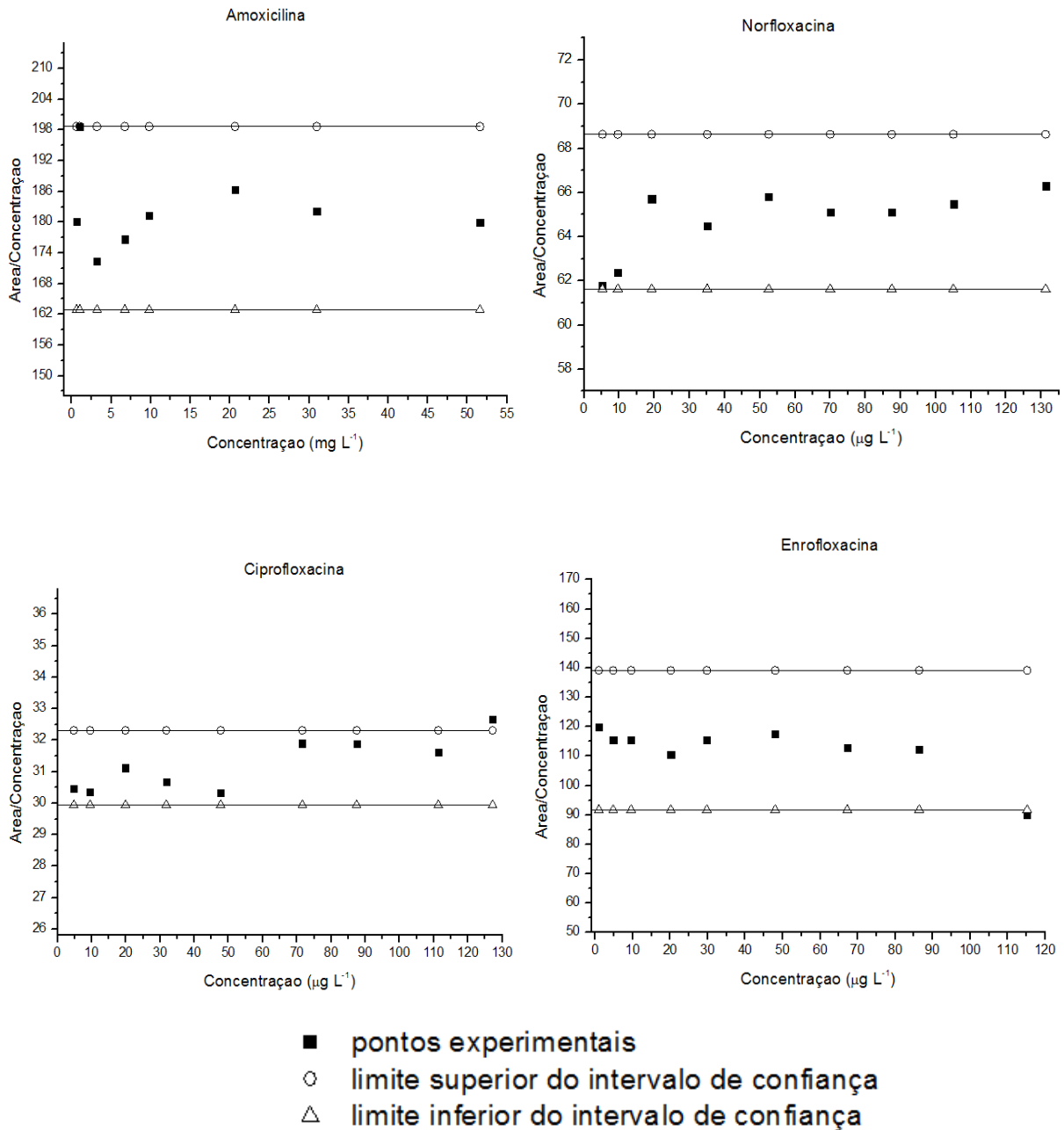
Para determinar a região linear da resposta dos detectores para os antimicrobianos individuais e em mistura construíram-se gráficos conforme descrito no item 4.2.6. (Figuras 16 e 17).

Figura 16 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos individuais obtidos por CLAE-UV.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 17 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos individuais obtidos por CLAE-FLU.



Fonte: elaborada pelo autor.

Dessa forma, faixas de trabalho foram escolhidas para os antimicrobianos analisados individualmente, excluindo-se os pontos anômalos (pontos fora dos limites superior e inferior do intervalo de linearidade), cujas equações das curvas analíticas, coeficientes de correlação obtidos pelo método do padrão externo e limites de quantificação estão apresentados na Tabela 18.

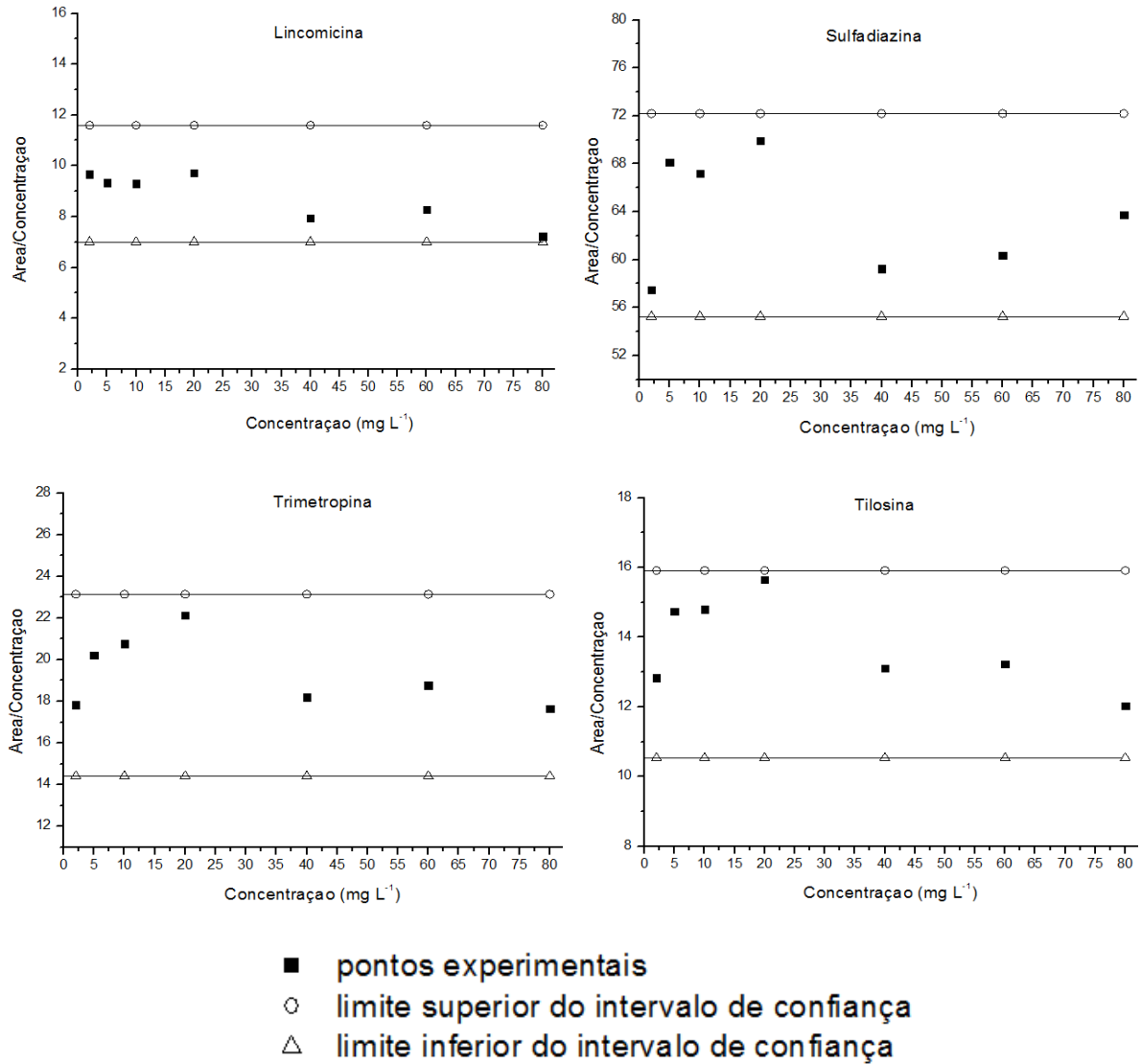
Tabela 18 – Faixa linear, equações das curvas analíticas e coeficientes de correlação dos antimicrobianos individuais obtidos por CLAE-FLU-UV.

Antimicrobiano	Faixa linear	Equações das curvas analíticas ($y = a + b x$)	Coefficiente de correlação	Limite de Quantificação
Lincomicina	2,9 a 88,9 mg L ⁻¹	$y = 0,058 + 8,671 x$	0,991	2,9 mg L ⁻¹
Sulfadiazina	2,9 a 89,7 mg L ⁻¹	$y = -47,529 + 56,256 x$	0,997	2,9 mg L ⁻¹
Trimetropina	2,9 a 89,6 mg L ⁻¹	$y = 10,993 + 19,794 x$	0,997	2,9 mg L ⁻¹
Oxitetraciclina	3,0 a 72,3 mg L ⁻¹	$y = -41,353 + 17,692 x$	0,990	3,0 mg L ⁻¹
Tilosina	2,9 a 87,8 mg L ⁻¹	$y = -0,175 + 16,402 x$	0,998	2,9 mg L ⁻¹
Amoxicilina	0,6 a 51,6 mg L ⁻¹	$y = 10,162 + 180,806 x$	0,999	0,6 mg L ⁻¹
Norfloxacina	5,3 a 131,3 µg L ⁻¹	$y = -36,101 + 66,085 x$	0,999	5,3 µg L ⁻¹
Ciprofloxacina	4,8 a 111,3 µg L ⁻¹	$y = -22,497 + 31,886 x$	0,999	4,8 µg L ⁻¹
Enrofloxacina	0,9 a 86,4 µg L ⁻¹	$y = 30,790 + 112,911 x$	0,999	0,9 µg L ⁻¹

Fonte: elaborada pelo autor.

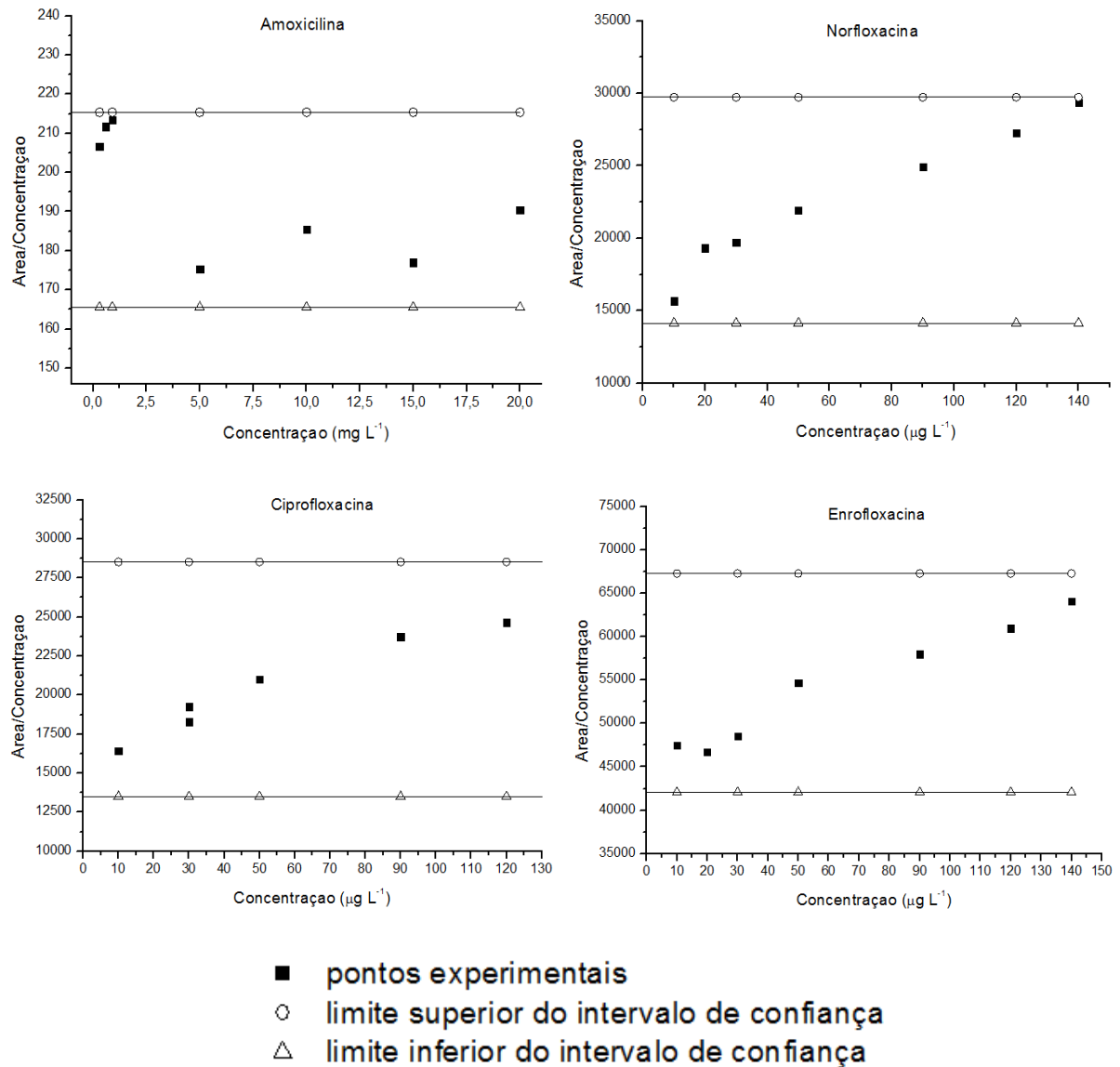
Complementando o estudo de linearidade, as Figuras 18 e 19 apresentam os gráficos de resposta dos detectores UV e FLU para os antimicrobianos analisados em mistura respectivamente.

Figura 18 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos analisados em mistura obtidos por CLAE-UV.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 19 – Gráficos de linearidade para os antimicrobianos analisados em mistura obtidos por CLAE-FLU.



Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com os intervalos de concentração lineares apresentados nas Figuras 18 e 19, faixas de trabalho foram determinadas para os antimicrobianos analisados em mistura, cujas equações das curvas analíticas, coeficientes de correlação obtidos pelo método do padrão externo e limites de quantificação estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Faixa linear, equações das curvas analíticas e coeficientes de correlação dos antimicrobianos analisados em mistura obtidos por CLAE-FLU-UV.

Antimicrobiano	Faixa linear	Equações das curvas analíticas ($y = a + b x$)	Coefficiente de correlação	Limite de Quantificação
Lincomicina	2,0 a 80,0 mg L ⁻¹	$y = 21,575 + 7,353 x$	0,989	2,0 mg L ⁻¹
Sulfadiazina	2,0 a 80,0 mg L ⁻¹	$y = 25,591 + 61,921 x$	0,997	2,0 mg L ⁻¹
Trimetropina	2,0 a 80,0 mg L ⁻¹	$y = 30,867 + 17,682 x$	0,996	2,0 mg L ⁻¹
Tilosina	2,0 a 80,0 mg L ⁻¹	$y = 28,865 + 12,160 x$	0,993	2,0 mg L ⁻¹
Amoxicilina	0,6 a 51,6 mg L ⁻¹	$y = -6,302 + 185,740 x$	0,997	0,6 mg L ⁻¹
Norfloxacina	5,3 a 131,3 µg L ⁻¹	$y = -275,750 + 29970 x$	0,992	5,3 µg L ⁻¹
Ciprofloxacina	4,8 a 111,3 µg L ⁻¹	$y = -211,280 + 27126 x$	0,995	4,8 µg L ⁻¹
Enrofloxacina	0,9 a 86,4 µg L ⁻¹	$y = -403,000 + 65033 x$	0,997	0,9 µg L ⁻¹

Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 18 e 19, foram obtidas amplas faixas lineares de concentração e baixos limites de quantificação que foram adequados aos objetivos pretendidos neste trabalho. Bons coeficientes de correlação foram obtidos para todos os antimicrobianos estudados tanto nos analisados individualmente quanto nos em mistura. As curvas analíticas dos antimicrobianos individuais e em mistura estão apresentadas no Apêndice A.

5.6. Resultados da comparação da resposta cromatográfica dos antimicrobianos preparados em H₃PO₄ 0,020 mol L⁻¹ versus antimicrobianos individuais preparados em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹.

Com o objetivo de avaliar a influência do tipo de solvente de preparo das soluções de trabalho dos antimicrobianos individuais na resposta cromatográfica, foram construídas curvas analíticas em H₃PO₄ 0,020 mol L⁻¹ (componente majoritário da fase móvel cromatográfica) e em CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹ (solução aquosa de trabalho dos estudos de adsorção) de acordo com o item 4.2.7. A Tabela 20 mostra os resultados da comparação dos coeficientes angulares das equações das curvas analíticas preparadas nestas duas soluções aquosas.

Tabela 20 – Diferença percentual dos coeficientes angulares das equações das curvas analíticas: H_3PO_4 $0,020 \text{ mol L}^{-1}$ versus CaCl_2 $0,010 \text{ mol L}^{-1}$.

Antimicrobiano individual	Coeficiente angular (curva em H_3PO_4 $0,020 \text{ mol L}^{-1}$)	Coeficiente angular (curva em CaCl_2 $0,010 \text{ mol L}^{-1}$)	Diferença percentual dos coeficientes angulares
Lincomicina	7,438	8,671	+16,6
Sulfadiazina	58,522	56,256	-3,9
Trimetoprim	20,267	19,794	-2,3
Oxitetraciclina	13,569	17,692	+30,4
Tilosina	19,048	16,402	-13,9
Amoxicilina	167,810	180,806	+7,7
Norfloxacina	68,594	66,086	-3,7
Ciprofloxacina	35,129	31,886	-9,2
Enrofloxacina	89,093	112,9	+26,7

Fonte: elaborada pelo autor.

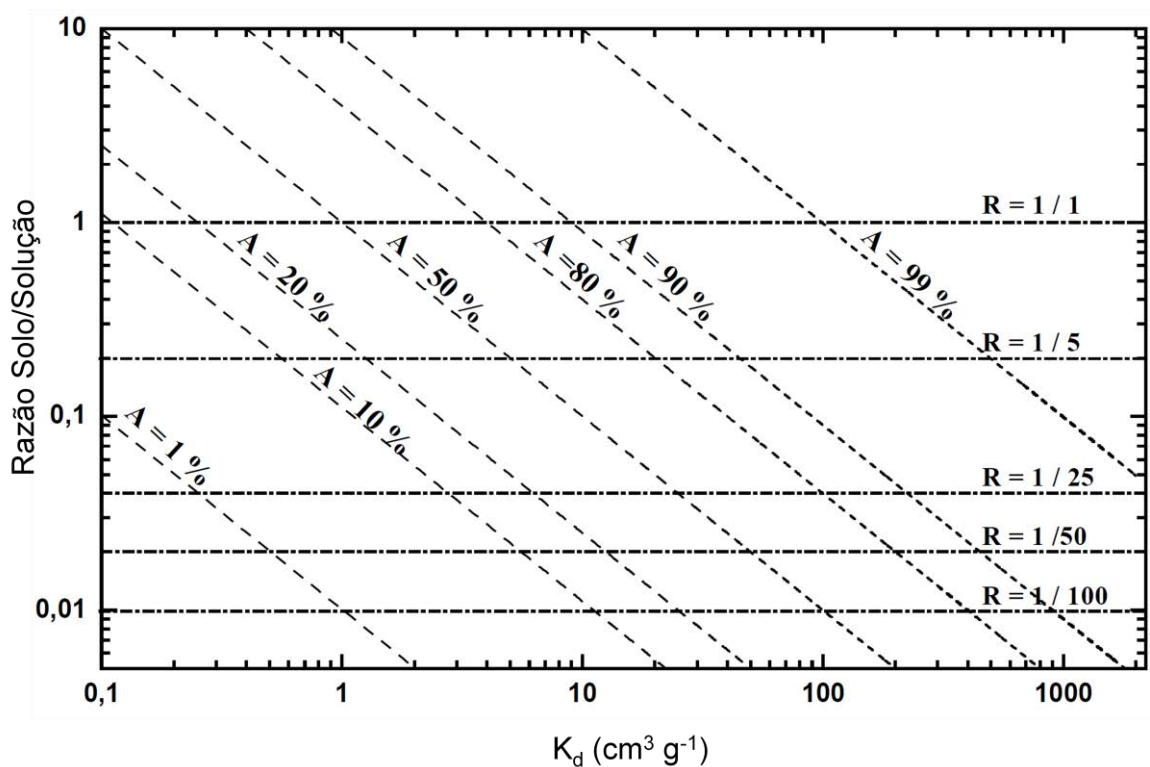
A diferença dos coeficientes angulares foi pronunciada para lincomicina, oxitetraciclina, tilosina e enrofloxacina e para os demais antimicrobianos este efeito não foi tão expressivo. Os valores positivos indicam que a solução de cloreto de cálcio ($0,010 \text{ mol L}^{-1}$) provoca aumento da sensibilidade e os negativos um decréscimo. Esta diminuição na resposta pode ser devido a formação de interações entre as moléculas dos antimicrobianos e os íons Ca^{2+} presentes na solução salina, causando alterações tanto na absorção no ultravioleta quanto na excitação e/ou emissão da análise por fluorescência. Portanto, para minimização deste efeito todas as etapas de quantificação foram realizadas utilizando as curvas analíticas preparadas em CaCl_2 ($0,010 \text{ mol L}^{-1}$), a qual foi a solução salina utilizada nos estudos de adsorção.

5.7. Resultados do estudo para determinação da razão massa/volume do sistema solo/solução.

A partir do experimento ilustrado na Figura 7 (item 4.2.10.1) foram determinados os valores de K_d e a porcentagem de sulfadiazina adsorvida após 48

horas. Tal antimicrobiano foi utilizado neste ensaio por apresentar solubilidade intermediária entre os estudados nesta tese. Foram obtidos 78,8% de adsorção de sulfadiazina e um valor de K_d igual a $17,3 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$. Em seguida, utilizando o gráfico apresentado na Figura 20 foi possível escolher a razão solo/solução mais apropriada para o estudo, pois ele mostra as proporções solo/solução em função do coeficiente de distribuição (K_d) para diferentes níveis de porcentagem de adsorção.

Figura 20 – Relação entre diferentes razões solo/solução, diferentes valores de K_d e de porcentagens da substância adsorvida.



Fonte: adaptado de Organization for Economic Co-Operation and Development (2011a).

Interpolando neste gráfico o valor 78,8% da adsorção obtida com o valor de K_d calculado ($17,3 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$), situado no eixo das abscissas, foi possível estimar a razão de solo/solução mais adequada, que está mostrada no eixo das ordenadas. Portanto, a razão escolhida para o sistema solo/solução para os estudos de adsorção foi de 1/5.

5.8. Resultados do estudo de estabilidade dos antimicrobianos em solução.

A Tabela 21 mostra um exemplo dos resultados obtidos para a solução individual de sulfadiazina $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ após avaliação da estabilidade da substância de acordo com o item 4.2.10.1. O mesmo procedimento foi realizado para os demais antimicrobianos.

Tabela 21 – Áreas cromatográficas e coeficientes de variação obtidos entre as replicatas (n=3, exemplo para sulfadiazina individual $20 \mu\text{g mL}^{-1}$).

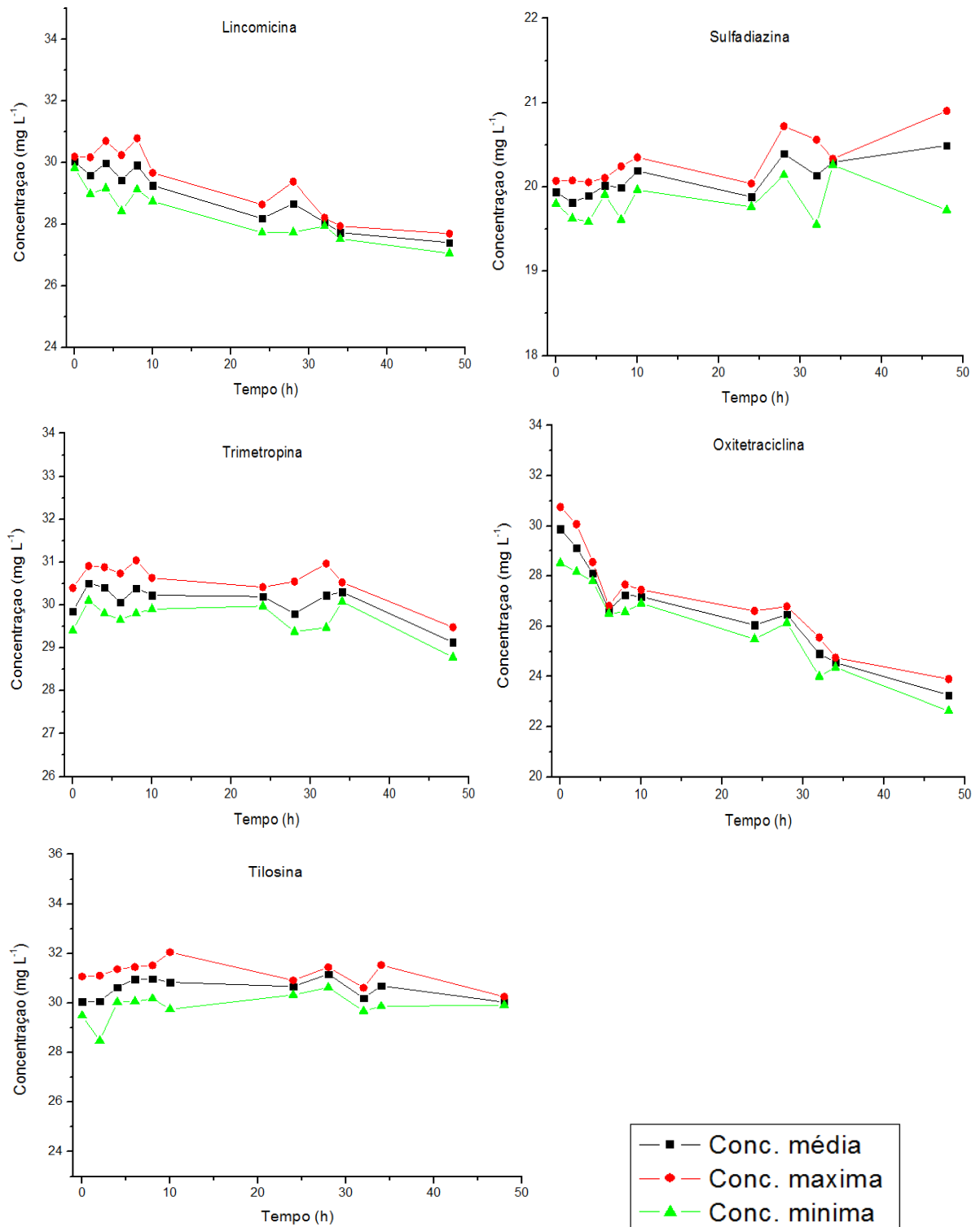
Áreas cromatográficas para sulfadiazina individual											
Replicatas	0 h	2h	4h	6h	8h	10h	24h	28h	32h	34h	48h
1	1298	1285	1305	1296	1310	1325	1286	1322	1321	1324	1284
2	1307	1278	1275	1309	1277	1300	1291	1311	1273	1319	1357
3	1289	1307	1305	1304	1318	1319	1304	1349	1338	1320	1361
CV (%)*	0,7	1,2	1,3	0,5	1,7	1,0	0,7	1,5	2,6	0,2	3,2

*CV: Coeficiente de variação, em %, entre as replicatas (n=3)

Fonte: elaborada pelo autor.

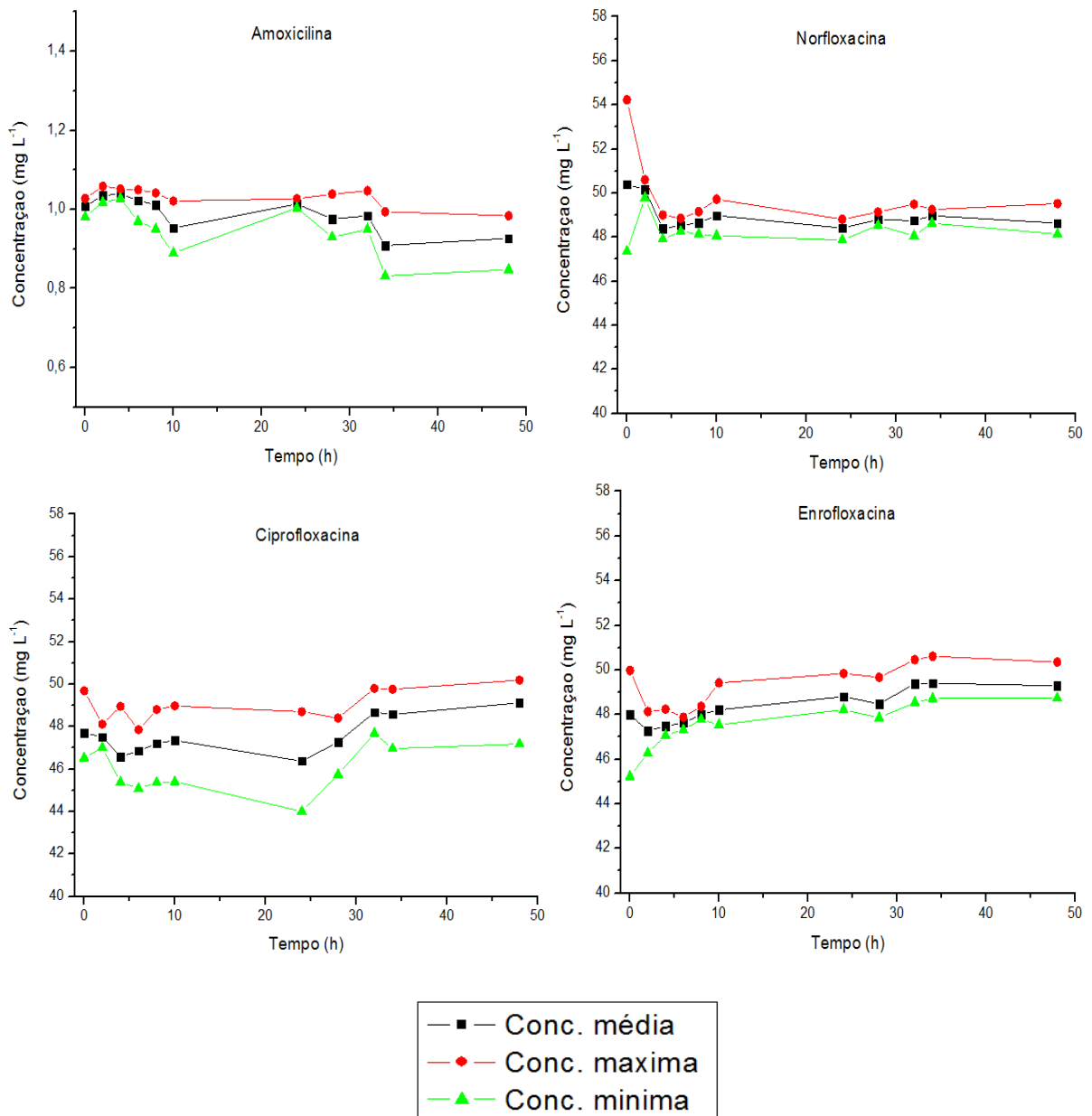
Interpolando esses valores de área cromatográfica nas equações das curvas analíticas individuais, relacionou-se a concentração de cada antimicrobiano com o tempo de análise cujos gráficos com as medidas das replicatas (n = 3) estão apresentados nas Figuras 21 (CLAE-UV) e 22 (CLAE-FLU).

Figura 21 – Gráficos da estabilidade dos antimicrobianos em solução analisados por CLAE-UV durante o período de 48 horas.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 22 – Gráficos da estabilidade dos antimicrobianos em solução analisados por CLAE-FLU durante o período de 48 horas.



Fonte: elaborada pelo autor.

Os gráficos apresentados nas Figuras 21 e 22 mostram a variação da concentração dos antimicrobianos individuais com o tempo de análise bem como as concentrações máxima, média e mínima encontradas para cada ponto. Para melhor interpretação dos resultados oferecidos por estes gráficos, construiu-se a Tabela 22 que indica em porcentagem a precisão entre as replicatas de análise e a variação da

concentração de cada antimicrobiano entre o início (0 h) e final do experimento (48 h).

Tabela 22 – Repetibilidade e variação da concentração ao longo do estudo de estabilidade em solução.

Antimicrobianos	CV das replicatas* (%)	Varição da concentração entre 0 e 48 horas (%)
Amoxicilina	1,60	- 1,87
Lincomicina	0,38	- 3,67
Sulfadiazina	0,78	+ 0,78
Trimetropina	0,15	+ 0,75
Oxitetraciclina	1,45	- 10,43
Enrofloxacina	1,80	+ 0,75
Ciprofloxacina	2,90	- 0,28
Norfloxacina	0,93	- 2,84
Tilosina	0,78	+ 1,71

CV: coeficiente de variação (n =3)

Fonte: elaborada pelo autor.

O método mostrou-se repetitivo, pois as replicatas de análise apresentaram coeficientes de variação inferiores a 2,90 %. Quanto à estabilidade da solução, observou-se que a concentração para a maioria dos antimicrobianos varia pouco durante todo o tempo de observação, evidenciando que as soluções permanecem inalteradas ao longo das 48 horas. Portanto, sugere-se que não houve degradação ou adsorção nas paredes do recipiente para a maioria dos antimicrobianos estudados, exceto para oxitetraciclina, podendo este método ser aplicado aos estudos de adsorção em solos.

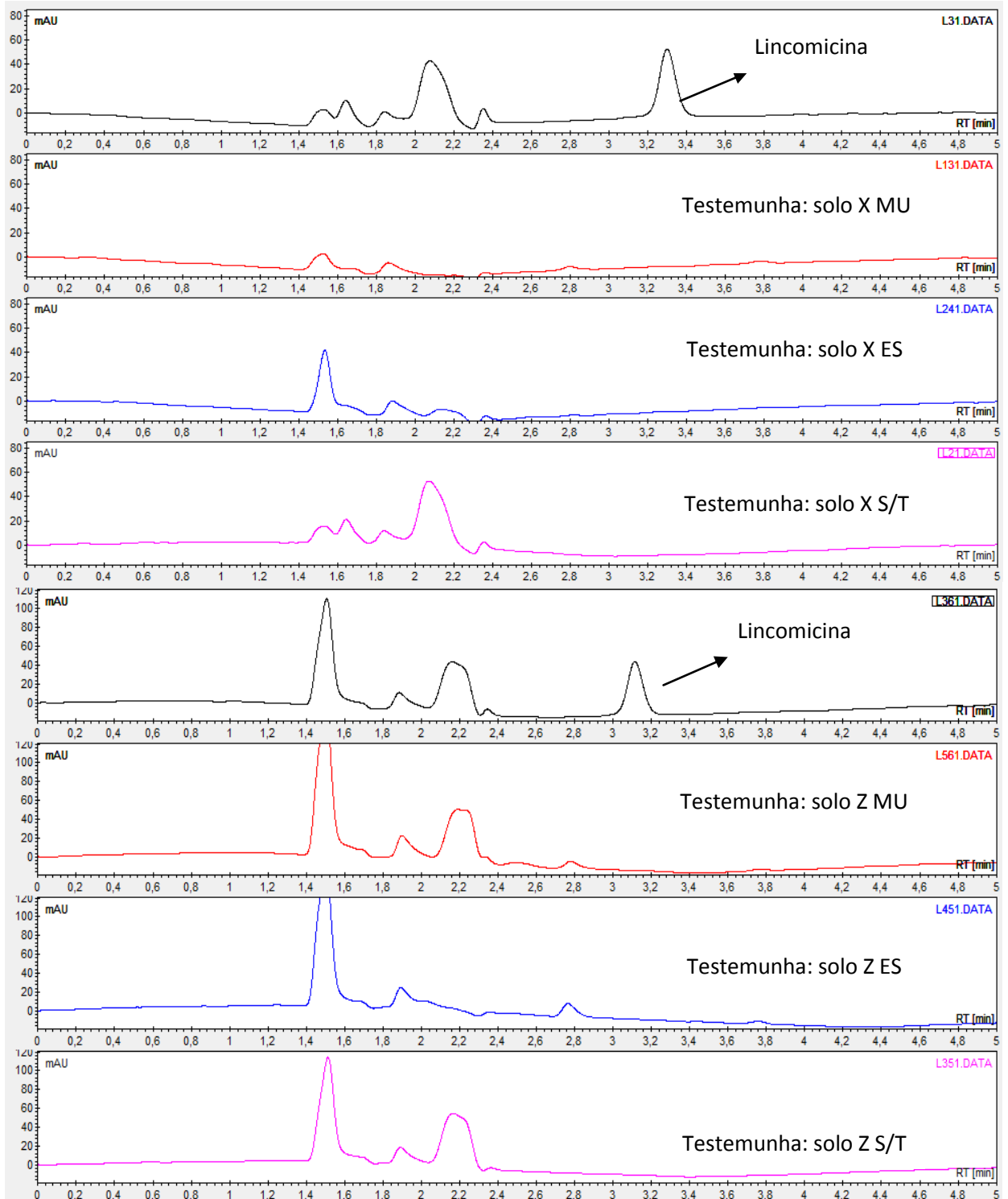
A oxitetraciclina apresentou uma diminuição de 10,43% em relação a concentração inicial. Sugere-se a sua fotodegradação no momento da retirada da alíquota para análise e/ou devido fortes interações entre as moléculas de oxitetraciclina e os íons Ca^{2+} presentes na solução salina, modificando a absorção em 264 nm e causando diminuição do sinal cromatográfico (LOKE et al., 2002).

5.9. Resultados dos estudos de adsorção.

5.9.1. Seletividade.

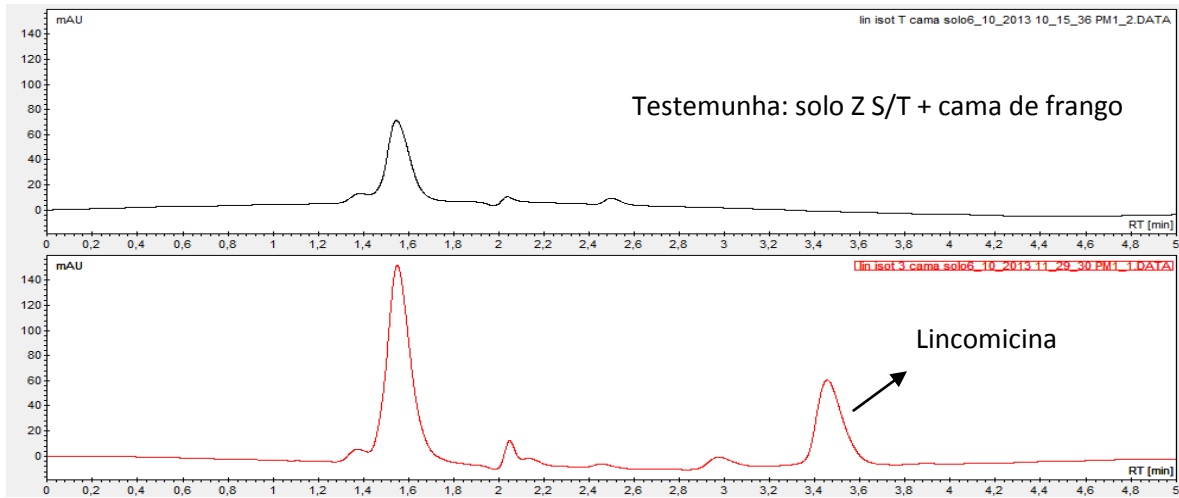
Os cromatogramas referentes às amostras testemunhas dos dois tipos de solos e tratamentos (X S/T, X ES, X MU, Z S/T, Z ES e Z MU), além do solo X S/T incorporado com cama de frango, indicaram que não existem picos interferentes nos tempos de retenção dos antimicrobianos estudados, em mistura e individualmente, estando adequados às análises. Exemplos de cromatogramas deste ensaio estão mostrados nas Figuras 23 e 24 para o antimicrobiano lincomicina. As Figuras 25 e 26 referem-se à seletividade das amostras testemunhas para análise dos antimicrobianos em mistura.

Figura 23 – Cromatogramas das amostras testemunhas dos solos X S/T, X ES, X MU, Z S/T, Z ES e Z UM e solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução padrão de lincomicina (90 mg L^{-1}) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 5 (análise individual).



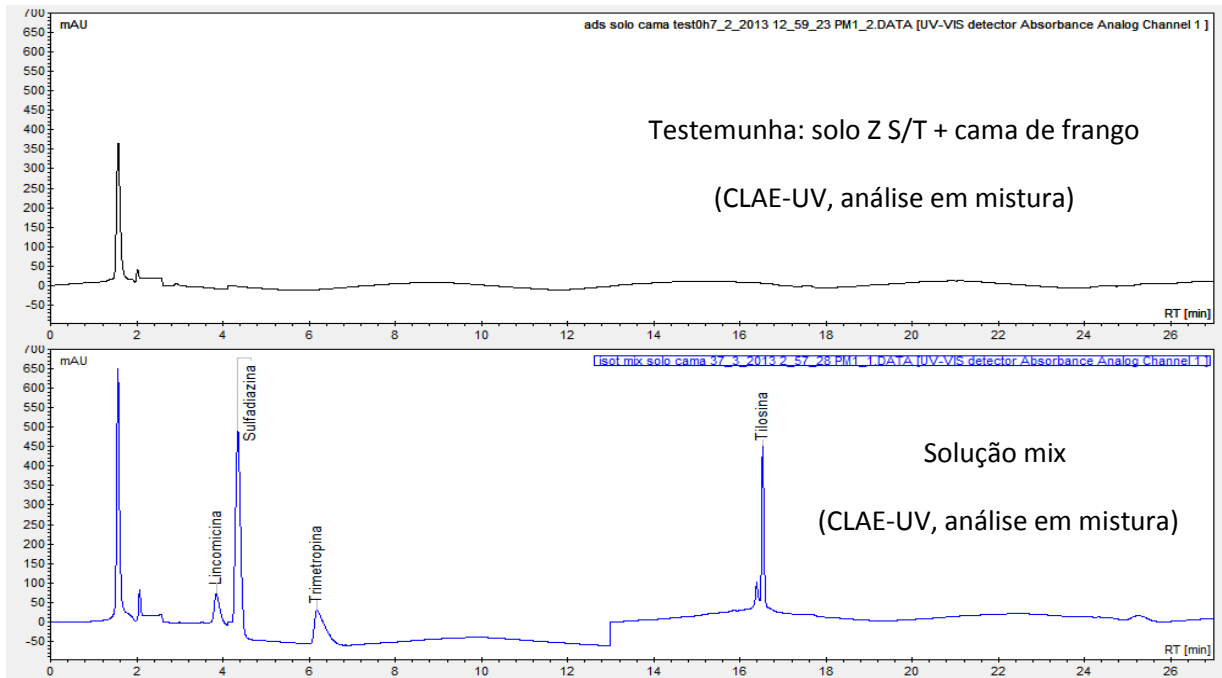
Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 24 – Cromatogramas da amostra testemunha do solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução padrão de lincomicina (90 mg L^{-1}) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 5 (análise individual).



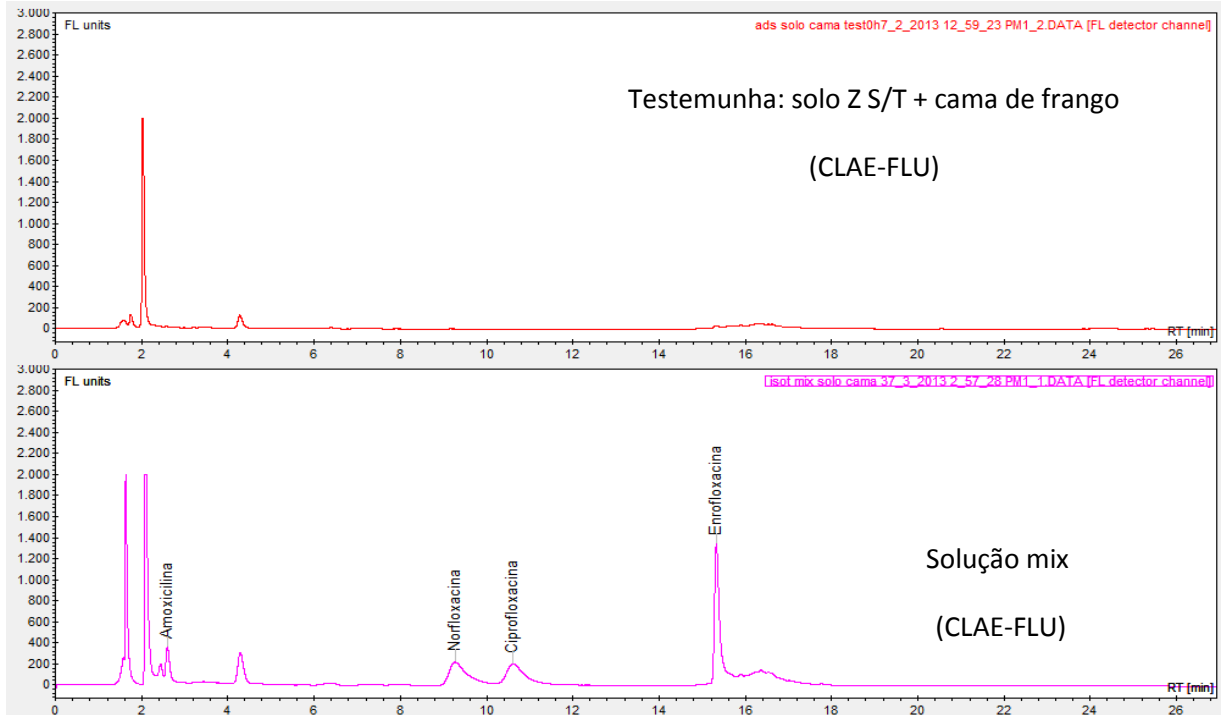
Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 25 – Cromatogramas das amostras testemunhas do solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução em mistura dos antimicrobianos analisados por CLAE-UV (lincomicina $88,9 \text{ mg L}^{-1}$, sulfadiazina $59,8 \text{ mg L}^{-1}$, trimetoprim $69,7 \text{ mg L}^{-1}$ e tilosina $68,3 \text{ mg L}^{-1}$) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 4.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 26 – Cromatogramas das amostras testemunhas do solo Z S/T incorporado com cama de frango e solução em mistura dos antimicrobianos analisados por CLAE-FLU (amoxicilina 61,9 mg L⁻¹, norfloxacina 105 µg L⁻¹, ciprofloxacina 95 µg L⁻¹ e enrofloxacina 90 µg L⁻¹) sobre as condições cromatográficas descritas na Tabela 4.



Fonte: elaborada pelo autor.

5.9.2. Resultados dos estudos de adsorção em uma única concentração.

As curvas de adsorção (porcentagem adsorvida versus tempo de análise) foram obtidas conforme o item 4.2.10.1 e a quantidade de substância adsorvida no solo foi calculada durante cada intervalo de tempo utilizando as seguintes equações:

- Para o primeiro intervalo de tempo:

$$m_s^{ads}(\Delta t_1) = m_0 - m_m^{ads}(t_1) \times \left(\frac{V_0}{V_a^A}\right) \quad (7)$$

- Para o segundo intervalo de tempo:

$$m_s^{ads}(\Delta t_2) = m_m^{ads}(t_1) \times \left(\frac{V_0}{V_a^A}\right) - m_m^{ads}(t_2) \times \left(\frac{V_0 - V_a^A}{V_a^A}\right) \quad (8)$$

- Para n intervalos de tempo:

$$m_s^{ads}(\Delta t_n) = m_m^{ads}(t_{n-1}) \times \left(\frac{V_0 - (n-2) \times V_a^A}{V_a^A}\right) - m_m^{ads}(t_n) \times \left(\frac{V_0 - (n-1) \times V_a^A}{V_a^A}\right) \quad (9)$$

Os parâmetros usados anteriormente estão definidos a seguir:

- $m_s^{ads}(\Delta t_1)$, $m_s^{ads}(\Delta t_2)$ e $m_s^{ads}(\Delta t_n)$ = massa de substância adsorvida nos intervalos de tempo;
- $m_m^{ads}(t_1)$, $m_m^{ads}(t_2)$ e $m_m^{ads}(t_n)$ = massa de substância adsorvida em cada alíquota;
- m_0 e V_0 = massa e volume iniciais da substância;
- V_a^A = volume da alíquota retirada para análise

Dessa forma a porcentagem de adsorção para cada alíquota retirada bem como a adsorção total no final do experimento foram calculadas de acordo com as equações a seguir:

- Porcentagem de adsorção para cada intervalo de tempo ($A_{\Delta t_i}$):

$$A_{\Delta t_i} = \frac{m_s^{ads}(\Delta t_i)}{m_0} \times 100 \% \quad (10)$$

- Porcentagem de adsorção final (A_{t_i}):

$$A_{t_i} = \frac{\sum_{j=\Delta t_1}^{\Delta t_i} m_s^{ads}(j)}{m_0} \times 100 \% \quad (11)$$

Em seguida, são apresentadas curvas de adsorção que foram construídas para cada antimicrobiano relacionando-se a porcentagem de adsorção versus o tempo de análise: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 28, 32, 34 e 48 horas para lincomicina, sulfadiazina, trimetropina, oxitetraciclina, tilosina e amoxicilina e; 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 horas para as três fluoroquinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina e norfloxacina). Esta abordagem foi de grande relevância para o estudo, fornecendo informações valiosas sobre o comportamento de adsorção em curtos intervalos de tempo, os quais não são discutidos em outros trabalhos da literatura, que avaliam somente quais modelos de isothermas representam melhor o processo de adsorção. Ressalta-se que isothermas de adsorção também foram realizadas nesta tese e os resultados estão apresentados e discutidos no item posterior (5.10).

Os resultados dos estudos de adsorção em uma única concentração sobre inúmeros intervalos de tempo foram apresentados nesta tese utilizando as estratégias a seguir:

1ª – Comparação dos resultados de adsorção dos antimicrobianos individuais sobre os solos X S/T (turfa, Taquaral – SP) versus Z S/T (solo, Araraquara – SP), cuja finalidade foi avaliar o grau de adsorção da substância individual em solos com valores de matéria orgânica distintos (42,4 % para turfa e 1,4 % para o solo de Araraquara);

2ª – Comparação dos resultados dos antimicrobianos individuais versus antimicrobiano em mistura, ambos sobre o solo Z S/T (Araraquara – SP). O objetivo desta avaliação foi identificar o efeito da mistura no processo de adsorção, uma vez que os antimicrobianos juntos podem ter efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos, o que não é observado quando sozinhos em solução;

3ª – E por último, comparação dos resultados dos antimicrobianos em mistura sobre o solo Z S/T (Araraquara – SP) e este mesmo solo tratado com cama de frango. Esta abordagem foi utilizada para estimar qual a influência da adição deste esterco nos resultados de adsorção, visto que este material é a fonte dos antimicrobianos veterinários no ambiente.

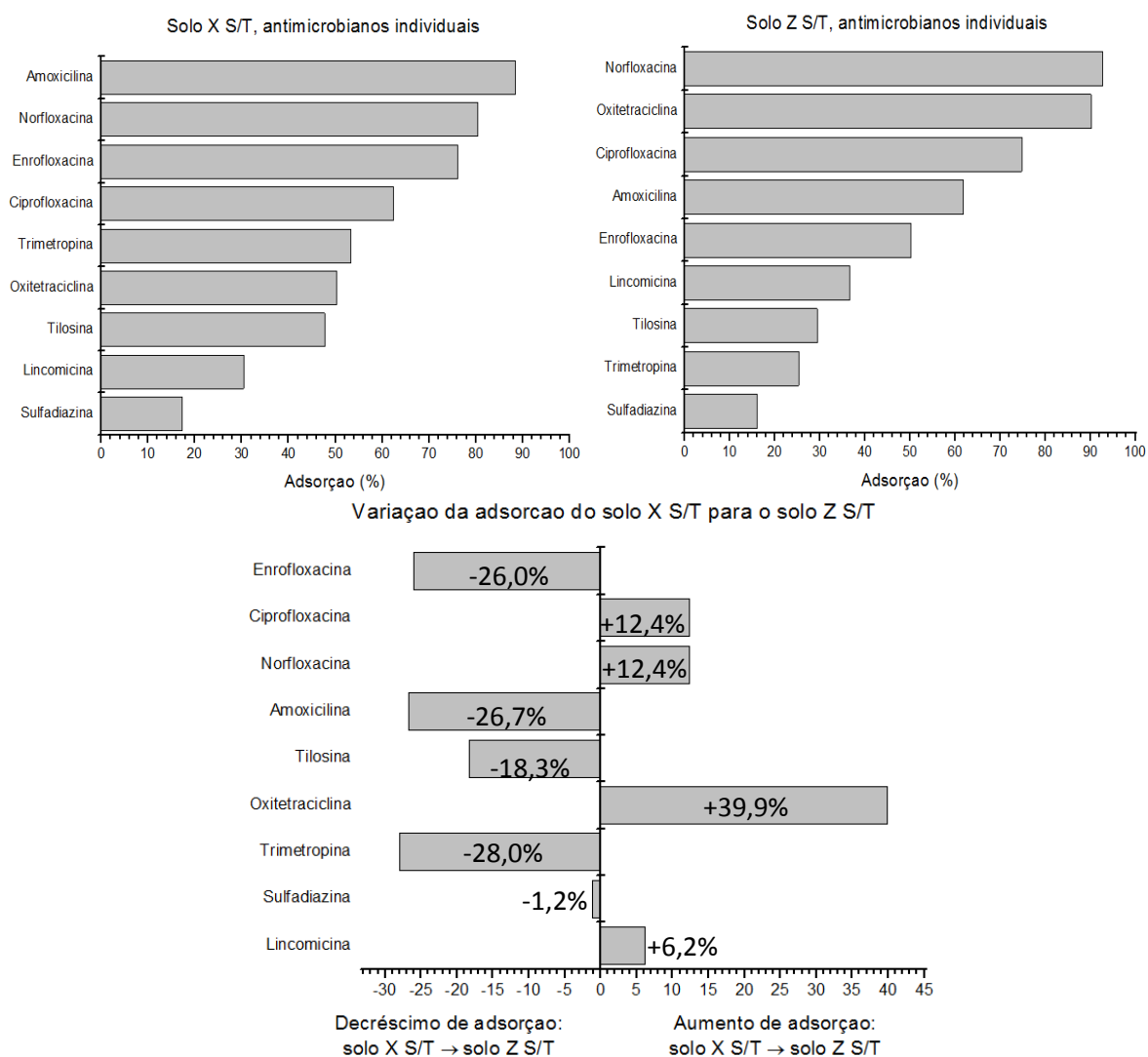
Discussão geral referente aos resultados de adsorção dos antimicrobianos em uma única concentração.

De acordo com os gráficos da parte superior da Figura 27, as porcentagens de adsorção para os antimicrobianos analisados individualmente na turfa (solo X S/T, Taquaral-SP) foram em ordem crescente: sulfadiazina (17,3 %) < lincomicina (30,4 %) < tilosina (47,7 %) < oxitetraciclina (50,3 %) < trimetropina (53,3 %) < ciprofloxacina (62,4 %) < enrofloxacina (76,2 %) < norfloxacina (80,4 %) < amoxicilina (88,5 %). Enquanto para o solo Z S/T (Araraquara-SP) foram: sulfadiazina (16,1 %) < trimetropina (25,3 %) < tilosina (29,4 %) < lincomicina (36,6 %) < enrofloxacina (50,2 %) < amoxicilina (61,8 %) < ciprofloxacina (74,8 %) < oxitetraciclina (90,2 %) < norfloxacina (92,8 %).

O gráfico da parte inferior da Figura 27 ilustra a variação da adsorção de cada antimicrobiano individual do solo X S/T (turfa, Taquaral-SP) e para o solo Z S/T

(Araraquara-SP), demonstrando que para ciprofloxacina, norfloxacina, oxitetraciclina e lincomicina houve um aumento na adsorção, enquanto para os demais um decréscimo. A porcentagem de variação está indicada no gráfico.

Figura 27 – Porcentagens de adsorção dos antimicrobianos individuais na turfa (solo X S/T, Taquaral-SP) e no solo Z S/T (Araraquara-SP).



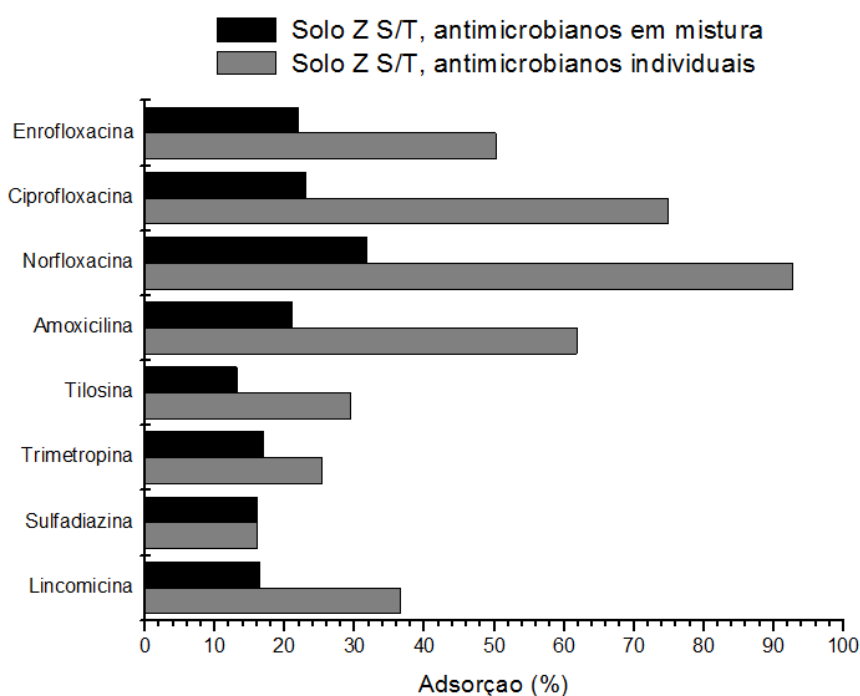
Fonte: elaborada pelo autor.

Conforme ilustrado na Figura 28, comparando-se os resultados de adsorção entre os antimicrobianos individuais no solo Z S/T (Araraquara-SP) com os antimicrobianos em mistura neste mesmo solo, observou-se uma diminuição na porcentagem de adsorção para a maioria dos compostos quando em mistura. Estes

resultados diferiram significativamente utilizando o teste t de Student para comparação de médias (nível de confiança de 95 %), exceto para sulfadiazina.

Pode-se inferir que quando os antimicrobianos estão em mistura, sugere-se uma estabilização destas moléculas em solução, diminuindo a disponibilidade para ocorrer a adsorção. Supõe-se que pode ter havido fortes interações entre os antimicrobianos em mistura, superiores aquelas que ocorrem com os sítios dos solos quando os mesmos estão em soluções individuais.

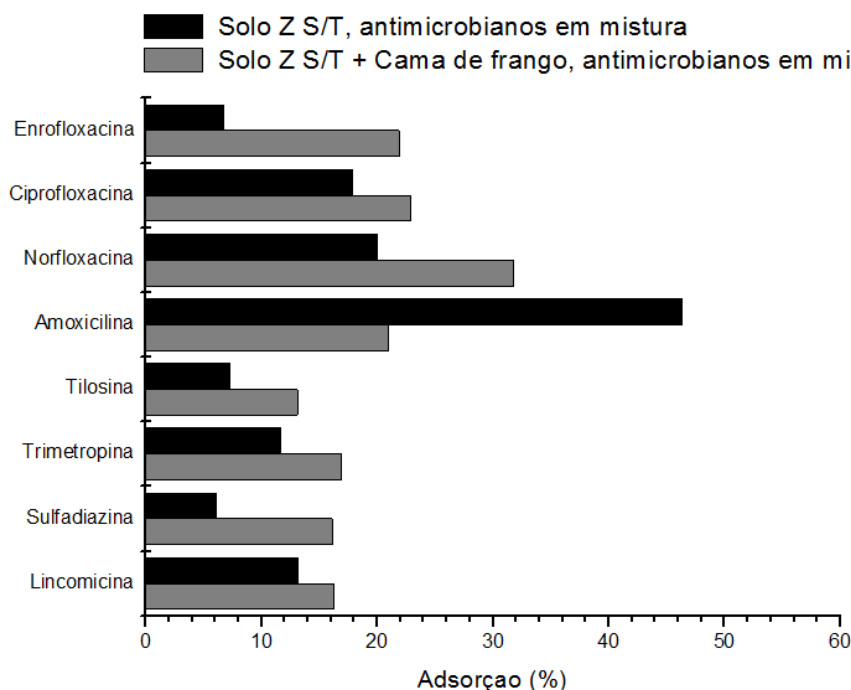
Figura 28 – Comparação das porcentagens de adsorção dos antimicrobianos individuais no solo Z S/T (Araraquara – SP) com os antimicrobianos em mistura neste mesmo tipo de solo.



Fonte: elaborada pelo autor.

Comparando os resultados de adsorção entre os antimicrobianos em mistura no solo Z S/T (Araraquara-SP) com os antimicrobianos em mistura neste mesmo solo associado à cama de frango, observou-se uma diminuição na porcentagem de adsorção para a maioria dos compostos, exceto para amoxicilina que apresentou efeito inverso, conforme ilustrado na Figura 29. Estes resultados diferiram significativamente utilizando o teste “t” de Student para comparação de médias para todos os compostos (nível de confiança de 95 %).

Figura 29 – Comparação das porcentagens de adsorção dos antimicrobianos mistura no solo Z S/T (Araraquara-SP) e neste mesmo solo associado à cama de frango.



Fonte: elaborada pelo autor.

Portanto, pode-se inferir que a cama de frango incorporada no solo estabilizou os antimicrobianos em solução, diminuindo a disponibilidade para ocorrer adsorção. Sugere-se que devido ao aumento de pH ocasionado pela adição de cama de frango, as moléculas estão predominantemente ionizadas, permanecendo mais solúveis na solução salina de cloreto de cálcio $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ e, portanto, menos disponíveis para adsorção.

Discussão específica para cada antimicrobiano referente aos resultados de adsorção em uma única concentração.

Até o momento, poucos trabalhos foram realizados com o objetivo de elucidar os mecanismos envolvidos na adsorção de antimicrobianos em solos. Alguns destes estudos foram apresentados em um artigo de revisão de cunho nacional, o qual trata do comportamento de antimicrobianos em solos (LEAL et al., 2012). Esta referência explica que devido aos grupos polifenólicos e carboxílicos ionizáveis das substâncias húmicas e aos hidróxidos metálicos, os quais apresentam carga negativa ou positiva

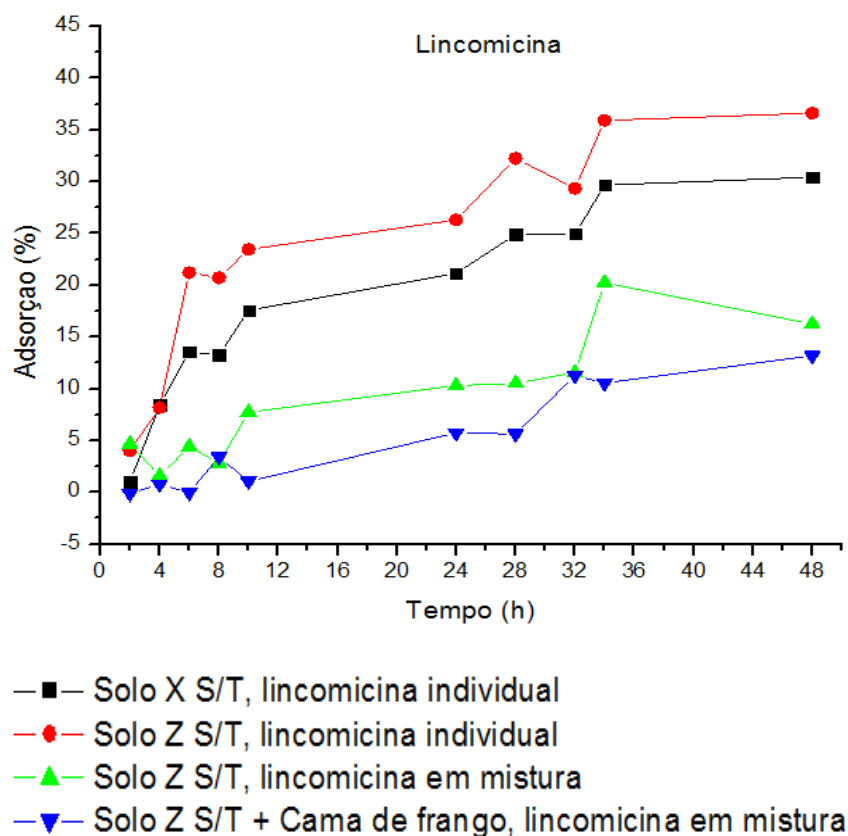
de acordo com o pH, o solo pode funcionar como sítio de sorção dos antimicrobianos. Portanto, vários mecanismos podem estar envolvidos, tais como: adsorção à superfície de constituintes minerais, troca iônica, adsorção à matéria orgânica, formação de complexos com íons metálicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+}) e ligação de hidrogênio entre grupos polares dos antimicrobianos e os ácidos húmicos do solo (PEREIRA et al., 2012). Alguns destes mecanismos de interação entre antimicrobianos e solos podem ser elucidados utilizando, por exemplo: as técnicas de difração de raios-X e infravermelho por transformada de Fourier, que são capazes de identificar mecanismos tais como de ligação de hidrogênio, interação hidrofóbica e de transferência de carga.

As discussões sobre adsorção apresentadas a seguir foram baseadas nos resultados das porcentagens de adsorção obtidos, nas características físicas e químicas dos solos sempre buscando a literatura para corroborar com os resultados apresentados.

Os gráficos das Figuras de 30 a 36 mostram a variação média da porcentagem de adsorção dos antimicrobianos em função do tempo de análise sobre os diferentes tratamentos dos solos de Taquaral-SP e Araraquara-SP, cujas replicatas de análise ($n = 2$) mostraram-se repetitivas, apresentando baixos intervalos de coeficientes de variação: 0,9 – 6,7 % (lincomicina); 3,5 – 5,8 % (sulfadiazina); 4,2 – 8,8 % (trimetropina); 10,6 – 13,4 % (oxitetraciclina); 1,3 – 4,3 % (tilosina); 4,9 – 9,7 % (amoxicilina); 2,0 – 7,9 % (norfloxacinina); 3,1 – 7,3 % (ciprofloxacina) e; 1,0 – 3,4 % (enrofloxacinina).

Lincomicina

Figura 30 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano lincomicina em função do tempo.



Fonte: elaborada pelo autor.

A porcentagem de adsorção de lincomicina na forma individual foi mais significativa (teste t de Student, 95 % de confiança) nos solos X S/T (Taquaral-SP) e Z S/T (Araraquara-SP), correspondendo no final do experimento a 30,4 % e 36,6 % respectivamente, quando comparadas ao estudo em mistura dos antimicrobianos. Tanto o pH 3,2 da turfa quanto o pH 4,8 do solo permitem que a lincomicina permaneça na forma não ionizada, uma vez que seu pK_a é elevado (12,9). Os principais mecanismos de interação sugeridos no sistema turfa-lincomicina, são a elevada capacidade de troca catiônica e ligações de hidrogênio entre os grupos ácidos das substâncias húmicas e os grupos polares desse antimicrobiano. Já para o solo Z S/T, além das ligações de hidrogênio, pode ter havido uma contribuição da fração argila em proporção muito maior nesse solo (65,5 %) do que na turfa (37,0 %). Estes mecanismos de adsorção propostos também foram relatados por Wang et

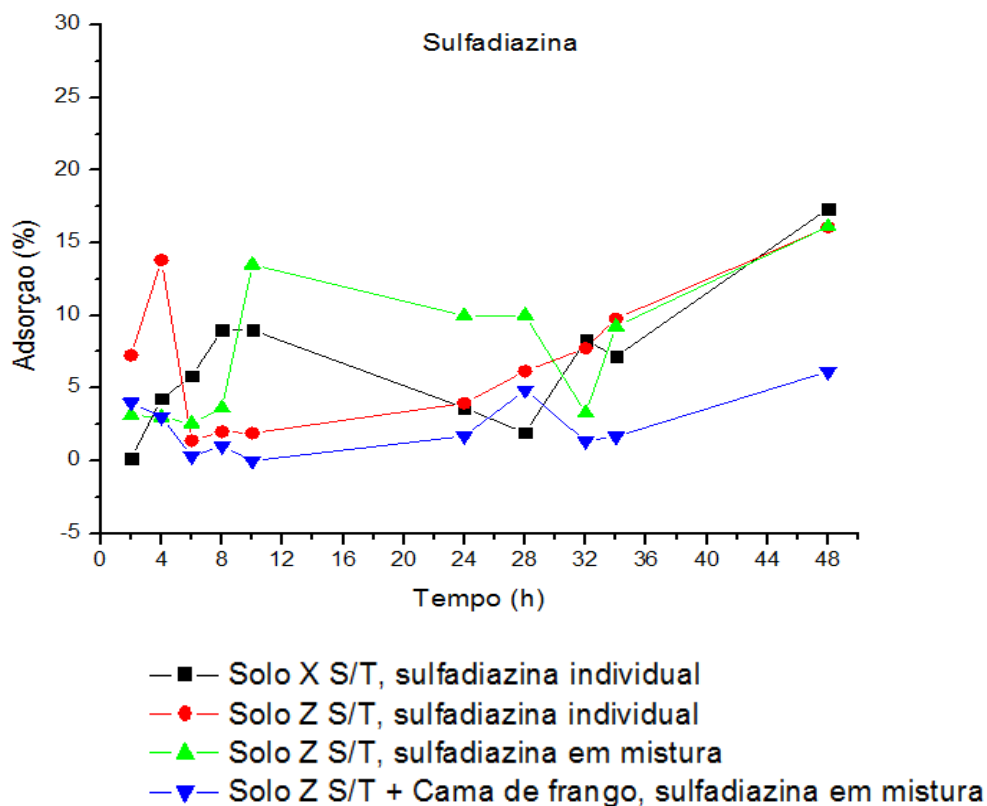
al. (2011), os quais indicaram que a adsorção de lincomicina é governada principalmente pela fração mineral dos solos.

Para os tratamentos em mistura a diferença de adsorção foi estatisticamente diferente (teste t de Student, 95 % de confiança): o solo Z S/T adsorveu 16,3% da quantidade inicial de lincomicina enquanto este mesmo solo associado à cama de frango 13,2%, mostrando que a cama de frango exerce influência neste processo.

A porcentagem de adsorção de lincomicina individual no solo Z S/T foi 20,3 % maior que a adsorção deste antimicrobiano em mistura no mesmo tipo de solo. Esses resultados sugerem que há uma estabilização da lincomicina em solução quando misturada com os demais antimicrobianos avaliados, diminuindo a quantidade disponível para ocorrer adsorção e aumentando, portanto, a capacidade para escoamento e lixiviação.

Sulfadiazina

Figura 31 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano sulfadiazina em função do tempo.



Fonte: elaborada pelo autor.

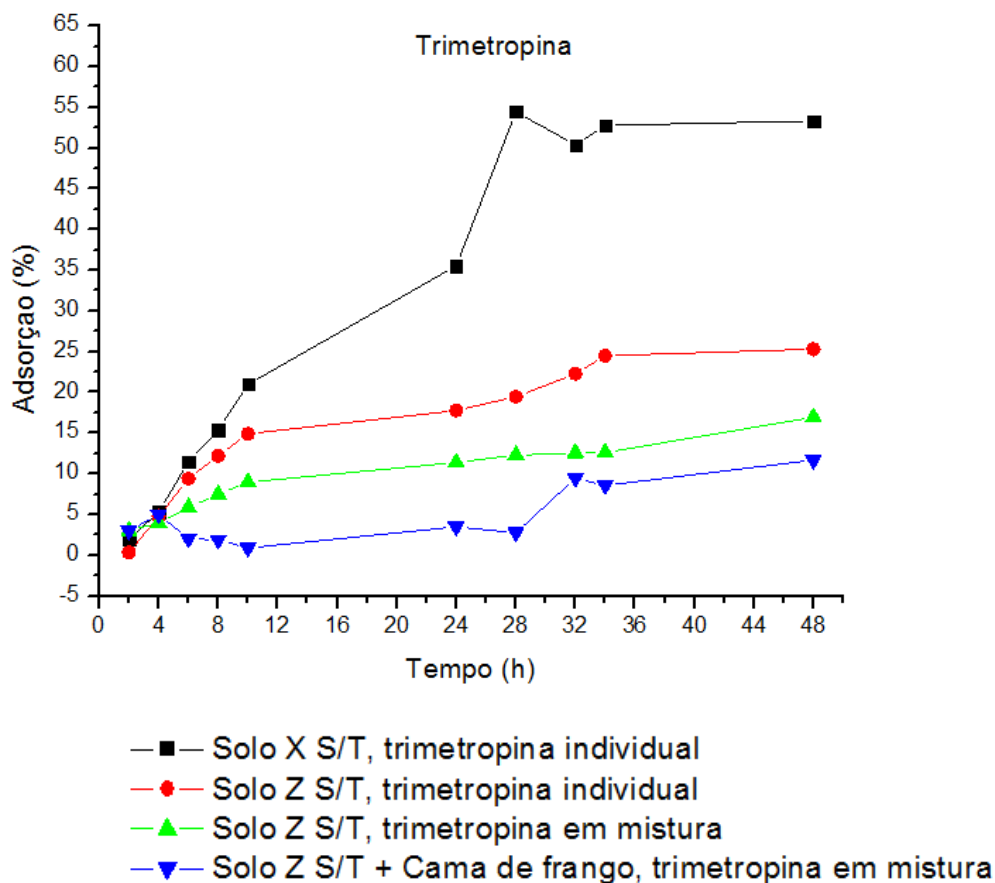
As porcentagens de adsorção de sulfadiazina foram estatisticamente diferentes (teste t de Student, 95 % de confiança) para os solos X S/T e Z S/T na forma individual, correspondendo a 17,3 %, 16,0 %. Esta diferença de porcentagem de adsorção entre os solos X S/T e Z S/T indica que para solos bem diferentes, quanto à porcentagem de matéria orgânica, pH e granulometria, os efeitos observados também são diferentes. Comparando-se o antimicrobiano individual e em mistura no solo Z S/T, não foi observada diferença significativa entre os ensaios ($t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}}$, 95 % de confiança), mostrando que a mistura não influencia no processo de adsorção.

O pK_a igual a 6,4 da sulfadiazina sugere que permaneça na forma não ionizada tanto no pH 3,2 da turfa quanto no pH 4,8 do solo. Portanto, o principal mecanismo de interação proposto no sistema turfa-sulfadiazina são as ligações de hidrogênio entre os grupos ácidos das substâncias húmicas e os grupos polares desse antimicrobiano (predominantemente as aminas). Já para o solo Z S/T, além das ligações de hidrogênio, sugere-se a contribuição da fração argila em maior proporção nesse solo do que na turfa. Estes resultados concordam com os obtidos por Doretto e Rath (2013) que avaliaram o comportamento de adsorção e dessorção do antimicrobiano sulfadiazina em quatro tipos de solos do estado de São Paulo. Nos experimentos de adsorção os autores encontraram que sulfadiazina adsorve-se mais fortemente nos solos com maiores teores de matéria orgânica e de argila.

Para o solo Z S/T incorporado com cama de frango a adsorção de sulfadiazina em mistura foi de 6,1 %, indicando que este material estabiliza o antimicrobiano que permanece solúvel em solução, diminuindo sua capacidade de adsorção.

Trimetropina

Figura 32 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano trimetropina em função do tempo.



Fonte: elaborada pelo autor.

A porcentagem de adsorção de trimetropina na forma individual foi significativa nos solos X S/T e Z S/T, correspondendo no final do experimento a 53,3% e 25,3 % respectivamente, quando comparadas ao estudo em mistura dos antimicrobianos (teste t de Student, 95 % de confiança). Observa-se uma porcentagem de adsorção mais significativa para a turfa X S/T, sendo aproximadamente o dobro que no solo Z S/T.

O pH 3,2 da turfa (solo X S/T, Taquaral – SP) é igual ao pK_{a1} da trimetropina, sugerindo que há um equilíbrio das espécies ionizadas (carga negativa) e não ionizadas (neutra). As espécies aniônicas de trimetropina podem ser atraídas eletrostaticamente pelas cargas predominantemente positivas dos ácidos húmicos da turfa. Portanto, a maior adsorção em turfa (53,3 %) pode ser explicada, pois

somam-se às interações citadas anteriormente as interações entre os grupos ácidos das substâncias húmicas presentes na turfa e os grupos polares desse antimicrobiano.

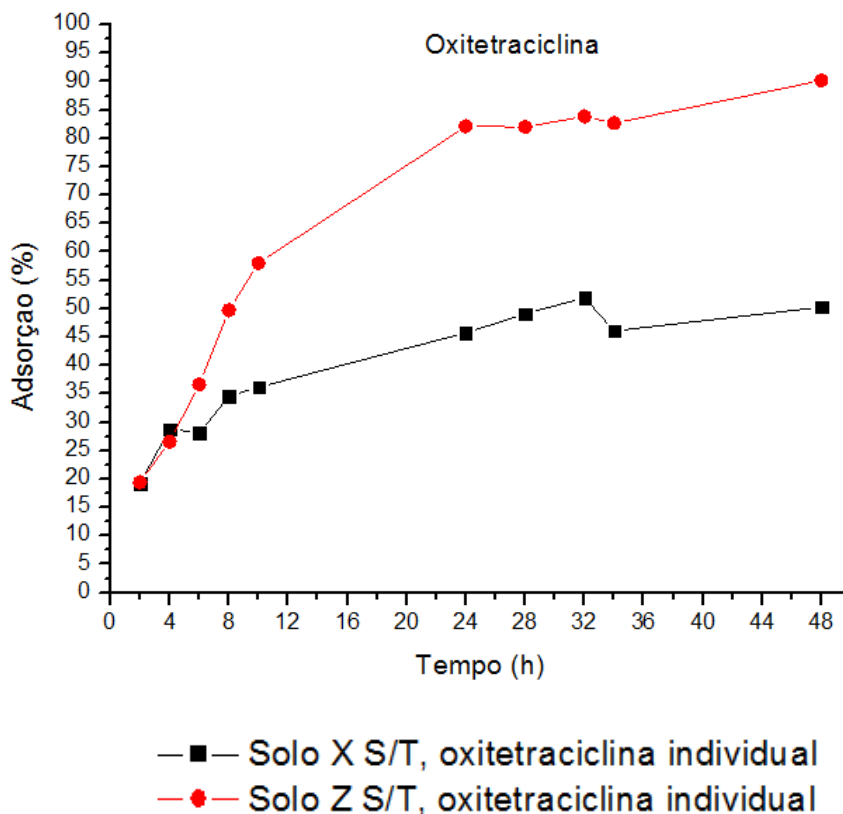
Os principais mecanismos de interação sugeridos para trimetropina sobre o solo Z S/T (Araraquara-SP) também são as interações eletrostáticas e não a granulometria, pois mesmo o solo Z S/T apresentando elevada porção de argila, esse fator parece não exercer influência no processo de adsorção do antimicrobiano. A adsorção é menor neste solo, 25,3 %, pois apresenta menor teor de matéria orgânica (1,4 %) e, conseqüentemente, menor concentração de ácidos húmicos quando comparado a turfa que possui uma porcentagem de matéria orgânica elevada (42,4 %).

Para os tratamentos em mistura a diferença de adsorção entre eles foi estatisticamente diferente, pois o solo Z S/T adsorveu 16,9 % da quantidade inicial de trimetropina enquanto este mesmo solo associado à cama de frango a 11,2 %, mostrando que a cama de frango exerce influência neste processo. A porcentagem de adsorção de trimetropina individual no solo Z S/T foi 8,4 % maior que a adsorção deste antimicrobiano em mistura no mesmo tipo de solo. Esses resultados sugerem que há uma estabilização da trimetropina em solução quando misturada com os demais antimicrobianos avaliados, diminuindo a quantidade disponível para ocorrer adsorção e aumentando sua mobilidade no solo.

Dados de adsorção de trimetropina foram encontrados na literatura (THIELE-BRUHN, 2003), porém em lodo de esgoto que difere bastante das matrizes avaliadas neste trabalho (turfa, solo e solo associado à cama de frango). Portanto, os resultados obtidos aqui poderão ser publicados e conseqüentemente contribuir para o entendimento da adsorção deste antimicrobiano em solos e solo misturado ao esterco animal.

Oxitetraciclina

Figura 33 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano oxitetraciclina em função do tempo.



Fonte: elaborada pelo autor.

A porcentagem de adsorção deste antimicrobiano é muito maior no solo Z S/T (Araraquara-SP) do que na turfa (Taquaral-SP), correspondendo a 90,2 % e 50,3 % respectivamente. A menor adsorção na turfa (50,3 %) pode ser relacionada ao seu pH de 3,2, que favorece a predominância de espécies carregadas positivamente do antimicrobiano (grupamentos NH_2 protonados), sugerindo uma repulsão eletrostática com as cargas positivas dos ácidos húmicos, presentes em grande quantidade neste solo devido ao maior teor de matéria orgânica (42,4 %).

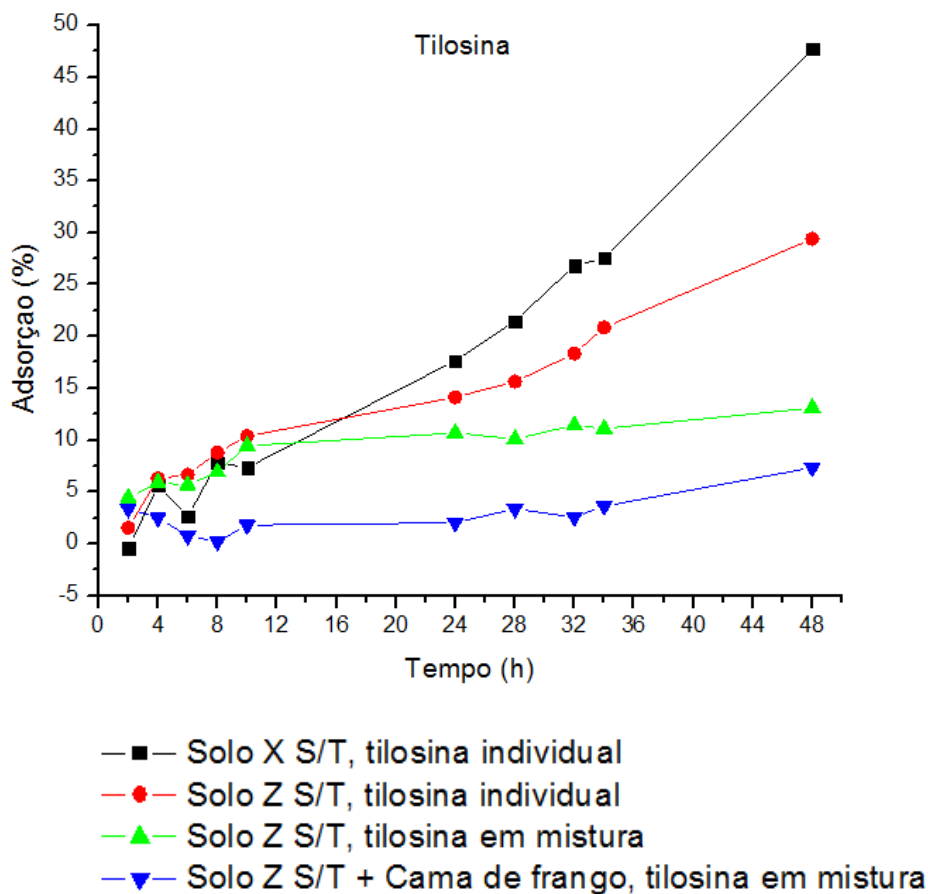
O pH 4,8 do solo Z S/T (Araraquara-SP) sugere a presença de espécies parcialmente protonadas dos ácidos húmicos (cargas positivas) e favorece uma mistura de espécies neutras e positivamente carregadas do antimicrobiano. Nesse sentido, uma repulsão eletrostática entre as espécies catiônicas do solo e do

antimicrobiano indicaria uma baixa porcentagem de adsorção, entretanto foi obtido um valor de 90,2 %. O mecanismo de interação que pode explicar este valor considerável é relatado na literatura como a afinidade das tetraciclinas pelos cátions metálicos divalentes dos solos, tais como Mg^{2+} e Ca^{2+} , formando complexos metálicos estáveis (LOKE et al., 2002). Portanto, os fatores que podem estar associados com esta elevada adsorção são: a afinidade das tetraciclinas pelos cátions metálicos divalentes do solo Z S/T (Mg^{2+} e Ca^{2+}), somada a contribuição da fração de argila em proporção majoritária neste solo (65,5 %). Estes resultados corroboram com aqueles publicados por Pils e Laird (2007) que constataram a adsorção preferencial das tetraciclinas na fração argilosa, seguida pelas substâncias húmicas e, por último, pela mistura de argila com substâncias húmicas.

As curvas de porcentagem de adsorção para oxitetraciclina em mistura tanto no solo Z S/T quanto neste mesmo solo associado à cama de frango não foram efetuadas, uma vez que este antimicrobiano apresentou baixa resolução cromatográfica (alargamento excessivo do pico) no método gradiente para análise dos nove antimicrobianos misturados durante o desenvolvimento desta tese, impedindo sua detecção e quantificação com exatidão e precisão. Dessa forma, experimentos adicionais futuros deverão ser realizados para otimizar as condições cromatográficas a fim de aumentar sua resolução, permitindo detecção e quantificação confiáveis.

Tilosina

Figura 34 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano tilosina em função do tempo.



Fonte: elaborada pelo autor.

A porcentagem de adsorção de tilosina na forma individual foi estatisticamente diferente (teste t de Student, 95 % de confiança) nos solos X S/T (Taquaral-SP) e Z S/T (Araraquara-SP), correspondendo no final do experimento a 47,7 % e 29,4 % respectivamente, quando comparadas ao estudo em mistura dos antimicrobianos. Nos pHs destes dois solos, tilosina apresenta-se predominantemente na sua espécie neutra. Portanto, os mecanismos propostos de interação entre este antimicrobiano e a matéria orgânica destes solos são as ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas dos grupos apolares, as quais são mais dominantes para a turfa (X S/T) devido à maior quantidade de ácidos húmicos presentes neste tipo de solo.

Dados encontrados na literatura referentes à adsorção deste antimicrobiano são predominantemente para solos arenosos e com baixos teores de matéria

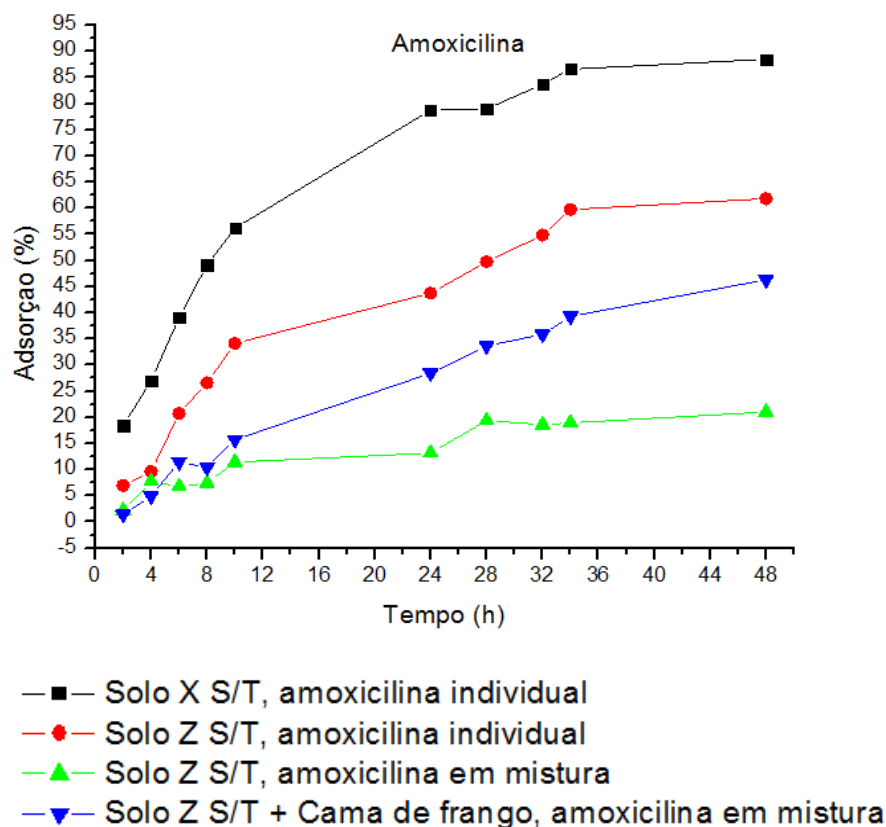
orgânica, os quais relatam baixa capacidade de adsorção de tilosina (THIELE-BRUHN, 2003). Tais solos são bem diferentes daqueles estudados neste trabalho: a turfa que é arenosa, porém, com elevado teor de matéria orgânica e o solo argiloso de Araraquara-SP com reduzida quantidade de matéria orgânica.

Para os tratamentos em mistura a diferença de adsorção foi considerável, diferindo estatisticamente (teste t de Student, 95 % de confiança), pois o solo Z S/T adsorveu 13,1 % da quantidade inicial de tilosina enquanto este mesmo solo associado à cama de frango adsorveu 7,3 %, mostrando que a cama de frango exerce influência neste processo de adsorção, diminuindo a quantidade disponível para sofrer adsorção. Não foram encontrados trabalhos na literatura que avaliaram o papel de esterco no processo de adsorção de tilosina.

A porcentagem de adsorção de tilosina individual no solo Z S/T foi 16,3 % maior que a adsorção deste antimicrobiano em mistura no mesmo tipo de solo. Esses resultados sugerem que há uma estabilização da tilosina em solução quando misturada com os demais antimicrobianos avaliados, diminuindo a quantidade disponível para ocorrer adsorção e aumentando, portanto, a capacidade de mobilidade no solo.

Amoxicilina

Figura 35 – Variação da porcentagem de adsorção do antimicrobiano amoxicilina em função do tempo.



Fonte: elaborada pelo autor.

A porcentagem de adsorção de amoxicilina na sua forma individual foi mais pronunciada na turfa (X S/T, Taquaral – SP), com 88,5 %, seguido pelo solo Z S/T (Araraquara – SP) com 61,8 % (diferiram estatisticamente segundo o teste t de Student, 95 % de confiança). O maior valor de adsorção na turfa (88,5 %) pode ser explicado devido ao seu pH de 3,2 possibilitar a formação de espécies aniônicas de amoxicilina, favorecendo as interações com os cátions metálicos e as cargas positivas dos ácidos húmicos deste solo, os quais estão em maior concentração quando comparado ao solo Z S/T, que apresenta menores teores destas espécies catiônicas e, portanto, menor porcentagem de adsorção (61,8 %). Estes resultados concordam com aqueles publicados por Kim et al. (2012), que constataram o aumento da capacidade de adsorção de amoxicilina com o aumento da matéria orgânica e teor de argila dos solos avaliados.

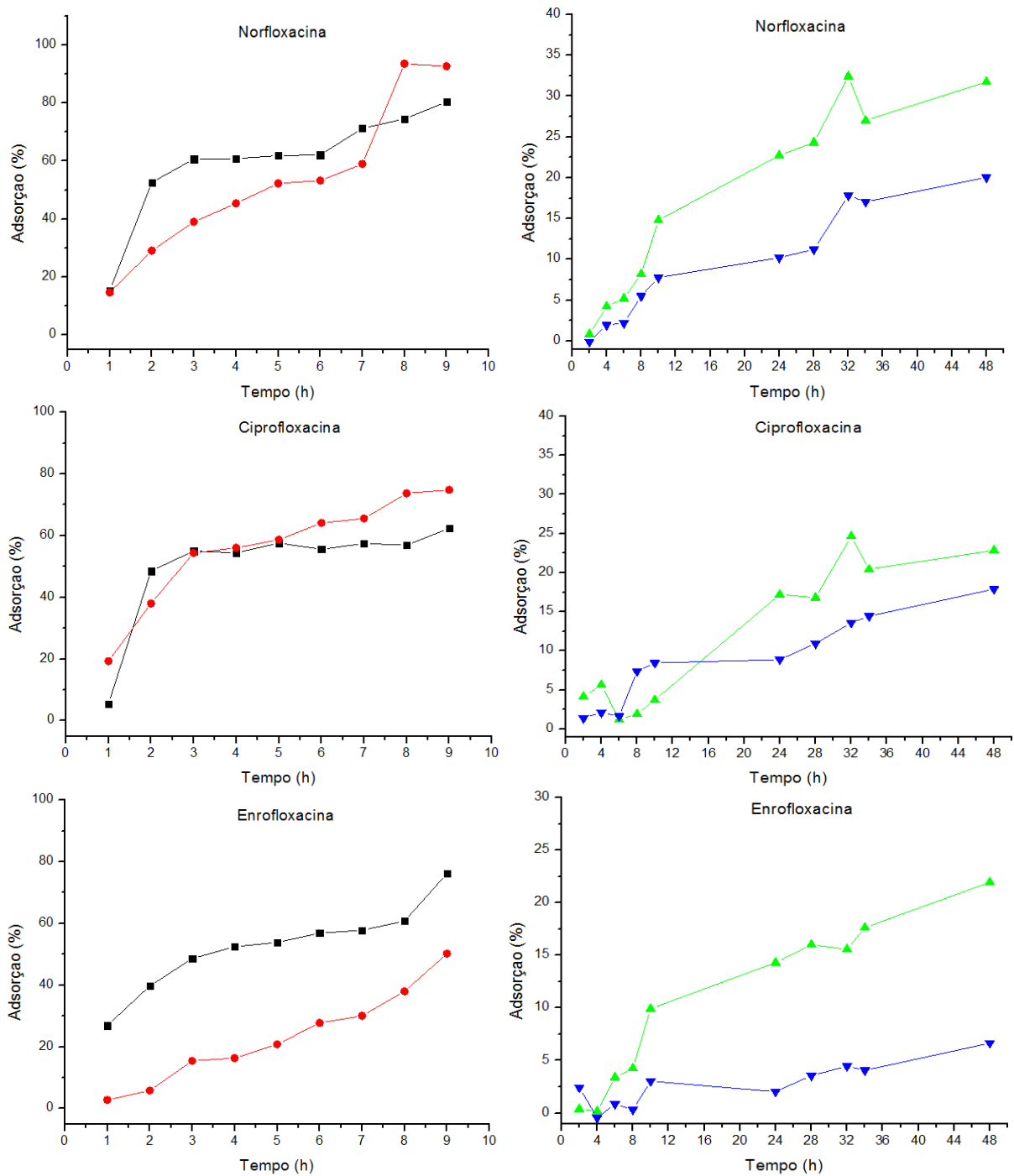
Para os tratamentos em mistura a diferença de adsorção entre eles foi apreciável, pois o solo Z S/T adsorveu 21,0 % da quantidade inicial de amoxicilina enquanto este mesmo solo associado à cama de frango adsorveu 46,3 %, mostrando que a cama de frango exerce influência neste processo de adsorção aumentando-o consideravelmente. Estes resultados podem contribuir para o entendimento do comportamento de amoxicilina em solos associados à cama de frango, uma vez que não foram encontrados na literatura dados sobre adsorção deste antimicrobiano neste tipo de mistura.

A porcentagem de adsorção de amoxicilina individual no solo Z S/T (Araraquara-SP) foi 40,8 % maior que a adsorção deste antimicrobiano em mistura no mesmo tipo de solo. Esses resultados sugerem que há uma estabilização da amoxicilina em solução quando misturada com os demais antimicrobianos avaliados, diminuindo a quantidade disponível para ocorrer adsorção e aumentando, portanto, a capacidade de mobilidade no solo. Entretanto, ao contrário dos demais antimicrobianos apresentados anteriormente (lincomicina, sulfadiazina, trimetropina e tilosina), a cama de frango associada ao solo favorece o processo de adsorção de amoxicilina.

Norfloxacin, ciprofloxacina e enrofloxacin

As curvas de adsorção para os antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas (norfloxacin, ciprofloxacina e enrofloxacin) foram construídas utilizando dois intervalos de tempo: intervalo de 9 h para estes antimicrobianos nas suas formas individuais e 48 h quando em mistura com os demais compostos. Essa diferença na execução dos ensaios comparados aos outros antimicrobianos foi devido a elevada porcentagem de adsorção obtida para as três fluoroquinolonas quando sozinhas em solução, necessitando de um tempo menor de contato entre solo e solução (9 horas). Porém, quando em mistura com o restante das substâncias esta característica de adsorção foi consideravelmente menor, necessitando de um intervalo de tempo maior para que pudesse ser observado a variação da porcentagem de adsorção. Os gráficos das Figuras 36 mostram os resultados obtidos para norfloxacin, ciprofloxacina e enrofloxacin respectivamente.

Figura 36 – Variação da porcentagem de adsorção dos antimicrobianos norfloxacina, ciprofloxacina em enrofloxacina em função do tempo.



- Solo X S/T, antimicrobiano individual, 9 h de estudo
- Solo Z S/T, antimicrobiano individual, 9 h de estudo
- ▲— Solo Z S/T, antimicrobiano em mistura, 48 h de estudo
- ▼— Solo Z S/T + Cama de frango, antimicrobiano em mistura, 48 h de estudo

Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com os gráficos da Figura 36, as porcentagens de adsorção das fluoroquinolonas individuais diferiram estatisticamente (teste t de Student, 95 % de confiança) em relação à mistura: 80,4 % no solo X S/T (Taquaral-SP) e 92,8 % no solo Z S/T (Araraquara-SP) para norfloxacin; para ciprofloxacina foram obtidos 62,4 % e 74,8 % de adsorção nos solos X S/T e Z S/T nesta ordem; e de 76,2 % e 50,2 % para enrofloxacin nos solos X S/T e Z S/T respectivamente. Ressalta-se que estes elevados valores foram obtidos em apenas 9 horas, evidenciando-se uma rápida adsorção quando comparadas ao estudo em mistura dos antimicrobianos que foi de 48 horas de contato entre o solo e solução.

Os elevados valores de adsorção no solo de Araraquara-SP, que apresenta baixo teor de matéria orgânica (1,4 %), sugerem que as fluoroquinolonas ligam-se fortemente na fração argila deste solo através de vários mecanismos, tais como interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio. Enquanto que para a turfa, as altas porcentagens de adsorção podem ser explicadas devido a maior quantidade de matéria orgânica (42,4 %), sugerindo interações destes antimicrobianos com as substâncias húmicas por meio de ligações de hidrogênio dos grupos polares. Estes resultados concordam com os trabalhos compilados por Pereira et al. (2012) que afirmaram que as fluoroquinolonas apresentam elevada adsorção, pois estes compostos podem ser interagidos pelos sítios negativos e positivos do solo devido à presença de diversos grupos ionizáveis e à capacidade de formação de espécies catiônicas, aniônicas ou zwitteriônicas.

Os gráficos da Figura 36 indicaram que quando cada fluoroquinolona está misturada com os demais antimicrobianos a porcentagem de adsorção é menor: para norfloxacin foram obtidos 31,8 % no solo Z S/T (Araraquara-SP) e 20,0 % para este mesmo solo associado à cama de frango; 22,9 % de adsorção para ciprofloxacina no solo Z S/T e 17,9 % quando este solo foi incorporado com cama de frango; e por último para enrofloxacin foram encontrados 21,9 % de adsorção no solo Z S/T e apenas 6,7% quando misturado com cama de frango.

Estes resultados sugerem que a cama de frango exerce influência no processo de adsorção, diminuindo a quantidade disponível para que este fenômeno ocorra e sugerindo, portanto, o aumento da mobilidade das fluoroquinolonas no solo, com destaque para a enrofloxacin que se adsorveu apenas 6,7 %. Estas

informações são importantes, uma vez que na literatura não foram encontrados dados sobre a capacidade de adsorção destas três substâncias em mistura tampouco em esterco animal associado a solos.

5.10. Isotermas de adsorção

Isotermas de adsorção de antimicrobianos em solos têm papel importante quanto ao destino e transporte destas substâncias no ambiente, fornecendo informações que podem contribuir na estimativa de risco apresentado por tais compostos e avaliando a influência da concentração na extensão de adsorção. (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011a). De acordo com os fluxogramas das Figuras 9 e 11, referentes aos antimicrobianos analisados individualmente e em mistura respectivamente, isotermas de adsorção para os nove compostos estudados foram construídas, relacionando-se a quantidade adsorvida por grama de solo em função da concentração da substância que permaneceu solúvel em cloreto de cálcio $0,010 \text{ mol L}^{-1}$. Os resultados das isotermas de adsorção foram discutidos nesta tese utilizando as seguintes estratégias:

1^a – Comparação das isotermas dos antimicrobianos individuais no solo Z S/T (Araraquara – SP) versus as isotermas dos antimicrobianos em mistura neste mesmo solo para avaliar a influência desta mistura de compostos no processo de adsorção;

2^a – Comparação das isotermas dos antimicrobianos em mistura sobre o solo Z S/T (Araraquara – SP) versus este mesmo solo incorporado com cama de frango, cuja finalidade foi avaliar a influência do esterco no processo de adsorção com os compostos misturados;

3^a – E por último avaliar o processo de adsorção dos antimicrobianos individuais sobre três diferentes tratamentos dos solos X (Taquaral – SP) e Z (Araraquara – SP): in natura, esterilizado e calcinado.

5.10.1. Discussão das estratégias números 1 e 2.

Quanto aos modelos de adsorção, existem inúmeros na literatura, conforme relatado por Giles et al. (1974) sobre equações de isotermas, suas propriedades em altas e baixas concentrações e classificação. Três modelos de isotermas de adsorção foram avaliados neste trabalho: linear, Langmuir e Freundlich, por estes serem os mais freqüentemente encontrados na literatura para descrever a adsorção de antimicrobianos em solo ou em solo associado a esterco animal (DORETTO; RATH, 2013; KIM et al., 2012; LEAL et al., 2012 KASTEEL et al., 2010). Os coeficientes de adsorção de cada modelo foram obtidos através das equações numeradas de 2 a 4.

Os gráficos das isotermas lineares, Freundlich e de Langmuir para os antimicrobianos individuais e em mistura no solo Z S/T (Araraquara-SP) e neste mesmo solo associado à cama de frango estão apresentados no Apêndice B desta tese. A partir dos valores fornecidos pela regressão linear dessas isotermas foi possível obter os parâmetros apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 – Dados de adsorção obtidos pelas isotermas lineares, Freundlich e Langmuir para os antimicrobianos individuais e em mistura no solo Z S/T (Araraquara-SP) e em mistura neste mesmo solo associado à cama de frango.

Antimicrobianos	Solos	CV (%)	Linear		Freundlich			Langmuir		
			K_d	R^2	K_F	n	R^2	K_L	b_L	R^2
Lincomicina individual	Z S/T	0,50 – 10,6	1,011	0,971	2,247	1,214	0,944	$8,05 \cdot 10^{-3}$	194,590	0,907
Lincomicina em mistura	Z S/T	0,21 – 10,6	0,426	0,470	0,092	0,871	0,272	$3,76 \cdot 10^{-4}$	545,593	0,531
Lincomicina em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,21 – 8,78	0,841	0,504	0,526	0,979	0,472	$-4,93 \cdot 10^{-4}$	-1157,192	0,565
Sulfadiazina individual	Z S/T	0,15 – 1,43	2,063	0,970	0,0800	0,625	0,857	$-6,48 \cdot 10^{-3}$	-81,090	0,945
Sulfadiazina em mistura	Z S/T	0,21 – 10,63	1,174	0,773	$1,202 \cdot 10^{-5}$	0,294	0,805	-0,0106	-6,547	0,907
Sulfadiazina em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,13 – 4,69	-0,178	0,219	0,648	1,328	0,636	-0,0323	3,801	0,205
Trimetropina individual	Z S/T	0,91 – 5,67	1,697	0,953	0,199	0,670	0,919	-0,0106	-62,311	0,886
Trimetropina em mistura	Z S/T	0,29 – 5,01	0,158	0,741	0,336	1,194	0,706	$4,48 \cdot 10^{-3}$	50,247	0,684
Trimetropina em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,85 – 7,19	-0,116	0,101	1,456	1,495	0,256	-0,0430	11,704	0,159

*CV: coeficiente de variação (n = 2); Z S/T: (solo sem tratamento, Araraquara-SP); K_d : $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$; K_F : $(\mu\text{g g}^{-1})/(\text{cm}^3 \text{g}^{-1})^{1/n}$; K_L : $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$; b_L : $\mu\text{g g}^{-1}$
Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 23 – Continuação.

Antimicrobianos	Solos	CV (%)	Linear		Freundlich			Langmuir		
			K _d	R ²	K _F	n	R ²	K _L	b _L	R ²
Tilosina individual	Z S/T	0,61 – 1,60	0,848	0,783	0,490	0,864	0,844	-4,51 10 ⁻³	-139,763	0,976
Tilosina em mistura	Z S/T	0,10 – 1,29	-0,555	0,953	2,201 10 ³	-1,280	0,433	-0,0644	59,570	0,547
Tilosina em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,57 – 4,84	0,182	0,0486	0,028	0,575	0,999	-5,52 10 ⁻³	-65,991	0,995
Amoxicilina individual	Z S/T	0,31 – 10,11	3,344	0,980	3,473	1,263	0,728	-0,0270	-82,194	0,950
Amoxicilina em mistura	Z S/T	0,40 – 1,50	0,539	0,916	0,265	0,882	0,896	0,0341	11,457	0,875
Amoxicilina em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,21 – 5,79	0,500	0,811	6,099	4,926	0,931	3,056	9,210	0,331
Norfloxacin individual	Z S/T	0,71 – 2,76	4,104	0,887	3,921	1,085	0,888	-0,161	-30,359	0,910
Norfloxacin em mistura	Z S/T	0,31 – 1,82	0,443	0,972	0,349	1,283	0,968	2,610	0,284	0,969
Norfloxacin em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,31 – 1,84	0,506	0,348	0,438	2,197	0,393	7,363	0,351	0,424

*CV: coeficiente de variação; (n = 2); Z S/T: (solo sem tratamento, Araraquara-SP); K_d: cm³ g⁻¹; K_F: (μg g⁻¹)/(cm³ g⁻¹)^{1/n}; K_L: cm³ g⁻¹; b_L: μg g⁻¹
Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 23 – Continuação.

Antimicrobianos	Solos	CV (%)	Linear		Freundlich			Langmuir		
			K _d	R ²	K _F	n	R ²	K _L	b _L	R ²
Ciprofloxacina individual	Z S/T	0,25 – 4,26	1,628	0,914	0,599	4,948	0,847	192,394	0,363	0,626
Ciprofloxacina em mistura	Z S/T	0,19 – 2,80	0,451	0,108	0,392	1,163	0,162	3,793	0,186	0,109
Ciprofloxacina em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,12 – 5,42	0,76	0,44	0,387	1,078	0,196	12,3159	0,0976	0,0311
Enrofloxacina individual	Z S/T	0,25 – 2,21	3,435	0,983	3,147	1,038	0,987	0,750	4,872	0,990
Enrofloxacina em mistura	Z S/T	0,23 – 1,35	0,0660	0,0282	0,0193	5,3127	5,9 10 ⁻³	-63,125	9,91 10 ⁻³	5,96 10 ⁻³
Enrofloxacina em mistura	Z S/T + Cama de frango	0,27 – 1,88	0,128	0,131	0,156	1,103	0,276	-0,0698	-2,501	0,420
Oxitetraciclina individual	Z S/T	5,66 – 12,87	6,216	0,902	53,702	2,399	0,847	0,211	222,126	0,862

*CV: coeficiente de variação (n = 2); Z S/T: (solo sem tratamento, Araraquara-SP); K_d: cm³ g⁻¹; K_F: (μg g⁻¹)/(cm³ g⁻¹)^{1/n}; K_L: cm³ g⁻¹; b_L: μg g⁻¹
Fonte: elaborada pelo autor.

O modelo linear foi mais satisfatório com coeficientes de correlação situados entre 0,844 e 0,983 para todos os antimicrobianos analisados individualmente no solo Z S/T (Araraquara-SP). Por outro lado, para os antimicrobianos analisados em mistura no solo Z S/T, os coeficientes de correlação dos três modelos avaliados foram muito baixos quando comparados aos compostos analisados individualmente. Neste caso, apenas os antimicrobianos sulfadiazina, trimetropina, amoxicilina e norfloxacina se aproximaram de dois modelos: linear e Freundlich, com coeficientes de correlação variando entre 0,773-0,972 e 0,706-0,968, respectivamente.

Além disso, não foi encontrada correlação para a maioria dos antimicrobianos analisados em mistura no solo Z S/T associado à cama de frango em nenhum dos modelos de adsorção avaliados, exceto para tilosina e amoxicilina, que se aproximaram do modelo de Freundlich, com coeficientes de correlação iguais a 0,999 e 0,931 respectivamente.

E por último, pode-se inferir que o modelo de Langmuir não foi adequado ao processo de adsorção dos antimicrobianos avaliados neste trabalho, pois apresentaram valores negativos das constantes de adsorção (K_L) além de baixos coeficientes de correlação. Estes dados concordaram com: os apresentados por Kim et al. (2102), que avaliaram o modelo de Langmuir no processo de adsorção de amoxicilina em solo e obtiveram também valores negativos desta constante; e com aqueles descritos por Pereira et al. (2012), os quais reuniram dados sobre adsorção de antimicrobianos em solos, cujos modelos mais representativos foram o linear e de Freundlich, não sendo citado o modelo de Langmuir.

Como não houve correlação satisfatória dos modelos de Freundlich e Langmuir aplicados aos antimicrobianos em mistura no solo Z S/T e neste mesmo solo com cama de frango, não foi possível discutir sobre os parâmetros obtidos para cada um deles, tais como o valor de n , que está relacionado com o formato da isoterma de Freundlich, e de b_L , que indica a adsorção máxima do composto em micrograma por grama de solo na isoterma de Langmuir.

Não foram encontrados na literatura trabalhos envolvendo a avaliação de mistura de antimicrobianos em estudos de adsorção em solo tampouco em solo associado à cama de frango. A maioria deles engloba a determinação dos coeficientes de adsorção (K_d) e modelos de isotermas para os antimicrobianos

individuais. Portanto, não foi possível comparar os dados obtidos neste trabalho referente aos antimicrobianos em mistura com outros da literatura. Nesse sentido, sugere-se que os baixos coeficientes de correlação obtidos pelos modelos foram causados devido a mistura dos antimicrobianos serem estabilizados em solução, tornando-as menos disponíveis para adsorverem-se no solo e tampouco neste com cama de frango. Ressalta-se que esta abordagem deve ser avaliada em estudos adicionais para averiguação, se houverem, dos mecanismos de interação entre os antimicrobianos em solução, utilizando como, por exemplo, técnicas espectroscópicas (VAZ JÚNIOR, 2006).

Sugere-se ainda que os experimentos de adsorção realizados neste trabalho sejam repetidos, empregando-se, porém, um número maior de níveis de concentração. Além de concentrações mais elevadas para aqueles analisados por CLAE-FLU e, concentrações mais baixas para os antimicrobianos analisados por CLAE-UV, utilizando para isso a cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas, a qual apresenta baixos limites de quantificação para estes compostos (MARTINEZ-CARBALO et al., 2007; HAMSCHER et al., 2002).

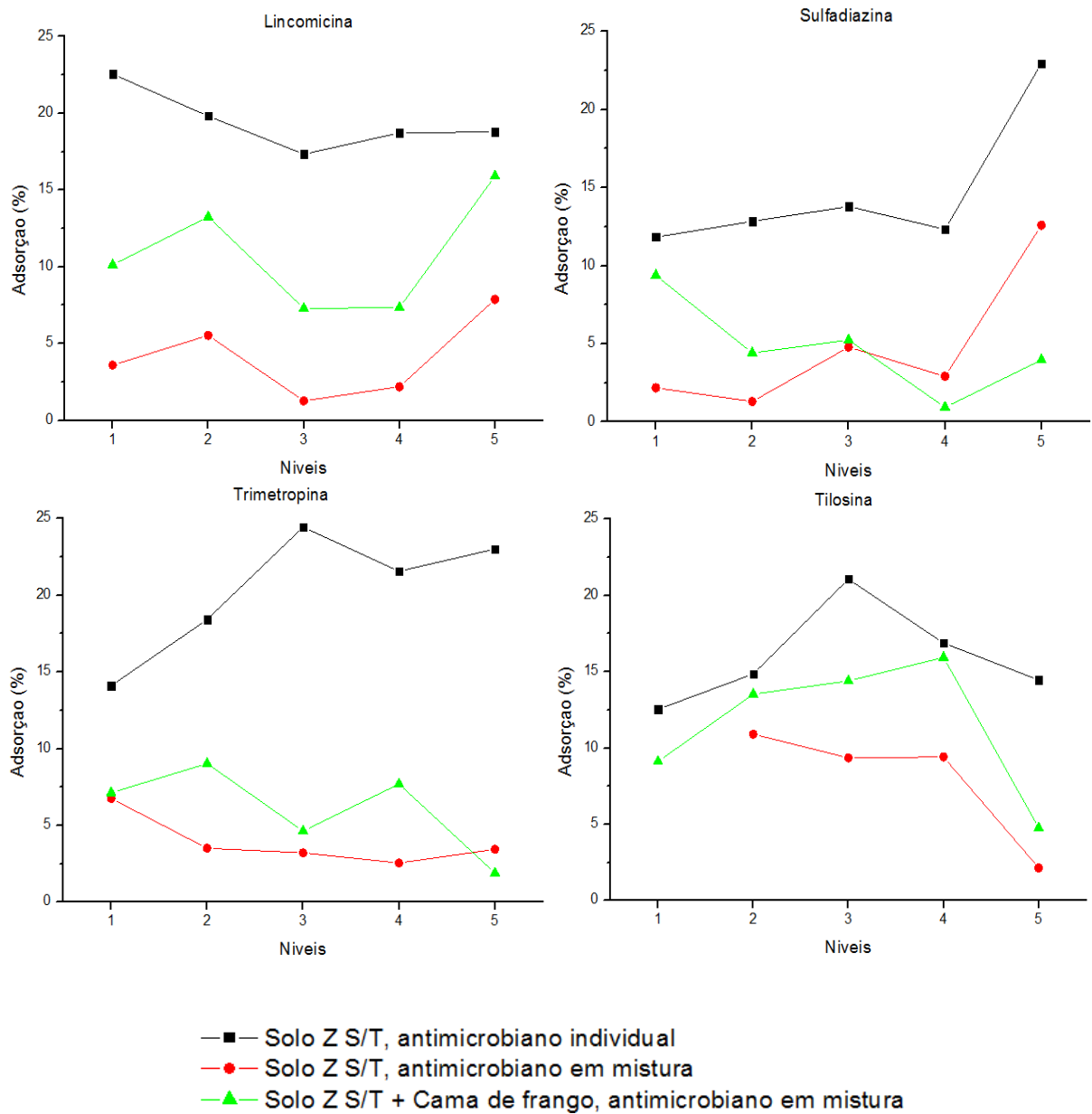
Outros experimentos poderiam ajudar a explicar este fenômeno tais como avaliação da dessorção destes compostos em mistura e individuais, pois forneceria informações sobre o equilíbrio no sistema solo/solução, indicando o quanto este processo pode ser reversível. Além dos estudos de degradação em solo e em cama de frango, que indicariam o tempo de meia vida dos antimicrobianos nestas duas matrizes.

Trabalhos publicados indicaram que muitos antimicrobianos podem ser degradados por microrganismos presentes no solo e em cama de frango. Recentemente, estudos estão sendo realizados para verificar a biodegradabilidade de uma variedade de antimicrobianos em laboratório usando esterco puro ou mistura deste com solo de acordo com Sarmah et al. (2006) em sua revisão. Loke et al. (2000), por exemplo, observaram a degradação de tilosina em esterco suíno e determinaram que esta taxa aumentava à medida que mais esterco era adicionado. Ressalta-se também a degradação abiótica, uma vez que excretados, a estabilidade dos antimicrobianos dependerá de suas propriedades físicas e químicas, além das condições ambientais tais como tipo de solo, temperatura, radiação solar e pH.

Destaca-se que o esterco pode reduzir a taxa de degradação, funcionando como uma barreira para a luz reduzindo às reações de fotodegradação. Este comportamento foi verificado por De Liguoro et al. (2003), os quais determinaram que a concentração de oxitetraciclina nas camadas intermediárias e mais profundas de excreta de animais acumuladas foi consideravelmente maior que a encontrada nas camadas superficiais.

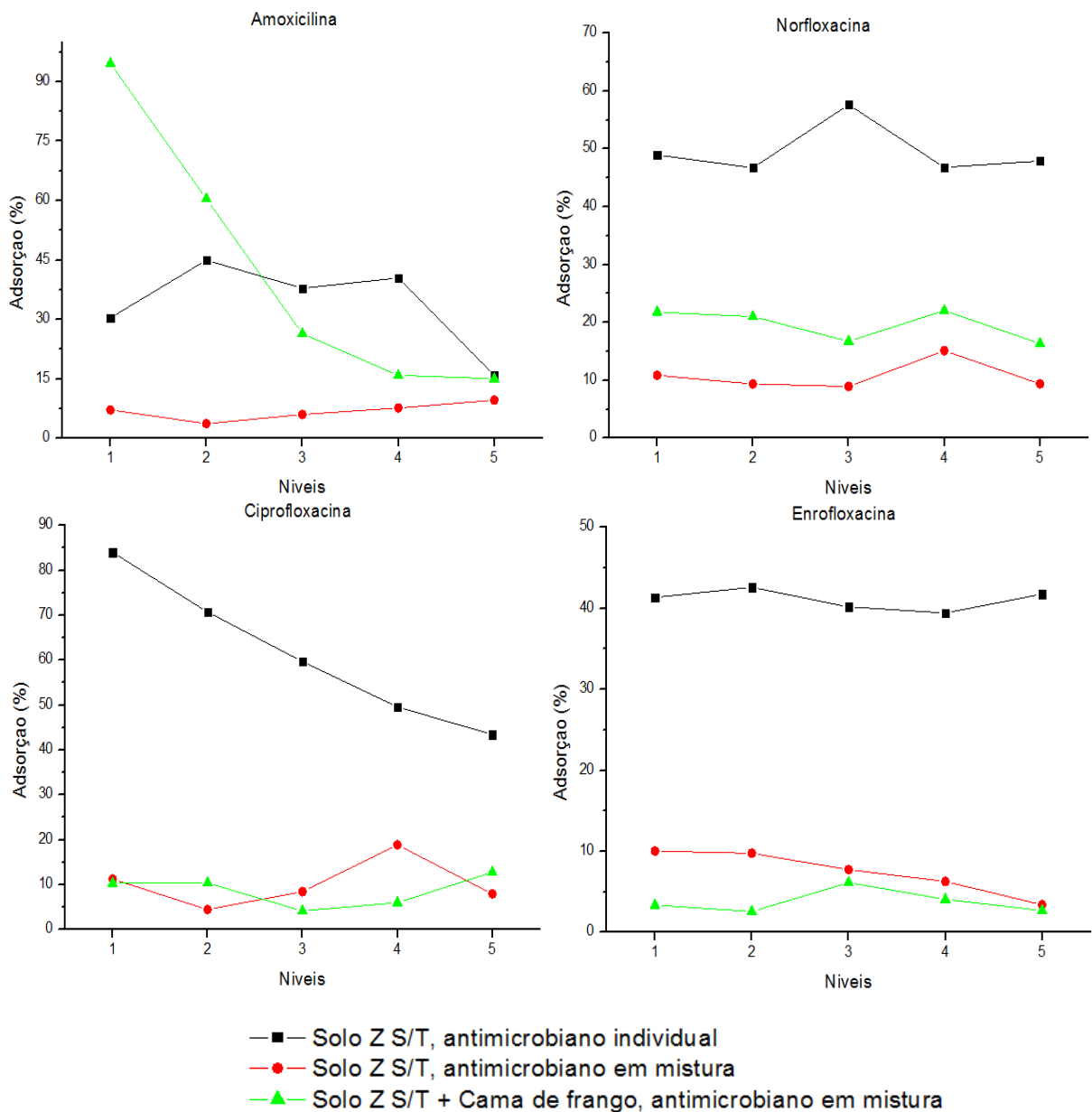
Embora os modelos de isotermas aplicados neste trabalho não tenham sido adequados ao processo de adsorção dos antimicrobianos em mistura, tanto em solo quanto em cama de frango com solo, impossibilitando a determinação dos seus coeficientes de adsorção, foi possível indicar que tais fatores (mistura dos antimicrobianos e cama de frango mais solo) provocam uma diminuição da adsorção para a maioria dos antimicrobianos estudados em todos os níveis de concentração avaliados. Exceto amoxicilina que apresentou maior adsorção no solo associado com cama de frango, mas somente nos dois primeiros níveis. Os gráficos das Figuras 37 e 38 mostram estes resultados, cujas linhas pretas mostram as porcentagens de adsorção em diferentes níveis de concentração para cada antimicrobiano analisado individualmente, enquanto as linhas vermelhas representam as análises em mistura e as verdes os ensaios em mistura dos compostos em solo associado à cama de frango.

Figura 37 – Variação da porcentagem de adsorção dos antimicrobianos lincomicina, sulfadiazina, trimetropina e tilosina sobre diferentes tratamentos e em diferentes níveis de concentração.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 38 – Variação da porcentagem de adsorção dos antimicrobianos amoxicilina, ciprofloxacina, norfloxacina e enrofloxacina sobre diferentes tratamentos e em diferentes níveis de concentração.



Fonte: elaborada pelo autor.

5.10.2. Discussão da estratégia número 3.

Foi avaliado também neste trabalho o processo de adsorção dos antimicrobianos individuais sobre três diferentes tratamentos dos solos X (Taquaral-SP) e Z (Araraquara-SP): in natura, esterilizado e calcinado, de acordo com procedimento descrito no item 4.2.8. Esta etapa foi realizada somente para os

antimicrobianos individuais, uma vez que de acordo com os resultados obtidos anteriormente para os antimicrobianos em mistura não foi possível ajustar um modelo de isoterma que melhor representasse o processo de adsorção tanto no solo Z S/T quanto neste mesmo solo associado à cama de frango.

Os gráficos das isotermas lineares, Freundlich e de Langmuir para os antimicrobianos individuais nos dos solos, in natura, calcinados e esterilizados, estão apresentados no Apêndice C desta tese. A partir dos valores fornecidos pela regressão linear dessas isotermas obtiveram-se os parâmetros apresentados na Tabela 24.

Tabela 24 – Dados de adsorção obtidos pelas isothermas lineares, Freundlich e Langmuir para os antimicrobianos individuais nos solos X e Z, sobre os três tratamentos: in natura, esterilizado e calcinado.

Antimicrobianos	Solo (tratamentos)	CV (%)	Linear		Freundlich			Langmuir		
			K_d	R^2	K_F	n	R^2	K_L	b_L	R^2
Lincomicina individual	X S/T	1,58 – 8,90	0,814	0,917	8,003	1,804	0,892	0,023	130,363	0,814
	X MU	1,25 – 12,41	2,059	0,939	12,783	1,603	0,967	0,020	296,668	0,987
	X ES	1,41 – 6,57	0,698	0,530	0,234	0,803	0,777	-0,007	-50,425	0,799
	Z S/T	0,50 – 10,6	1,011	0,971	2,247	1,214	0,944	$8,05 \cdot 10^{-3}$	194,590	0,907
	Z MU	1,79 – 12,42	1,272	0,871	2,428	1,137	0,877	0,001	1373,233	0,901
	Z ES	1,04 – 10,58	1,371	0,852	1,639	1,094	0,814	0,011	157,115	0,750
Sulfadiazina individual	X S/T	0,83 – 2,21	0,543	0,734	1,732	1,390	0,686	0,0172	62,581	0,656
	X MU	0,68 – 6,61	0,751	0,974	0,122	0,732	0,975	-0,005	-72,468	0,968
	X ES	0,89 – 6,08	3,184	0,852	0,009	0,442	0,945	-0,012	-40,540	0,994
	Z S/T	0,15 – 1,43	2,063	0,970	0,0800	0,625	0,857	$-6,48 \cdot 10^{-3}$	-81,090	0,945
	Z MU	1,28 – 2,46	0,501	0,715	0,078	0,690	0,693	-0,0104	-18,827	0,712
	Z ES	0,95 – 3,50	1,666	0,746	0,040	0,567	0,836	-0,00642	-73,734	0,871

*CV: coeficiente de variação (n = 2);

X: turfa de Taquaral-SP; Z solo de Araraquara-SP;

S/T: (solo in natura); MU (solo calcinado); ES (solo esterilizado);

K_d : $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$; K_F : $(\mu\text{g g}^{-1})/(\text{cm}^3 \text{g}^{-1})^{1/n}$; K_L : $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$; b_L : $\mu\text{g g}^{-1}$.

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 24 – Continuação.

Antimicrobianos	Solo (tratamentos)	CV (%)	Linear		Freundlich			Langmuir		
			K _d	R ²	K _F	n	R ²	K _L	b _L	R ²
Trimetropina individual	X S/T	1,69 – 15,84	1,996	0,938	9,708	1,488	0,894	0,0135	337,437	0,848
	X MU	0,67 – 15,43	2,047	0,935	9,878	1,456	0,951	0,0125	381,157	0,955
	X ES	0,20 – 6,26	1,404	0,901	0,114	0,654	0,840	-0,005878	-97,452	0,777
	Z S/T	0,91 – 5,67	1,697	0,953	0,199	0,670	0,919	-0,0106	-62,311	0,886
	Z MU	0,72 – 6,53	2,735	0,966	2,553	0,968	0,977	-3,100 10 ⁻³	-830,866	0,985
	Z ES	0,98 – 7,57	1,868	0,939	0,211	0,675	0,949	-7,72 10 ⁻³	-104,742	0,947
Tilosina individual	X S/T	0,83 – 2,75	2,877	0,988	1,046	0,819	0,987	-0,00511	-361,036	0,988
	X MU	0,77 – 2,17	1,319	0,972	2,666	1,184	0,944	0,00838	239,522	0,891
	X ES	0,19 – 2,88	2,798	0,751	10,366	1,325	0,675	8,37 10 ⁻⁴	5627,725	0,634
	Z S/T	0,61 – 1,60	0,848	0,783	0,490	0,864	0,844	-4,51 10 ⁻³	-139,763	0,976
	Z MU	1,35 – 16,6	1,410	0,876	0,419	0,814	0,999	-0,00438	-178,674	0,998
	Z ES	0,79 – 3,17	3,262	0,854	6,926	1,054	0,999	0,00946	733,883	0,977

*CV: coeficiente de variação (n = 2);

X: turfa de Taquaral – SP; Z solo de Araraquara –SP;

S/T: (solo in natura); MU (solo calcinado); ES (solo esterilizado);

K_d: cm³ g⁻¹; K_F: (μg g⁻¹)/(cm³ g⁻¹)^{1/n}; K_L: cm³ g⁻¹; b_L: μg g⁻¹.

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 24 – Continuação.

Antimicrobianos	Solo (tratamentos)	CV (%)	Linear		Freundlich			Langmuir		
			K _d	R ²	K _F	n	R ²	K _L	b _L	R ²
Amoxicilina individual	X S/T	1,44 – 11,56	2,516	0,983	4,837	1,251	0,985	0,0592	85,636	0,998
	X MU	1,73 – 15,56	1,398	0,675	3,652	1,289	0,640	-0,0443	-47,956	0,856
	X ES	1,54 – 13,13	2,117	0,855	1,670	0,904	0,736	-0,0957	-11,296	0,878
	Z S/T	0,31 – 10,11	3,344	0,980	3,473	1,263	0,728	-0,0270	-82,194	0,950
	Z MU	1,07 – 12,96	2,988	0,788	2,891	0,840	0,854	-0,134	-15,004	0,944
	Z ES	2,85 – 11,47	1,679	0,706	3,387	1,227	0,819	-0,00500	-513,320	0,931
Norfloxacin individual	X S/T	0,91 – 3,34	3,287	0,958	1,178	1,879	0,910	49,858	0,305	0,851
	X MU	1,06 – 1,80	4,071	0,654	1,110	2,004	0,730	57,116	0,303	0,809
	X ES	1,45 – 7,99	5,747	0,898	7,039	0,857	0,898	-0,973	-4,148	0,917
	Z S/T	0,71 – 2,76	4,104	0,887	3,921	1,085	0,888	-0,161	-30,359	0,910
	Z MU	1,36 – 9,75	4,874	0,935	2,431	1,423	0,838	11,665	0,866	0,674
	Z ES	0,37 – 2,27	5,747	0,899	7,039	0,857	0,898	-0,973	-4,148	0,917

*CV: coeficiente de variação (n = 2);

X: turfa de Taquaral – SP; Z solo de Araraquara –SP;

S/T: (solo in natura); MU (solo calcinado); ES (solo esterilizado);

K_d: cm³ g⁻¹; K_F: (μg g⁻¹)/(cm³ g⁻¹)^{1/n}; K_L: cm³ g⁻¹; b_L: μg g⁻¹.

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 24 – Continuação.

Antimicrobianos	Solo (tratamentos)	CV (%)	Linear		Freundlich			Langmuir		
			K _d	R ²	K _F	n	R ²	K _L	b _L	R ²
Ciprofloxacina individual	X S/T	0,88 – 7,58	3,231	0,992	6,817	0,779	0,982	-8,320	-0,219	0,962
	X MU	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
	X ES	0,91 – 7,51	1,687	0,614	1,709	1,131	0,598	-4,687	-0,417	0,615
	Z S/T	0,25 – 4,26	1,628	0,914	0,599	4,948	0,847	192,394	0,363	0,626
	Z MU	0,40 – 2,52	7,036	0,618	6,461	0,826	0,568	9,256	0,450	0,551
	Z ES	0,33 – 4,56	3,094	0,938	1,193	2,122	0,850	38,877	0,457	0,747
	X S/T	1,32 – 5,26	4,242	0,946	2,874	1,216	0,915	5,583	1,121	0,880
Enrofloxacin individual	X MU	1,12 – 2,70	14,367	0,981	94,265	0,650	0,967	-28,995	-0,180	0,908
	X ES	0,64 – 4,23	4,246	0,902	9,106	0,750	0,944	-6,414	-0,351	0,953
	Z S/T	0,25 – 2,21	3,435	0,983	3,147	1,038	0,987	0,750	4,872	0,990
	Z MU	0,70 – 2,88	3,796	0,746	2,477	1,372	0,711	5,173	1,413	0,713
	Z ES	0,27 – 2,45	3,466	0,988	2,510	1,218	0,995	5,102	1,071	0,994

NC: não calculado, pois não houve detecção do analito após período de contato com o referido solo;

*CV: coeficiente de variação (n = 2);

X: turfa de Taquaral – SP; Z solo de Araraquara –SP;

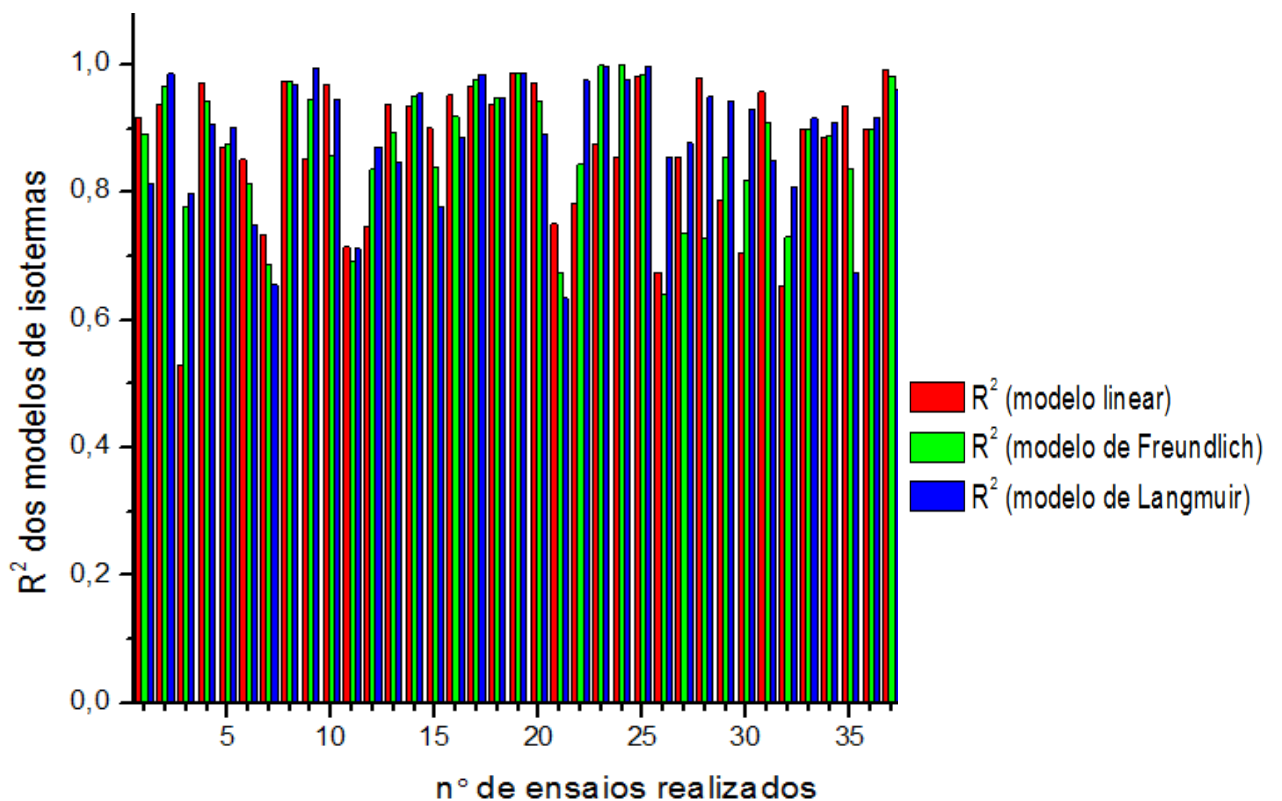
S/T: (solo in natura); MU (solo calcinado); ES (solo esterilizado);

K_d: cm³ g⁻¹; K_F: (μg g⁻¹)/(cm³ g⁻¹)^{1/n}; K_L: cm³ g⁻¹; b_L: μg g⁻¹.

Fonte: elaborada pelo autor.

Utilizando os resultados apresentados na Tabela 24, elaborou-se o gráfico apresentado na Figura 39. De acordo com este gráfico, os três modelos de isotermas para os antimicrobianos analisados individualmente nos dois tipos de solos e tratamentos foram muito similares entre si, cujos coeficientes de correlação situaram-se entre 0,551 e 0,999, com 73% deles acima de 0,800.

Figura 39 – Coeficientes de correlação dos modelos de isotermas avaliados obtidos no estudo dos antimicrobianos individuais sobre os solos X e Z e em diferentes tipos de tratamentos.



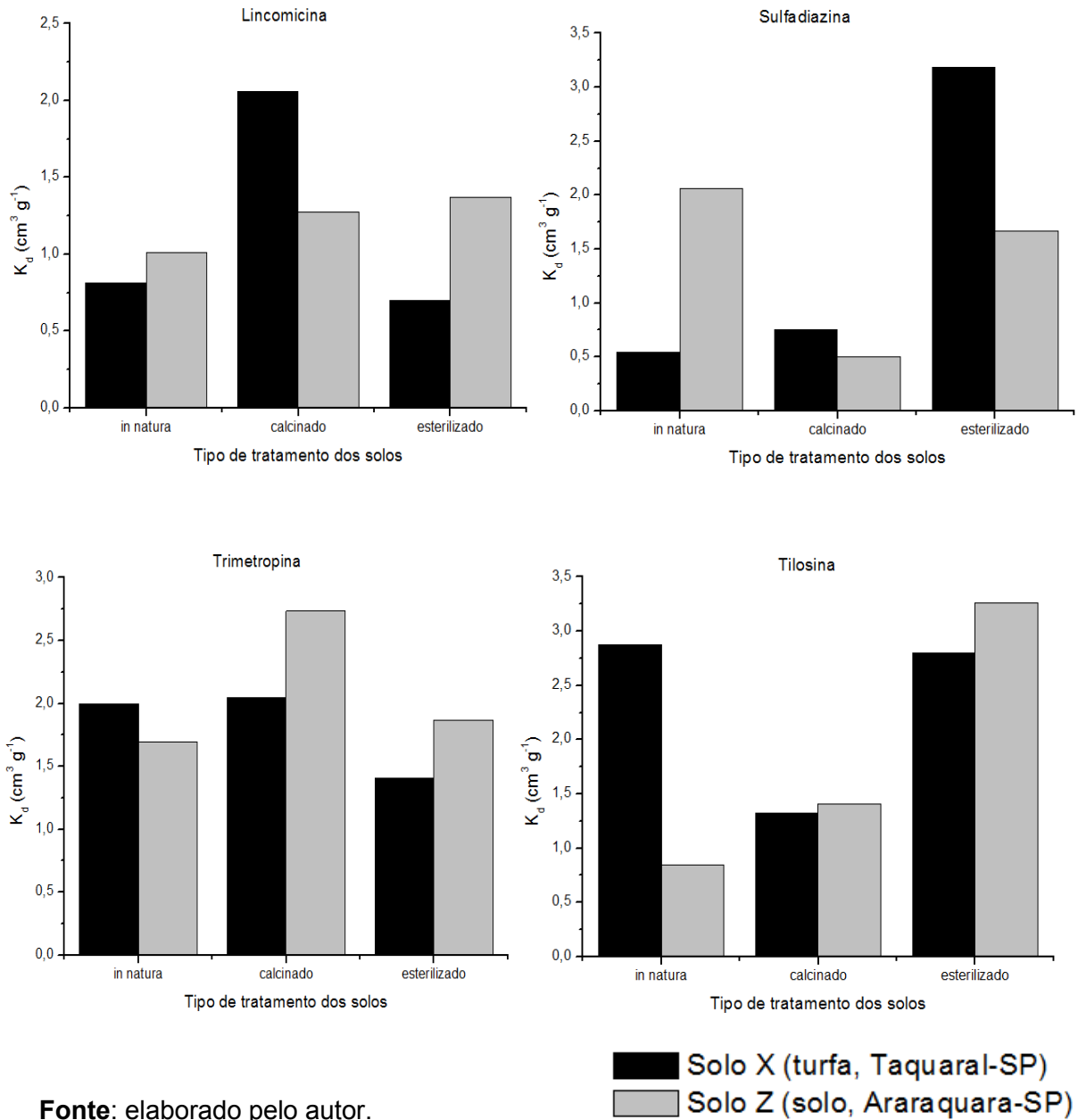
Fonte: elaborado pelo autor.

As isotermas de Langmuir não foram satisfatórias uma vez que os coeficientes de adsorção (K_L) obtidos foram negativos para inúmeros dos ensaios realizados, os quais não são plausíveis em um processo de adsorção. Este fato sugere que o comportamento do processo de adsorção não segue as proposições nas quais o modelo de Langmuir é baseado (FUNGARO e BRUNO, 2009). Outros trabalhos da literatura também relataram valores negativos destas constantes, inferindo a inadequação deste modelo na representação do processo de adsorção

(FUNGARO e BRUNO, 2009; FUNGARO et al., 2009; KIM et al., 2012). Portanto, entre os modelos avaliados, o linear e de Freundlich foram os mais adequados neste trabalho para avaliação do processo de adsorção dos antimicrobianos individuais nos solos X e Z, nos três tipos de tratamentos.

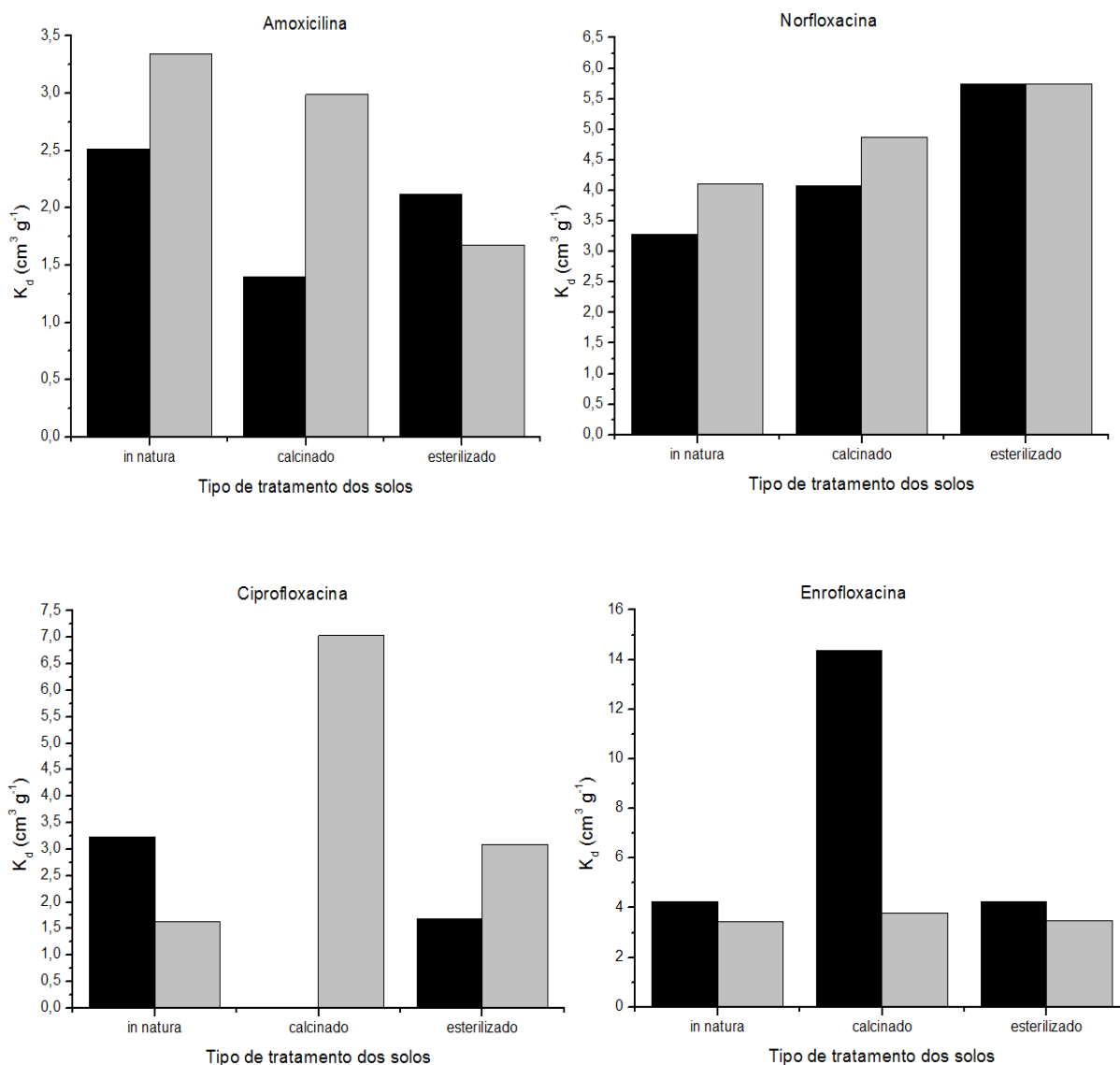
Para o tratamento dos dados optou-se por utilizar o modelo linear, por ser o modelo que melhor se ajustou ao processo de adsorção dos antimicrobianos individuais analisados no solo Z S/T, cujos resultados foram discutidos no item precedente desta tese. Nesse sentido os gráficos apresentados a seguir nas Figuras 40 e 41, mostram os valores de K_d para cada antimicrobiano sobre os três diferentes tratamentos (in natura, esterilização e calcinação) nos dois tipos de solos (turfa de Taquaral-SP, solo de Araraquara-SP).

Figura 40 – Comparação dos coeficientes de adsorção lineares (K_d) dos antimicrobianos individuais analisados por CLAE-UV, nos dois tipos de solos em diferentes tratamentos.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 41 – Comparação dos coeficientes de adsorção lineares (K_d) dos antimicrobianos individuais analisados por CLAE-FLU, nos dois tipos de solos em diferentes tratamentos.



Fonte: elaborado pelo autor.

Solo X (turfa, Taquaral-SP)
 Solo Z (solo, Araraquara-SP)

Observa-se por estes gráficos que a calcinação dos solos X (turfa, Taquaral-SP) e Z (solo, Araraquara-SP) foi responsável pelo aumento dos valores do K_d para a maioria dos antimicrobianos, sendo eles lincomicina, sulfadiazina, trimetropina, norfloxacin, ciprofloxacin. Portanto, na ausência de matéria orgânica, estes compostos apresentaram maior afinidade pelo solo, o que sugere fortes interações

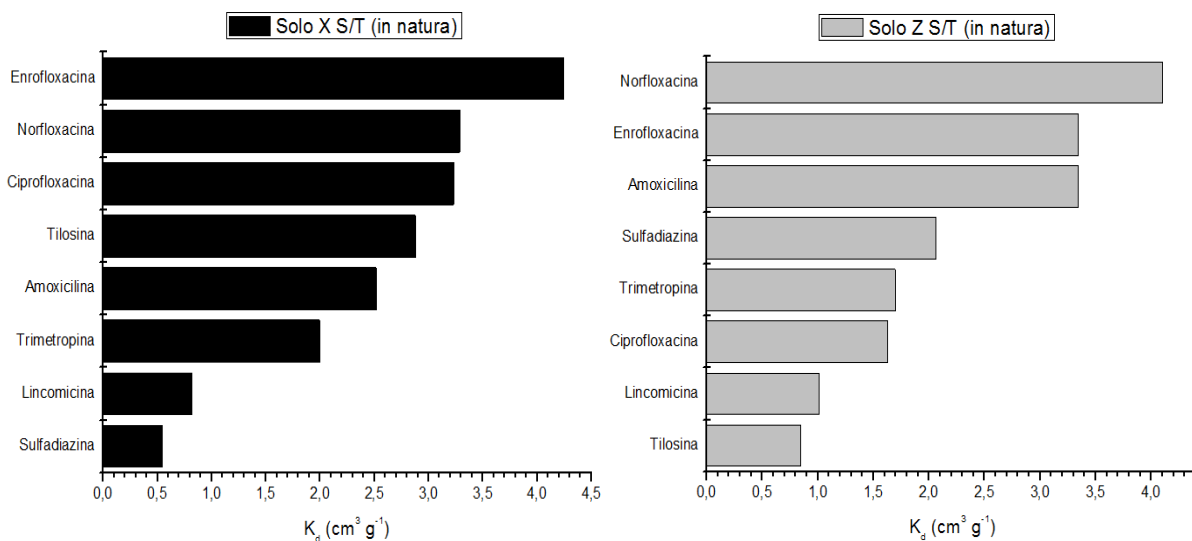
com a sua fração mineral remanescente após a calcinação devido a ativação de sua superfície.

Houve aumento dos valores do K_d dos antimicrobianos lincomicina, trimetropina, tilosina, norfloxacin e ciprofloxacina no solo Z esterilizado. Esse fato sugere que na ausência de microorganismos, os antimicrobianos estão menos susceptíveis a degradação biótica, permitindo que uma maior quantidade destes compostos possam se adsorver no solo Z esterilizado. Enquanto para a turfa esterilizada (Taquaral-SP) o incremento do K_d ocorreu somente para sulfadiazina e norfloxacin, sugerindo que a esterilização não afeta consideravelmente a adsorção dos antimicrobianos. Uma das explicações para este efeito é que na turfa as bactérias e fungos, em geral, também sofrem decomposição no seu processo de formação, restando apenas os microorganismos aeróbios facultativos, diferentemente de solos (BELLI FILHO et al., 2014; ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS CONSULTORIA, 2014).

Ressalta-se que, embora a esterilização dos solos tenha sido realizada adequadamente baseando-se em Soares et al. (2010), não foi possível afirmar que o sistema solo-solução estava estéril durante a execução de todo o ensaio, uma vez que as soluções padrões dos antimicrobianos preparadas em cloreto de cálcio $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ não foram esterilizadas em autoclave, devido à instabilidade térmica destas classes de substâncias. Portanto, experimentos adicionais em condições estéreis mais controladas devem ser realizados a fim de avaliar cuidadosamente os efeitos causados por esse procedimento. Entretanto, os resultados apresentados nesta tese sugerem que a biota do solo tem papel importante no processo de adsorção e/ou degradação de antimicrobianos em solos.

Classificando em ordem crescente os valores dos coeficientes de adsorção (Figura 42) pode-se observar que os antimicrobianos enrofloxacin e norfloxacin, pertencentes à classe das fluoroquinolonas, apresentaram maior adsorção que os demais em ambos os tipos de solos in natura (turfa, Taquaral-SP e solo, Araraquara-SP). Estes resultados concordam com publicados na literatura, pois as fluoroquinolonas são mais adsorvidas aos solos quando comparadas às outras classes farmacológicas estudadas neste trabalho (LEAL et al., 2012; USLU et al., 2008).

Figura 42 – Classificação em ordem crescente de adsorção dos antimicrobianos em ambos os tipos de solos in natura.



Fonte: elaborado pelo autor.

Os coeficientes de adsorção do modelo linear (K_d) dos antimicrobianos individuais bem como os coeficientes de adsorção normalizados (K_{OC}) obtidos para o solo Z S/T, (Araraquara-SP) foram comparados com outros selecionados da literatura. Ressalta-se que o K_{OC} é mais apropriado que o K_d para comparações, uma vez que a matéria orgânica é altamente variável entre os solos, cujos valores foram calculados de acordo com equação 5.

A Tabela 25 sumariza os coeficientes de adsorção (K_d e K_{OC}) obtidos neste trabalho para o solo Z S/T e alguns encontrados na literatura para solos com características físicas e químicas similares ao do presente trabalho. Foram comparados apenas os coeficientes de adsorção para o solo Z S/T (Araraquara-SP), por tratar-se de um solo predominante do Estado de São Paulo, segundo o mapa pedológico, quando comparado a turfa (solo X S/T) (ROSSI; OLIVEIRA, 2014).

Tabela 25 – Comparação dos coeficientes de adsorção (K_d e K_{OC}) para o solo Z S/T (Araraquara-SP) e demais da literatura.

Referência	Antimicrobiano	Solo Z S/T		K_d ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)	K_{OC} ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)
		pH / CO (%) / textura			
Este trabalho BOXALL et al. (2013)	Lincomicina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		1,0	126
		NE		NE	59
Este trabalho THIELE- BRUHN, 2003	Sulfadiazina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		2,1	258
		7,0 / 1,6 / franco siltoso		2,0	125
Este trabalho LIU et al., 2010	Trimetropina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		1,7	212
		4,9/ 1,4 / franco argiloso		9,7	719
Este trabalho LIU et al., 2010	Tilosina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		0,8	106
		4,9/ 1,4 / franco argiloso		7,8	578
Este trabalho KIM et al., 2012	Amoxicilina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		3,3	418
		5,6 / 1,1 / franco siltoso		6,5	715
Este trabalho JIE et al., 2009	Norfloxacina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		4,1	513
		4,2 / 1,1 / argiloso		270	23636
Este trabalho NOWARA et al., 1997	Ciprofloxacina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		1,6	204
		4,9/ 1,6 / fração argilosa		427	61000
Este trabalho NOWARA et al., 1997	Enrofloxacina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		3,4	429
		4,9/ 1,6 / fração argilosa		3037	186342
Este trabalho THIELE- BRUHN, 2003	Oxitetraciclina	4,8 / 0,8 / muito argiloso		6,2	777
		5,6 / 1,1 / franco arenoso		1026	93320

*NE: informações não encontradas no referido trabalho publicado.

Fonte: elaborado pelo autor.

Os coeficientes de adsorção do modelo linear (K_d) entre o presente trabalho e os citados da literatura são similares e da mesma ordem de grandeza para os antimicrobianos lincomicina, sulfadiazina, trimetropina, tilosina e amoxicilina. Enquanto para os demais compostos há diferença significativa, com valores mais elevados para os trabalhos publicados de até 10^3 vezes. Quanto aos coeficientes de adsorção normalizados em função da matéria orgânica (K_{OC}), os valores obtidos

neste trabalho foram até 10^3 vezes menores para os antimicrobianos tilosina, amoxicilina, norfloxacin, ciprofloxacina, enrofloxacin e oxitetraciclina em comparação aos da literatura. Para os três compostos restantes, lincomicina, sulfadiazina e trimetropina, os coeficientes de adsorção normalizados foram maiores até 10^2 vezes. Estes resultados sugerem que mesmo para solos com características similares, os coeficientes de adsorção podem variar bastante, o que justifica a necessidade de sua determinação no solo em estudo e em demais tipos de solos brasileiros.

Cabe ressaltar que os valores de K_d e K_{OC} obtidos neste trabalho e os demais publicados se diferenciam em alguns casos mesmo para solos semelhantes devido aos fatores sugeridos: diferentes concentrações em solução dos antimicrobianos e as distintas variáveis envolvidas nos experimentos de laboratório, entre elas razão do sistema solo/solução, tempo de contato deste sistema e efeito matriz associado as respostas analíticas dos compostos. Além disso, mesmo para solos semelhantes quanto ao pH, textura e teor de matéria orgânica, há uma variedade de fatores que podem influenciar na adsorção alterando os coeficientes, como a capacidade de troca catiônica, concentração de metais, umidade e diferentes composições minerais dos solos.

5.10.3. Avaliação da mobilidade e estimativa da contaminação de águas superficiais e subterrâneas.

Os coeficientes de adsorção são geralmente utilizados para descrever o comportamento de adsorção, mas também podem indicar a mobilidade característica de substâncias no solo. Por exemplo, para compostos com K_d menor ou igual a $1 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ são considerados qualitativamente móveis (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2011a). Sendo assim, apenas lincomicina e trimetropina seriam consideradas capazes de se moverem no solo de Araraquara, enquanto os demais antimicrobianos permaneceriam adsorvidos. Entretanto, esta abordagem é limitada não indicando quais dos antimicrobianos podem ser mais ou menos móveis.

Nesse sentido dois métodos foram utilizados para a classificação dos antimicrobianos quanto à mobilidade e capacidade de contaminação de águas

superficiais. Os critérios utilizados para este fim estão apresentados na Tabela 11, que avalia a mobilidade no solo, e na Tabela 12 a qual estima o grau de contaminação de águas superficiais. Os resultados destas duas abordagens estão apresentados nas Tabelas 26 e 27.

Tabela 26 – Comparação da mobilidade dos antimicrobianos veterinários de acordo com o Diretório de Segurança de Pesticidas do Reino Unido (DSPRU) (BOXALL et al., 2013): aplicação da abordagem aos do K_{OCs} obtidos neste trabalho para o solo Z S/T e àqueles encontrados na literatura.

Antimicrobiano	K_{OC} ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) / mobilidade (valores obtidos neste trabalho)	K_{OC} ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$) / mobilidade (valores da literatura)
Lincomicina	126 / Moderadamente móvel	59 / móvel
Sulfadiazina	258 / Moderadamente móvel	125 / Moderadamente móvel
Trimetropina	212 / Moderadamente móvel	719 / Ligeiramente móvel
Tilosina	106 / Moderadamente móvel	578 / Ligeiramente móvel
Amoxicilina	418 / Moderadamente móvel	715 / Ligeiramente móvel
Norfloxacina	513 / Ligeiramente móvel	26636 / baixa mobilidade
Ciprofloxacina	204 / Moderadamente móvel	61000 / baixa mobilidade
Enrofloxacina	429 / Moderadamente móvel	186342 / baixa mobilidade
Oxitetraciclina	777 / Ligeiramente móvel	93320 / baixa mobilidade

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 27 – Comparação da estimativa de contaminação de águas superficiais utilizando o método de Goss: aplicação da abordagem aos do K_{OCs} obtidos neste trabalho para o solo Z S/T e àqueles encontrados na literatura.

Antimicrobiano	Classificação segundo o K_{OC} deste trabalho	Classificação segundo o K_{OC} da literatura
Lincomicina	BPTAS	BPTAS
Sulfadiazina	APTDA	APTDA
Trimetropina	APTDA	APTDA
Tilosina	BPTAS	MPTAS
Amoxicilina	BPTAS	BPTAS
Norfloxacina	APTDA	APTDA
Ciprofloxacina	APTDA	APTDA
Enrofloxacina	APTDA	APTDA
Oxitetraciclina	BPTAS	MPTAS

APTAS (Alto potencial transporte associado ao sedimento); BPTAS (Baixo potencial de transporte associado ao sedimento); APTDA (Alto potencial de transporte dissolvido na água); BPTDA (Baixo potencial de transporte dissolvido na água); MPTAS (Médio potencial transporte associado ao sedimento).

Fonte: elaborada pelo autor.

De acordo com a Tabela 26, observa-se que para o solo Z S/T, a maioria dos antimicrobianos foi considerada moderadamente móvel, exceto norfloxacina e oxitetraciclina que foram classificados como ligeiramente móveis. Quando o mesmo critério é aplicado aos valores de K_{OC} obtidos da literatura, os resultados indicaram que para estes coeficientes de adsorção os antimicrobianos apresentam menor mobilidade, tendendo a se adsorverem. Portanto, infere-se que para o solo brasileiro os compostos avaliados apresentam maior mobilidade do que os mesmos compostos em solos de outros países.

A abordagem apresentada pelo DSPRU (BOXALL et al., 2013) não indica se uma substância pode contaminar as águas superficiais, indicando apenas o grau de mobilidade. Para obtenção desta informação aplicou-se o método de Goss aos antimicrobianos, utilizando o K_{OC} calculado neste trabalho e aqueles fornecidos pela literatura para efeito de comparação. Para o solo Z S/T (Araraquara-SP), observa-se que os antimicrobianos sulfadiazina, trimetropina, norfloxacina, ciprofloxacina e enrofloxacina apresentam alto potencial de contaminação de águas superficiais dissolvido em água (APTDA). Lincomicina, tilosina, amoxicilina e oxitetraciclina

possuem baixo potencial de contaminação associado ao sedimento em suspensão (BPTAS).

Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os obtidos utilizando o K_{OC} da literatura, apenas dois antimicrobianos diferem dos fornecidos pelo presente estudo: tilosina (MPTAS) e oxitetraciclina (MPTAS). Isto sugere que mesmo para valores muito diferentes dos coeficientes de adsorção normalizados para o mesmo antimicrobiano, o risco de contaminação é similar entre os resultados obtidos nesta tese e os diferentes trabalhos da literatura.

Entretanto, o tempo de meia vida para cada composto utilizado para aplicação do modelo foi obtido da literatura, o qual foi determinado em solos com características de textura e de fertilidade distintas ao solo do presente trabalho. Portanto, uma situação mais realista seria estimar o tempo de meia vida dos antimicrobianos no solo em estudo e, em seguida, aplicar o método de Goss. Para obtenção destas informações seria necessário realizar estudos de degradação dos antimicrobianos, determinando as equações da cinética de degradação em solo. Esta etapa da pesquisa será realizada em trabalhos futuros pelo grupo de pesquisa coordenado pela orientadora desta tese para complementação dos resultados.

E, por último, para avaliação do potencial de lixiviação dos antimicrobianos no solo Z S/T (Araraquara-SP) aplicou-se o índice de GUS descrito no item 4.2.12, cujos dados obtidos resultaram na elaboração da Tabela 28.

Tabela 28 – Resultados da aplicação do índice de GUS ao antimicrobianos no solo Z S/T (Araraquara – SP).

Antimicrobiano	K_{oc} ($cm^3 g^{-1}$) obtido no Solo Z S/T	Tempo de meia vida* (dias)	Índice de GUS	Interpretação
Lincomicina	126	20	2,5	PPL
Sulfadiazina	258	50	2,7	PPL
Trimetropina	212	110	3,4	PPL
Tilosina	106	8	1,8	ZT
Amoxicilina	418	0,16	-1,1	PLN
Norfloxacina	513	990	3,9	PPL
Ciprofloxacina	204	1155	5,2	PPL
Enrofloxacina	429	359	3,5	PPL
Oxitetraciclina	777	18	1,4	PLN

PPL: provável potencial de lixiviação; PLN: potencial de lixiviação nulo; ZT: zona de transição; *retirado da literatura

Fonte: elaborada pelo autor.

Lincomicina, sulfadiazina, trimetropina, norfloxacina, ciprofloxacina e enrofloxacina apresentaram provável potencial de lixiviação; amoxicilina e oxitetraciclina potencial de lixiviação nulo e; tilosina na zona de transição de lixiviação. Esses resultados sugerem que os antimicrobianos estudados neste trabalho apresentam em sua maioria potencial para atingir águas subterrâneas. Enquanto quando este método foi aplicado aos coeficientes de adsorção normalizados (K_{oc}) retirados da literatura, os resultados dos índices foram em sua maioria inferiores a 1,8, sugerindo que os antimicrobianos em solos de outros países apresentam menor mobilidade e, portanto, maior adsorção às suas partículas. Assim estes resultados indicam que o emprego dos coeficientes de adsorção determinados em condições distintas das utilizadas neste trabalho, não podem ser utilizados nos cálculos pra previsão do potencial de lixiviação em condições locais.

Sabe-se que estes métodos de previsão, tanto de lixiviação quanto de escoamento superficial, são ferramentas importantes para avaliar de forma

simplificada o comportamento de substâncias no ambiente, mesmo que não reflita exatamente a realidade (COHEN et al., 1995). Eles têm sido aplicado principalmente para pesticida, não sendo encontrado na literatura estimativas para antimicrobianos (CABRERA et al., 2008; DORES et al., 2001; LOURENCETTI, 2006). Porém, destaca-se a necessidade de desenvolvimentos de estudos de campo e/ou de laboratório que comprovem a mobilidade e o potencial de lixiviação dos antimicrobianos, para inferir com exatidão a capacidade de atingirem as águas superficiais e subterrâneas.

6. CONCLUSÕES

Este trabalho contribui no âmbito analítico com métodos cromatográficos validados para determinação individual e simultânea dos antimicrobianos veterinários ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina, amoxicilina, lincomicina, tilosina, trimetropina, sulfadiazina e oxitetraciclina no sistema solo/solução utilizada nos estudos de adsorção. Os métodos se mostraram seletivos, precisos, com ampla faixa de linearidade e baixos limites de quantificação para os compostos analisados por CLAE-FLU.

As condições cromatográficas otimizadas para análise simultânea foram realizadas em um tempo relativamente curto quando comparado aos descritos na literatura, em estudos que envolvem a quantificação de antimicrobianos, viabilizando sua aplicação nos estudos que exigem um elevado número de amostras, tais como os estudos de adsorção e de determinação em solo e água. Além disso, foi avaliado neste trabalho o efeito causado pela solução de cloreto de cálcio sobre a resposta cromatográfica nos estudos de adsorção, mostrando sua influência no valor de concentração dos antimicrobianos. Ressalta-se que este procedimento importante não foi encontrado em outros trabalhos da literatura em estudos similares.

Os modelos de isothermas aplicados neste trabalho não foram adequados ao processo de adsorção dos antimicrobianos em mistura, tanto em solo quanto em cama de frango com solo. Entretanto, estes estudos indicaram que tais fatores provocam uma diminuição da adsorção para a maioria dos antimicrobianos estudados em todos os níveis de concentração avaliados, não sendo encontrado na literatura trabalhos que tenham avaliado o efeito de mistura de antimicrobianos no processo de adsorção em solos.

Para os antimicrobianos analisados individualmente, os modelos lineares e de Freundlich foram os que mais se aproximaram ao processo de adsorção nos dois tipos de solos estudados sobre os diferentes tratamentos (in natura, calcinação e esterilização). Os resultados indicaram que tanto na ausência de matéria orgânica quanto de microorganismos, os antimicrobianos apresentaram maior afinidade pelo solo. Sugeriu-se que pode ter havido fortes interações com a fração mineral ativada após a calcinação do solo e, para o tratamento estéril, uma diminuição da degradação biótica dos antimicrobianos.

Os resultados dos estudos de adsorção dos antimicrobianos individuais realizados sobre os diferentes tratamentos indicaram também que tanto no solo de Araraquara, mais argiloso e com baixo teor de matéria orgânica, quanto na turfa de Taquaral, mais arenoso e com elevado teor de matéria orgânica, os coeficientes de adsorção foram semelhantes, situando-se entre 0,5 e 4 cm³ g⁻¹. Portanto, foi sugerido que para o solo de Araraquara os antimicrobianos adsorvem-se predominantemente na fração mineral enquanto para a turfa na fração orgânica.

Os coeficientes de adsorção normalizados em função da matéria orgânica aplicados em modelos que prevêem o potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas, indicaram que os antimicrobianos estudados apresentam maior mobilidade no solo de Araraquara quando comparado com os mesmos compostos em solos de outros países. Entre os compostos estudados neste trabalho os que apresentaram maior potencial de atingir águas superficiais e subterrâneas foram sulfadiazina, trimetropina, norfloxacin, enrofloxacin e ciprofloxacina.

De forma geral, este trabalho contribui para uma primeira investigação sobre o comportamento de antimicrobianos veterinários mais utilizados no Brasil na criação de frangos de corte e pode servir de base em estudos posteriores. Dessa forma pode contribuir para o diagnóstico da contaminação de recursos hídricos por antimicrobianos que o uso da cama de frango pode ocasionar

7. PERSPECTIVAS PARA CONTINUIDADE DO ESTUDO

Como propostas para continuidade deste estudo elencam-se:

- Avaliar o comportamento de adsorção dos antimicrobianos em diversos tipos de solos brasileiros e em solos associados à cama de frango com diferentes tempos de utilização;
- Realizar estudos de degradação, lixiviação e de dessorção para avaliação do tempo de meia vida dos antimicrobianos em diferentes tipos de solos, da mobilidade e reversibilidade nos sistema solo/solução respectivamente;
- Repetição dos experimentos de adsorção em solos estéreis, porém com acompanhamento da atividade microbiana durante o período de incubação;
- Empregar outros modelos de isothermas de adsorção, com a finalidade de tentar explicar o processo de adsorção observado para os antimicrobianos analisados em mistura em solo e em solo com cama de frango;
- Trabalhar com níveis de concentração mais baixos para os antimicrobianos determinados neste trabalho por CLAE-UV, utilizando detector de espectrometria de massas;
- Identificar e quantificar os principais antimicrobianos encontrados em cama de frango em diferentes tempos de utilização.

Com os resultados obtidos por estes estudos propor modelos, utilizando ferramentas quimiométricas, que possam representar o comportamento dos antimicrobianos veterinários no ambiente, uma vez que não foi encontrado na literatura trabalhos que enfoquem estes compostos, sendo que os existentes são voltados principalmente para os pesticidas, exceto a abordagem apresentada por Boxall et al. (2013).

Todas essas informações poderão ser utilizadas, por exemplo, pelo Sistema Integrado de Gestão de Recursos Hídricos, do estado de São Paulo, para subsidiar políticas públicas que possam disciplinar e/ou restringir a utilização de cama de frango como aditivo agrícola.

REFERÊNCIAS

ABREU, I. M. O. **Produtividade e qualidade microbiológica de alface sob diferentes fontes de adubos orgânicos**. 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

ÁCIDOS HÚMICOS E FÚLVICOS CONSULTORIA. **O processo de formação da turfa e sua composição química**. Disponível em: <http://www.acidoshumicos.com.br/turfa_composicao.html>. Acesso em: 15 jan. 2014.

ALBUQUERQUE, R. Antimicrobianos como promotores de crescimento. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. p. 149-159.

BAGUER, A. J.; JENSEN, J.; KROGH, P. H. Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna. **Chemosphere**, v. 40, p. 751-757, 2000.

BAO, Y.; ZHOU, Q.; GUAN, L.; WANG, Y. Depletion of chlortetracycline during composting of aged and spiked manures. **Waste Management**, v. 29, p. 1416-1423, 2009.

BELLI FILHO, P.; WOLFF, D. B.; CABRAL, F. A. da S.; CARVALHO, C. M. de; CHIARANDA, H. S.; COSTA, R. H. R. da. **Controle e tratamento de odores de um reator anaeróbio com biofiltração**. Disponível em: <<http://www.finep.gov.br/prosab/livros/coletanea2/ART%2025.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2014.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BOXALL, A. B. A.; BLACKWELL, P.; CAVALLO, R.; KAY, P.; TOLLS, J. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. **Toxicology Letters**, v. 131, n.1/2, p. 19-28, 2002.

BOXALL, A. B. A.; FOGG, L. A.; BAIRD, D. J.; LEWIS, C.; TELFER, T. C.; KOLPIN, D.; GRAVELL, A.; PEMBERTON, E.; BOUCARD, T. **Targeted monitoring study for veterinary medicines in the environment**. Disponível em: <<http://cdn.environment-agency.gov.uk/scho0806blhh-e-e.pdf>>. Acesso em: 21. out. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução normativa número 15, de 17 de julho de 2001, sobre a proibição do uso de cama de aviário na alimentação de ruminantes. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=587>>. Acesso em: 20. out. 2013.

CABRERA, L.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região Sul do estado do RS. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1982-1986, 2008.

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.; THUG, K. M.; MCGEEHIN, M. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. **Science of the Total Environment**, v. 299, p. 89-95, 2002.

CHRISTIAN, T.; SCHNEIDER, R. J.; FARBER, H. A.; SKUTLAREK, D.; MEYER, M. T.; GOLDBACH, H. E. Determination of antibiotics residues in manure, soil and surface waters. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 31, p. 36-44, 2003.

COHEN, S. Z.; WAUCHOPE, R. D.; KLEIN, A. W.; EADSFORTH, C. V.; GRANEY, R. Offsite transport of pesticides in water mathematical models of pesticide leaching and runoff. **International Union of Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n. 12, p. 2109-2148, 1995.

DE LIGUORO, M.; CIBIN, V.; CAPOLONGO, 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, n. 1, p. 203-212, 2003.

DING, Y.; ZHANG, W.; GU, C.; XAGORARAKI, I.; LI, H. Determination of pharmaceuticals in biosolids using accelerated solvent extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 10-16, 2011.

DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – análise preliminar. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 27-36, 2001.

DORETTO, K. M.; RATH, S. Sorption of sulfadiazine on Brazilian soils. **Chemosphere**, v. 90, p. 2027-2034, 2013.

FAN, Z.; CASEY, F. X. M.; HAKK, H.; LARSEN, G. L.; KHAN, E. Sorption, fate, and mobility of sulfonamides in soils. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 218, p. 49-61, 2011.

FERRAZ, M. V.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N. Caracterização física e química de alguns substratos comerciais. **Acta Science Agronomy**, v. 27, n. 2, p. 209-214, 2005.

FUNGARO, D. A.; BRUNO, M. Remoção de azul de metileno de solução aquosa usando zeólitas sintetizadas com amostras de cinzas de carvão diferentes. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 955-959, 2009.

FUNGARO, D. A.; IZIDORO, J. C.; BRUNO, M. Aplicação de material zeolítico sintetizado de cinzas de carvão como adsorvente de poluentes em água. **Eclética Química**, v. 34, n. 1, p. 45-50, 2009.

GARCÍA-GALÁN, M. J.; DÍAZ-CRUZ, S.; BARCELÓ, D. Multiresidue trace analysis of sulfonamide antibiotics and their metabolites in soils and sewage sludge by pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography–electrospray–quadrupole linear ion trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1275, p. 32-40, 2013.

GARTISER, S.; URICH, E.; ALEXY, R.; KUMMERER, K. Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes. **Chemosphere**, v. 66, p. 1839-1848, 2007.

GILES, C. H.; SMITH, D.; HUITSON, A. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 47, n. 3, p. 755-765, 1974.

GONZALES, E.; CAFÉ, M. B.; LEANDRO, N. S. M. Boas práticas no uso de medicamentos pela indústria avícola. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. p. 265-285.

GOSS, D. W. Screening procedure for soils and pesticides for potential water quality impacts. **Weed Technology**, v. 6, p. 701-708, 1992.

HAHN, L. **Processamento da cama de aviário e suas implicações nos agroecossistemas**. 2004. 130 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

HAMSCHER, G.; SCZENY, S.; HOPER, N. H. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 74, p. 1509-1518, 2002.

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

HO, Y. B.; ZAKARIA, M. P.; LATIF, P. A.; SAARI, N. Simultaneous determination of veterinary antibiotics and hormone in broiler manure, soil and manure compost by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1262, n. 2, p. 160-168, 2012.

- HUANG, Y.; CHENG, M.; LI, W.; WU, L.; CHEN, Y.; LUO, Y.; CHRISTIED, P.; ZHANG, H. Simultaneous extraction of four classes of antibiotics in soil, manure and sewage sludge and analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with the isotope-labelled internal standard method. **Analytical Methods**, v. 5, p. 3721-3731, 2013.
- KARCI, A.; BALCIOGLU, I. A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 4652-4664, 2009.
- KASTEEL, R.; MBOH, C. M.; UNOLD, M.; GROENEWEG, J.; VANDERBORGHT, J.; VEREECKEN, H. Transformation and sorption of the veterinary antibiotic sulfadiazine in two soils: a short-term batch study. **Environmental Science Technology**, v. 44, p. 4651-4657, 2010.
- KAY, P.; BLACKWELL, P. A.; BOXALL, A. B. A. Transport of veterinary antibiotics in overland flow following the application of slurry to arable land. **Chemosphere**, v. 50, p. 951-959, 2005.
- KIM, K-R.; OWENS, G.; KWON, S-I.; SO, K-H.; LEE, D-B.; OK, S. Y. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 214, p. 163-174, 2011.
- KIM Y-K.; LIM, S-J.; HAN, M-H.; CHO, J-Y. Sorption characteristics of oxytetracycline, amoxicillin, and sulfathiazole in two different soil types. **Geoderma**, v. 185-186, p. 97-101, 2012.
- KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance. **Environmental Science and Technology**, v. 36, p.1202-1211, 2002.
- KUMAR, K.; GUPTA, S. C.; CHANDER, Y.; SINGH, A. K. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. In: SPARKS, D. L. **Advances in agronomy**. Newark: Elsevier, 2005. v. 87, p. 1-54.
- KUMAR, K.; GUPTA, S. C.; BAIDOO, S. K.; CHANDER, Y.; ROSEN, C. J. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. **Journal of Environmental Quality**, v. 34, p. 2082-2085, 2005.
- LEAL, R. M. P.; FIGUEIRA, R. F.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Occurrence and sorption of fluoroquinolones in poultry litters and soils from São Paulo State, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 432, p. 344-349, 2012.
- LIMA, F. R. Aditivos zootécnicos: enzimas. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. p. 239-248.

LINDSEY, M. E.; MEYER, M.; THURMAN-SORENSEN, E. M. Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 73, p. 4640-4646, 2001.

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

LOCATELLI, M. A. F.; SODRE, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of antibiotics in brazilian surface waters using liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, p. 385-393, 2011.

LOKE, M. L.; TJORNELUND, J.; HALLING-SØRENSEN, B. Determination of the distribution coefficient ($\log K_d$) of oxytetracycline, tylosin A, olaquinox and metronidazole in manure. **Chemosphere**, v. 48, p. 351-361, 2002.

LOKE, M. L.; INGERSLEV, F.; HALLING-SØRENSEN, B.; TJØRNELUND, J. Stability of tylosin A in manure containing test systems determined by high performance liquid chromatography. **Chemosphere**, v. 40, p. 759-765, 2000.

LOURENCETTI, C. **Herbicidas mais empregados no cultivo de cana-de-açúcar no município de Araraquara (SP): desenvolvimento e validação de método de quantificação e avaliação do potencial de lixiviação em solos argiloso e arenoso (área de recarga do Sistema Aquífero Guarani)**. 2006. 155 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

MARTINEZ-CARBALO, E.; BARREIRO-GONZALES, C.; SCHARF, S.; GANS, O. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. **Environmental Pollution**, v. 148, p. 570-579, 2007.

NICOLETTI, M. A. Aspectos farmacotécnicos relevantes na elaboração de medicamentos e rações. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. p. 37-52.

NOWARA, A.; BURHENNE, J.; SPITELLER, M. Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1459-1463, 1997.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Adsorption - desorption using a batch equilibrium method**. Disponível em: <http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/2008/october/106_adsorption_desorption_using.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2011a.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT.

Leaching in soil columns. Disponível em:

<http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/2008/october/312_soil_column_leaching.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2011b.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. Tecnologias para mitigar o impacto ambiental da produção de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 239-252, 2008.

PAGANINI, F. J. Manejo da cama. In: MENDES, A. A.; NAAS, I. A.; MACARI, M. **Produção de frangos de corte.** Campinas: Facta, 2004. p. 107-116.

PALERMO NETO, J. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: SPINOSA H. S.; BERNARDI, M. M.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 641-658.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde. **Levantamento do uso e comercialização de medicamentos veterinários em frango de corte.** Disponível em:

<<http://200.189.113.52/ftp/Visa/alimentos/Relatoriofrangodecorte.doc>>. Acesso em: 04 jun. 2013.

PAVANI, V. D. **Otimização de método para determinação de antimicrobianos em cama de frango por CLAE-FLU.** 2011. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

PEREIRA, L. A.; JARDIM, I. C. S. F.; FOSTIER, A. H.; RATH, S. Ocorrência, comportamento e impactos ambientais provocados pela presença de antimicrobianos veterinários em solos. **Química Nova**, v. 35, n.1, p. 159-169, 2012.

PILS, J. R. V.; LAIRD, D. A. Sorption of tetracycline and chlortetracycline on K-and CA-saturated soil clays, humic substances, and clay-humic complexes. **Environmental Science Technology**, v. 41, p. 1928-1933, 2007.

PRIMEL, E. G.; ZANELLA, R.; KURZ, M. H. S.; GONÇALVES, F. F.; MACHADO, S. O.; MARCHEZAN, E. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 605-609, 2005.

RABOLLE, M.; SPLIID, N. H. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. **Chemosphere**, v. 40, p. 715-722, 2000.

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

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C.; JARDIM, I. C. F. S.; MELO, L. F. C. Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-80, 2004.

RIBEIRO, M. L.; LOURENCETTI, C.; PEREIRA, S. Y.; MARCHI, M. R. R. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 688-694, 2007.

ROSSI, M.; OLIVEIRA, J. B. de. **O mapa pedológico do estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/agronomico/pdf/mapa.pdf>>. Acesso em: 16 jan. 2014.

SANTOS, I. I. **Promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte: desempenho zootécnico e análise de resíduos (antimicrobianos) na cama de aviário**. 2002. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. **Produção de frango de corte**. Disponível em: <<http://goo.gl/vOXZT2>>. Acesso em: 04 jul. 2013.

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

SASSMAN, S. A.; LEE, L. S. Sorption of three tetracyclines by several soils: assessing the role of pH and cation exchange. **Environmental Science Technology**, v. 39, n. 19, p.7452-7459, 2005.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2010.

SOARES, A. C. F.; SOUSA, C. S.; GARRIDO, M. S.; LIMA, F. S. Isolados de estreptomicetos no crescimento e nutrição de mudas de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 4, p. 447-453, 2010.

SUN, P.; BARMAZ, D.; CABRERA, M. L.; PAVLOSTATHIS, S. G.; HUANG, C-H. Detection and quantification of ionophore antibiotics in runoff, soil and poultry litter. **Journal of Chromatography A**, v. 1312, p. 10-17, 2013.

TAMTAM, F.; VAN-OORT, F.; LE-BOT, B.; DINH, T.; MOMPELAT, S.; CHEVREUIL, M.; LAMY, I.; THIRY, M. Assessing the fate of antibiotic contaminants in metal contaminated soils four years after cessation of long-term waste water irrigation. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 540-547, 2011.

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

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Hormônios não são utilizados na produção de frangos**. Disponível em:

<http://file.aviculturaindustrial.com.br/Material/Tecnico/mito_hormonios.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2013a.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Relatório anual 2012**. Disponível em:

<<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/41c30a0f46702351b561675f70fae077.pdf>>. Acesso em: 07 jun. 2013b.

USLU, M. O.; YEDILER, A.; BALCIOGLU, I. A.; SCHULTE-HOSTEDE, S. Analysis and sorption behavior of fluoroquinolones in solid matrices. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 190, p. 55-63, 2008.

VALENTE, L. P. V.; AUGUSTO, F.; RIEDO, C. R. F. **Análise quantitativa por cromatografia**. Disponível em:

<http://zeus.qui.ufmg.br/~valmir/Analise_Quantitativa_Cromatografia_Gasosa.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2013.

VAZ JÚNIOR, S. **Estudo da sorção do antibiótico oxitetraciclina a solos e ácidos húmicos e avaliação dos mecanismos de interação envolvidos**. 2010. 166 f. Tese (Doutorado em Ciências, Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

WANG, C.; TEPPEN, B. J.; BOYD, S. A.; LI, H. Sorption of lincomycin at low concentrations from water by soils. **Soil Science Society of America Journal**, v. 76, p. 1222-1228, 2011.

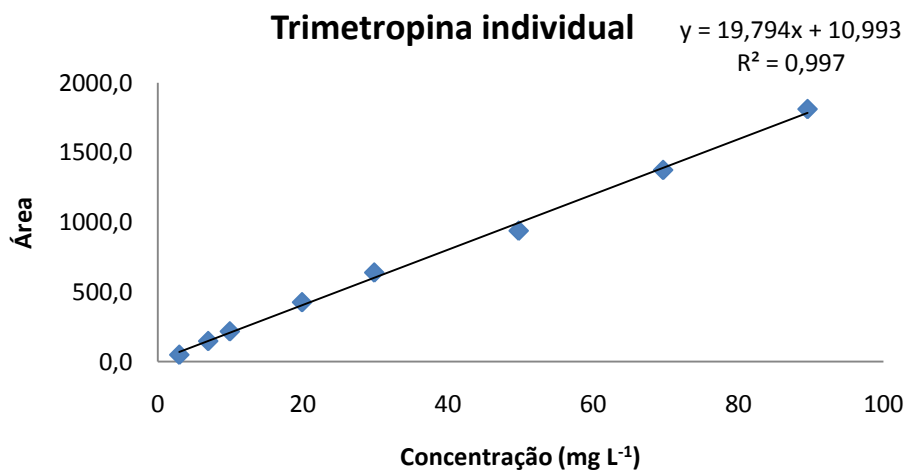
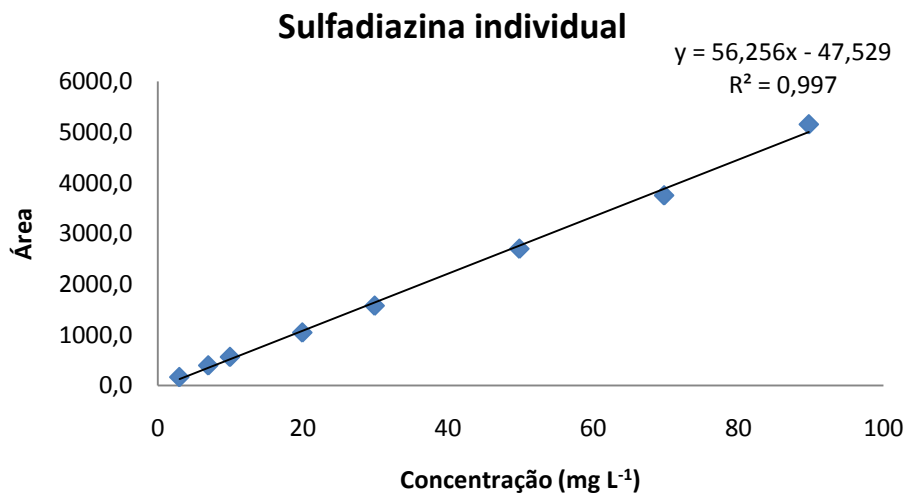
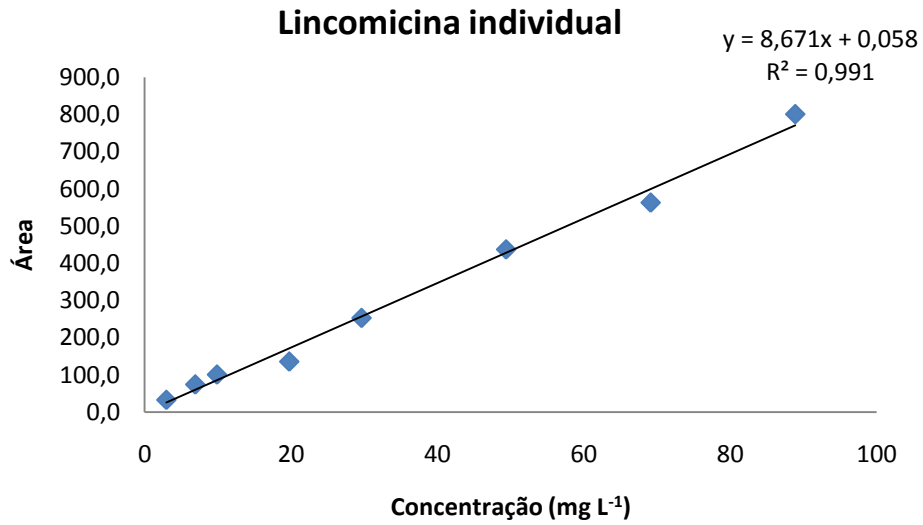
WEI, R.; GE, F.; HUANG, S.; CHEN, M.; WANG, R. Occurrence of veterinary antibiotics in animal wastewater and surface water around farms in Jiangsu Province, China. **Chemosphere**, v. 82, p. 1411-1414, 2011.

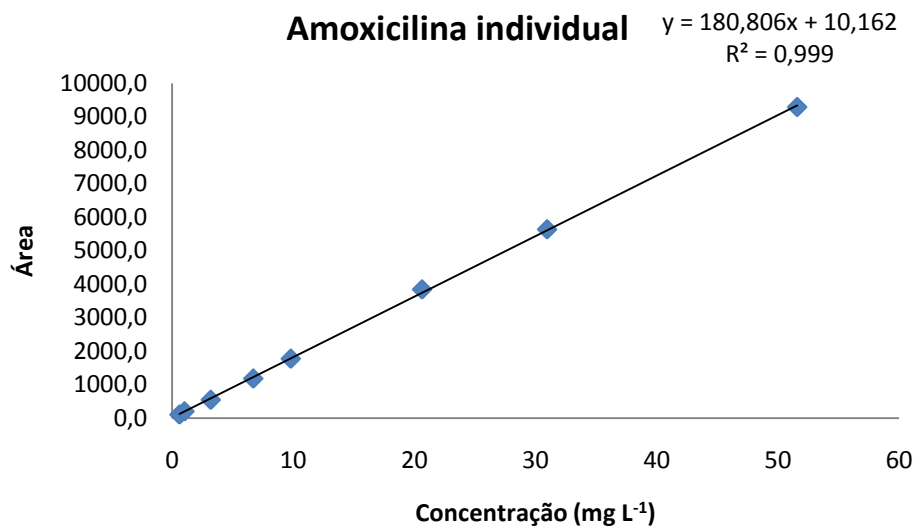
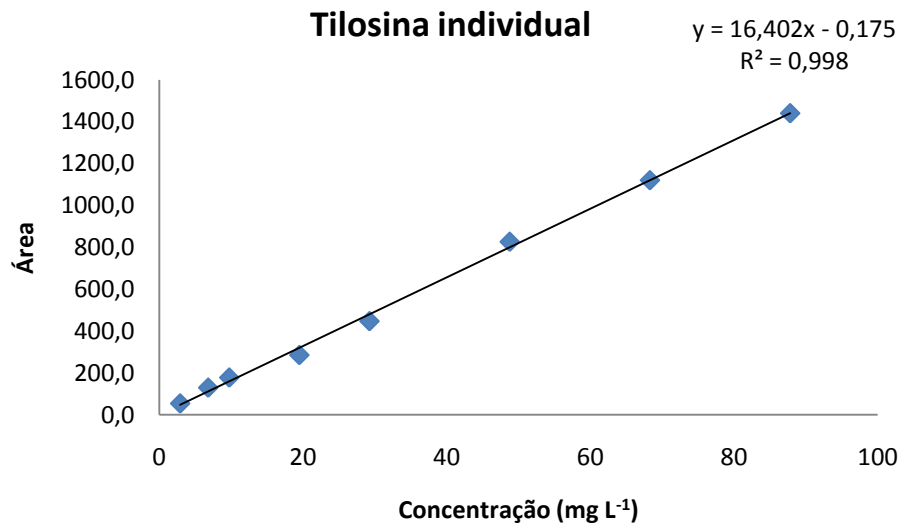
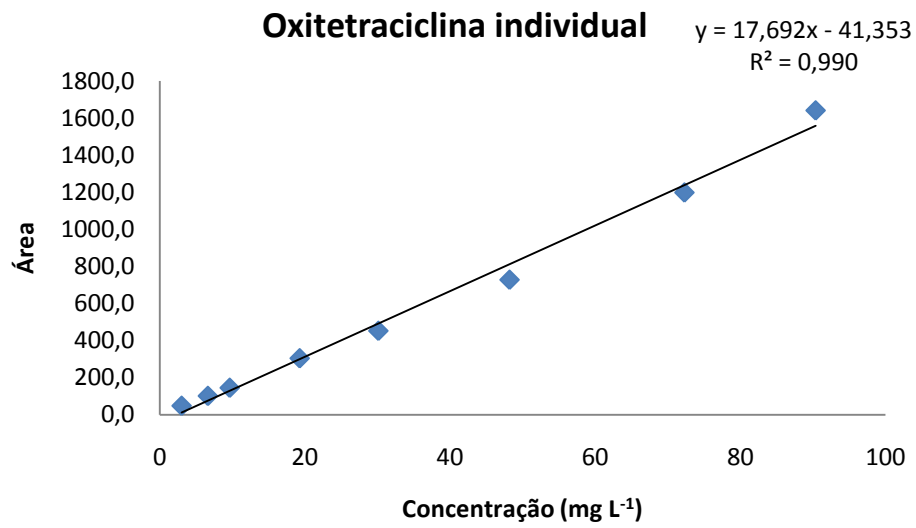
XIANG-GANG, H.; QI-XING, Z.; LIN, X. Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 36, p. 1162-1166, 2008.

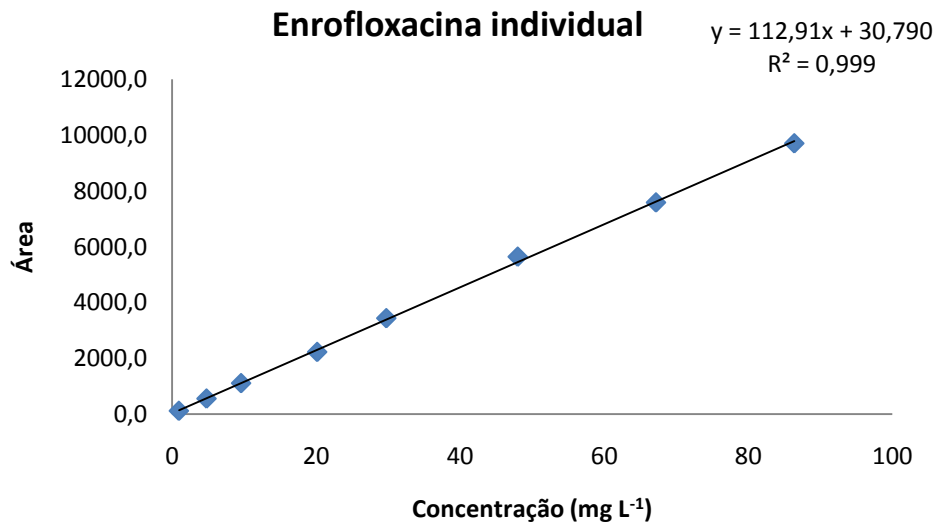
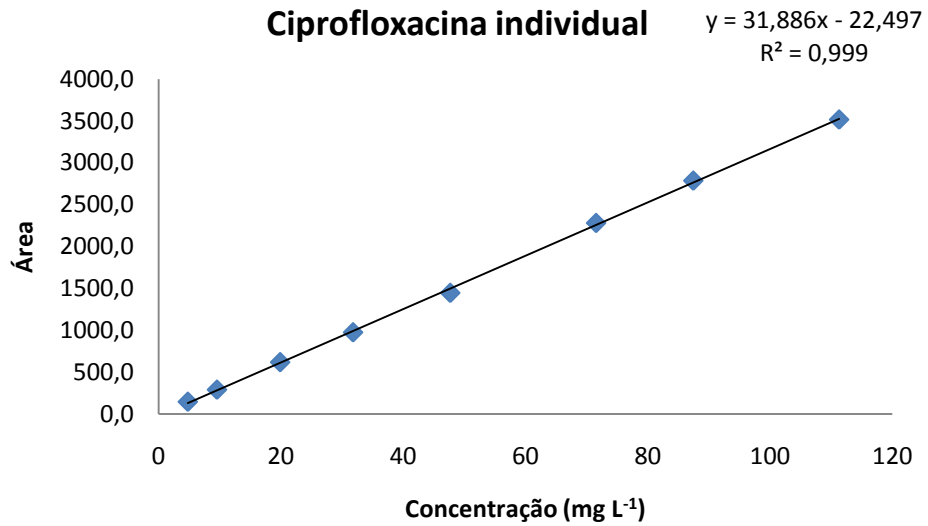
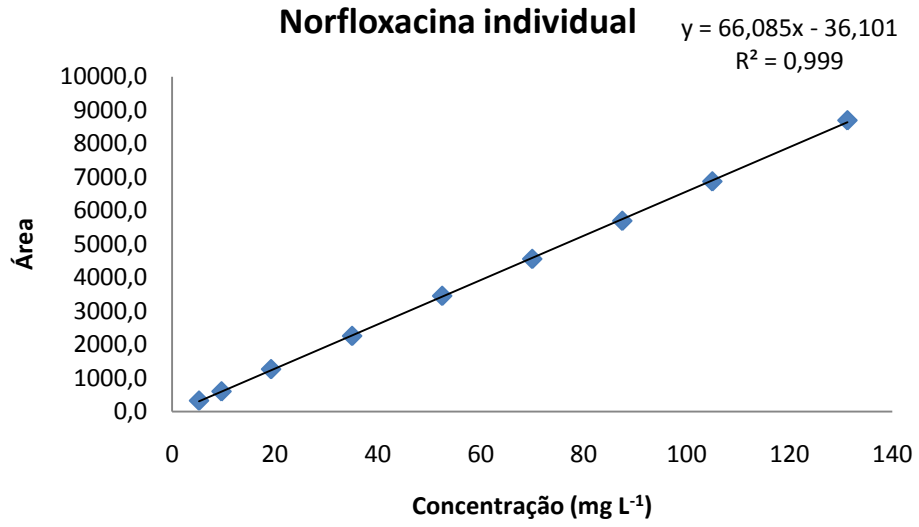
ZHANG, J.; LI, Z.; GE, G.; SUN, W.; LIANG, Y.; WU, L. Impacts of soil organic matter, pH and exogenous copper on sorption behavior of norfloxacin in three soils. **Journal of Environmental Sciences**, v. 21, p. 632-640, 2009.

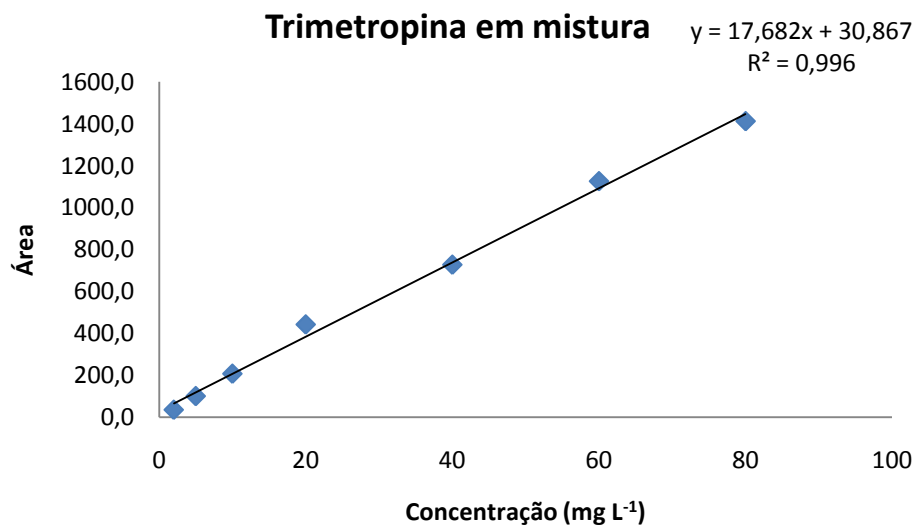
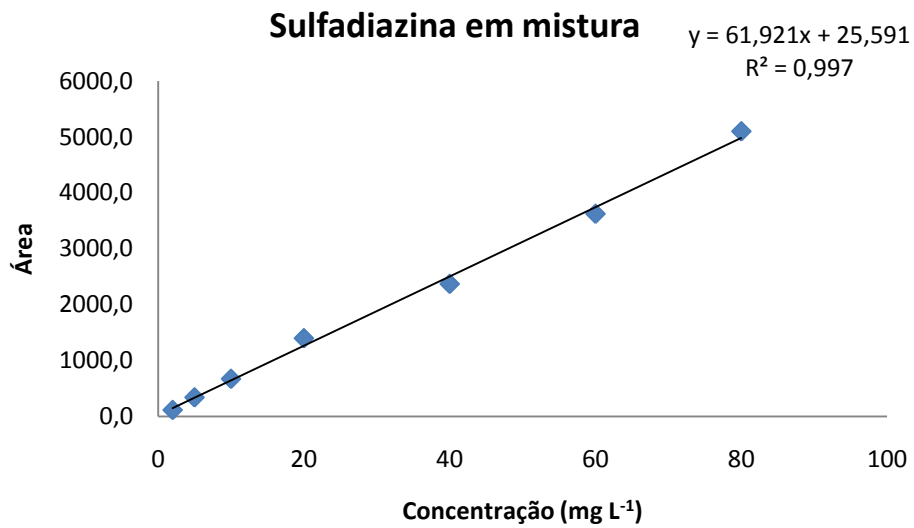
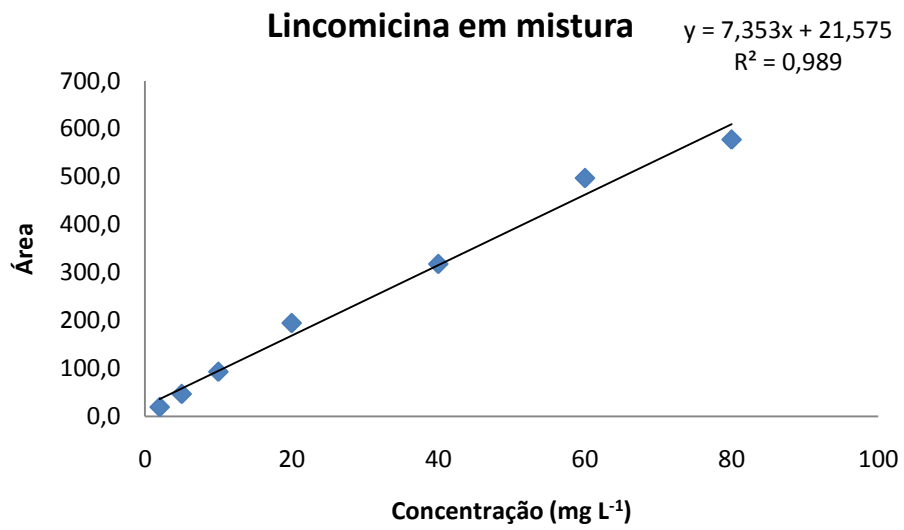
ZHAO, L.; DONG, Y. H.; WANG, H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 1069-1075, 2010.

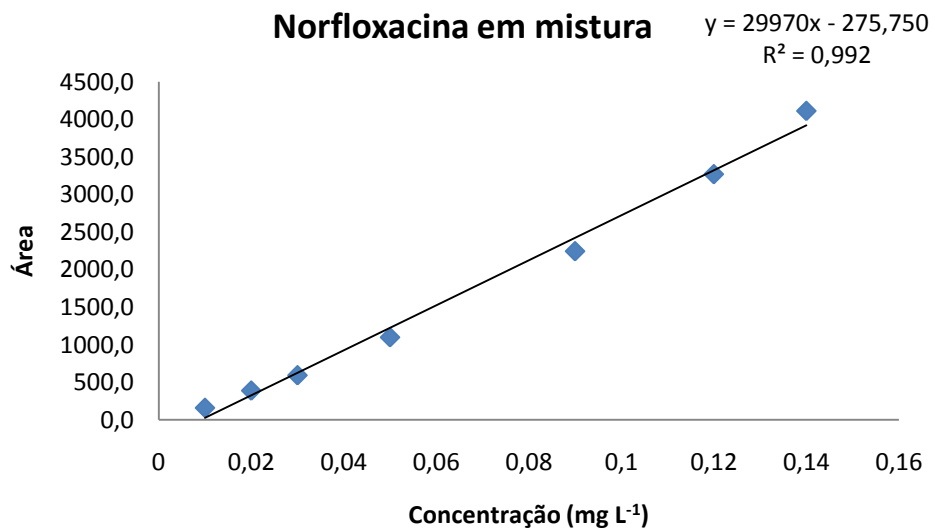
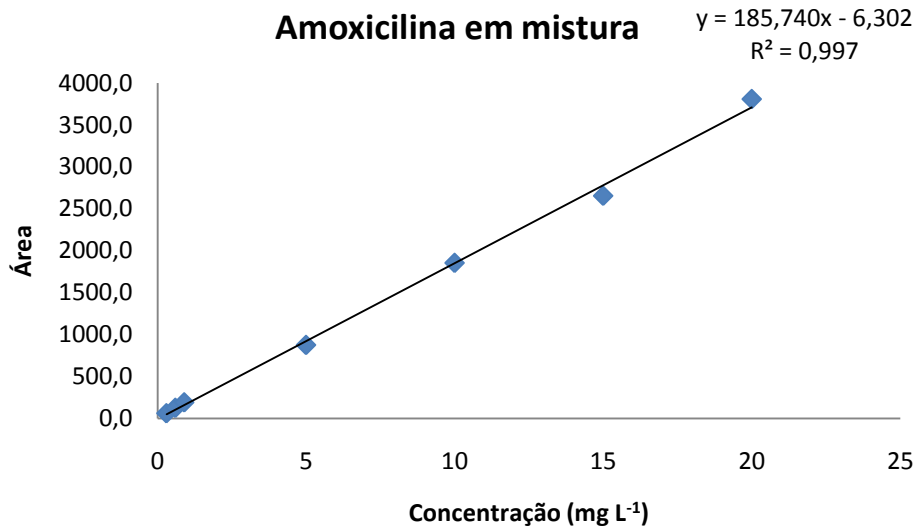
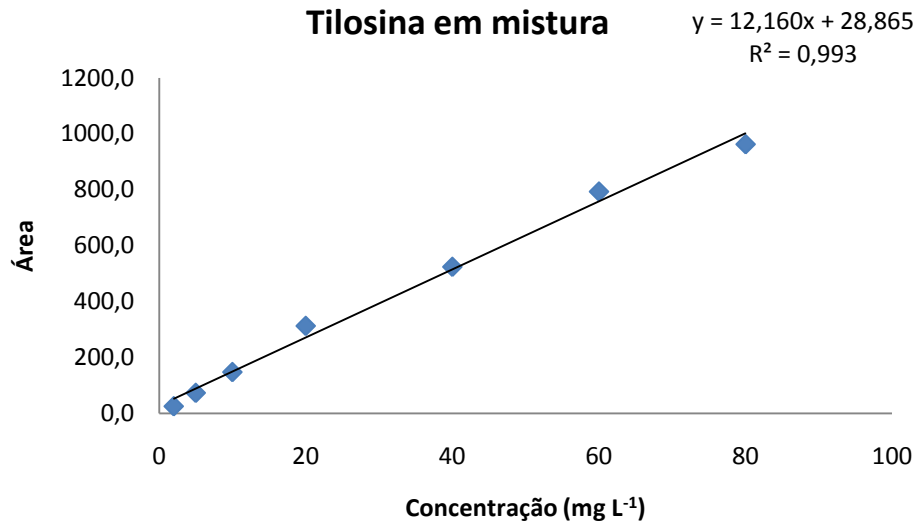
ZHENG, S.; QIU, X.; CHEN, B.; YU, X.; LIU, Z.; ZHONG, G.; LI, H.; CHEN, M.; SUN, G.; HUANG, H.; YU, W.; FREESTONE, D. Antibiotics pollution in Jiulong River estuary: source, distribution and bacterial resistance. **Chemosphere**, v. 84, p. 1677-1685, 2011.

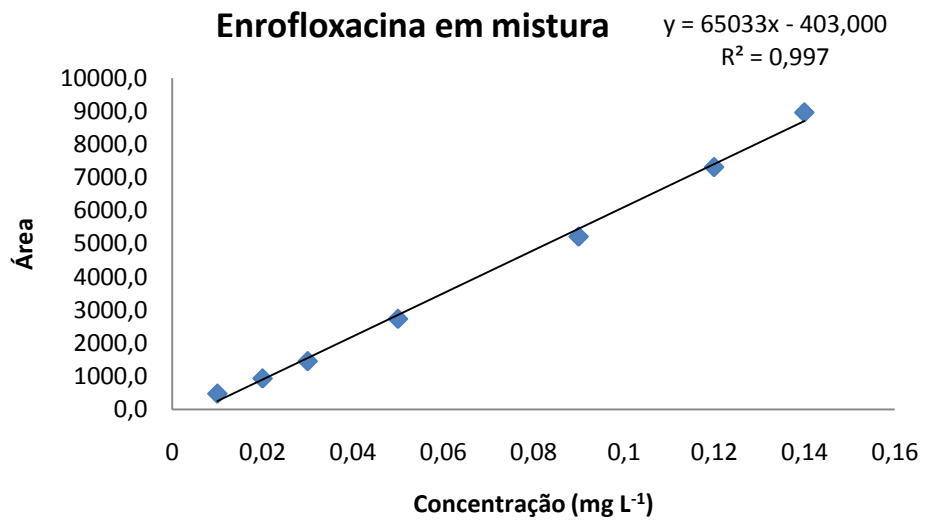
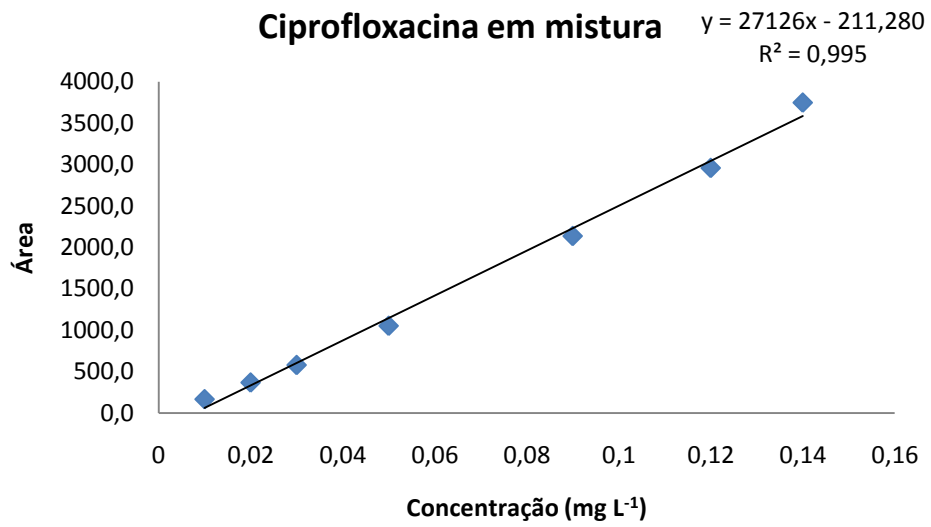
APÊNDICE A**CURVAS ANALÍTICAS DOS ANTIMICROBIANOS INDIVIDUAIS E EM MISTURA**







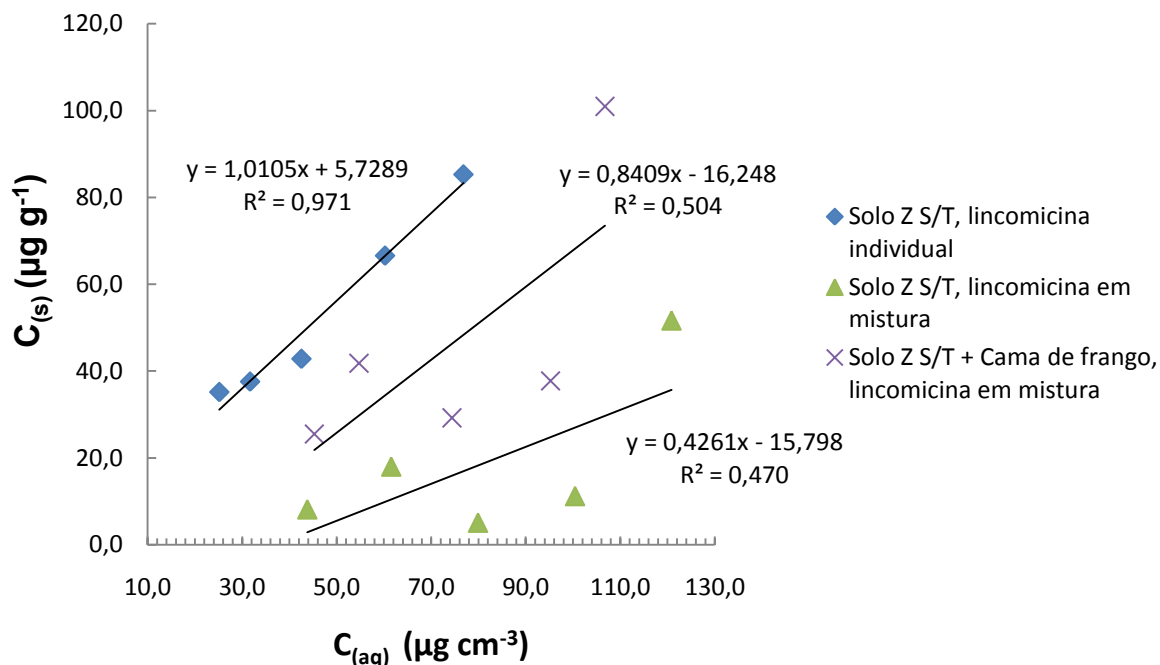




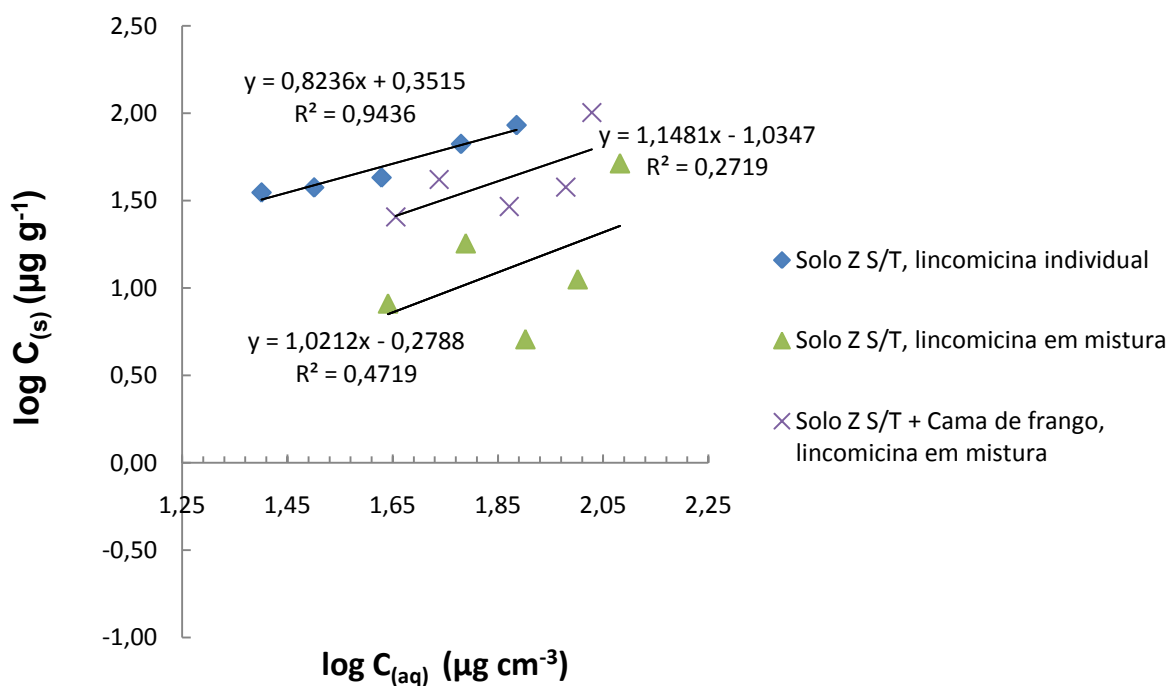
APÊNDICE B

Isotermas lineares, Freundlich e Langmuir para o solo Z S/T

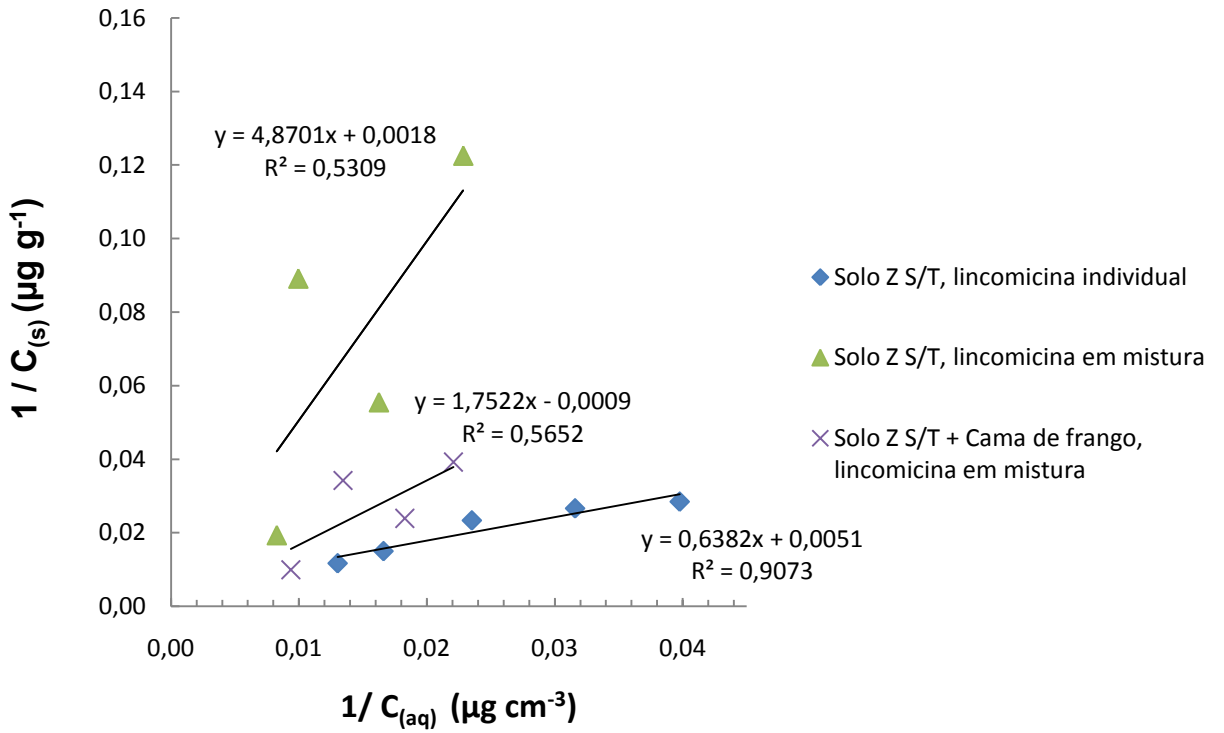
Lincomicina - Isotermas lineares



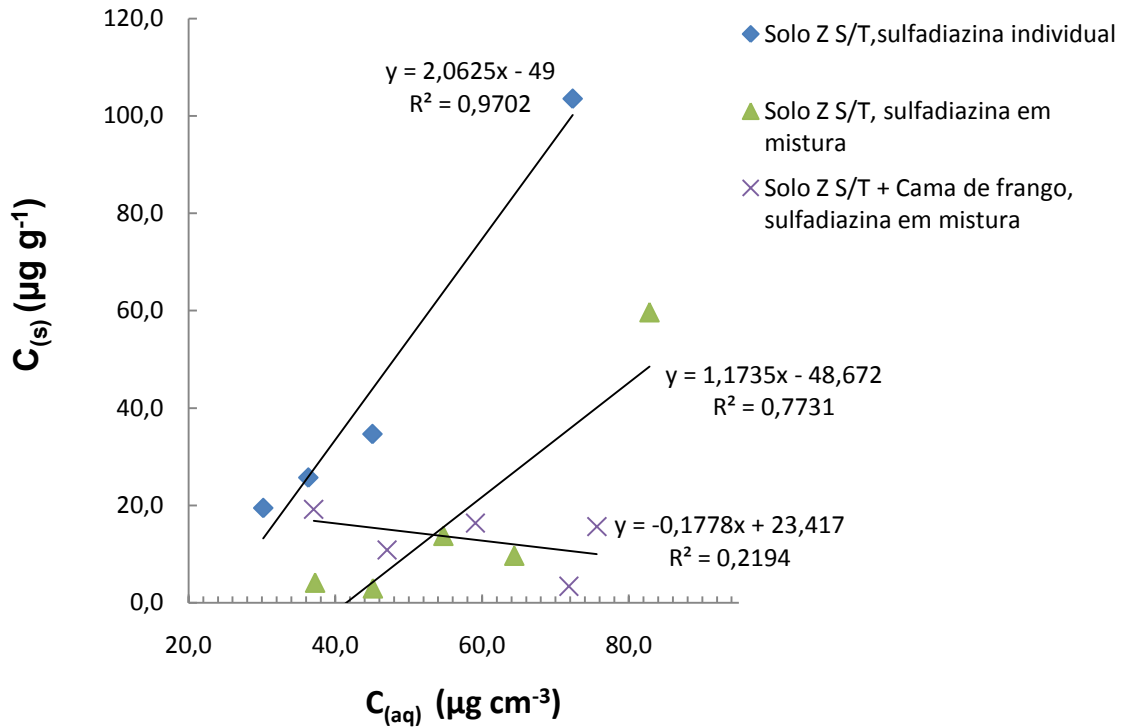
Lincomicina - Isotermas de Freundlich



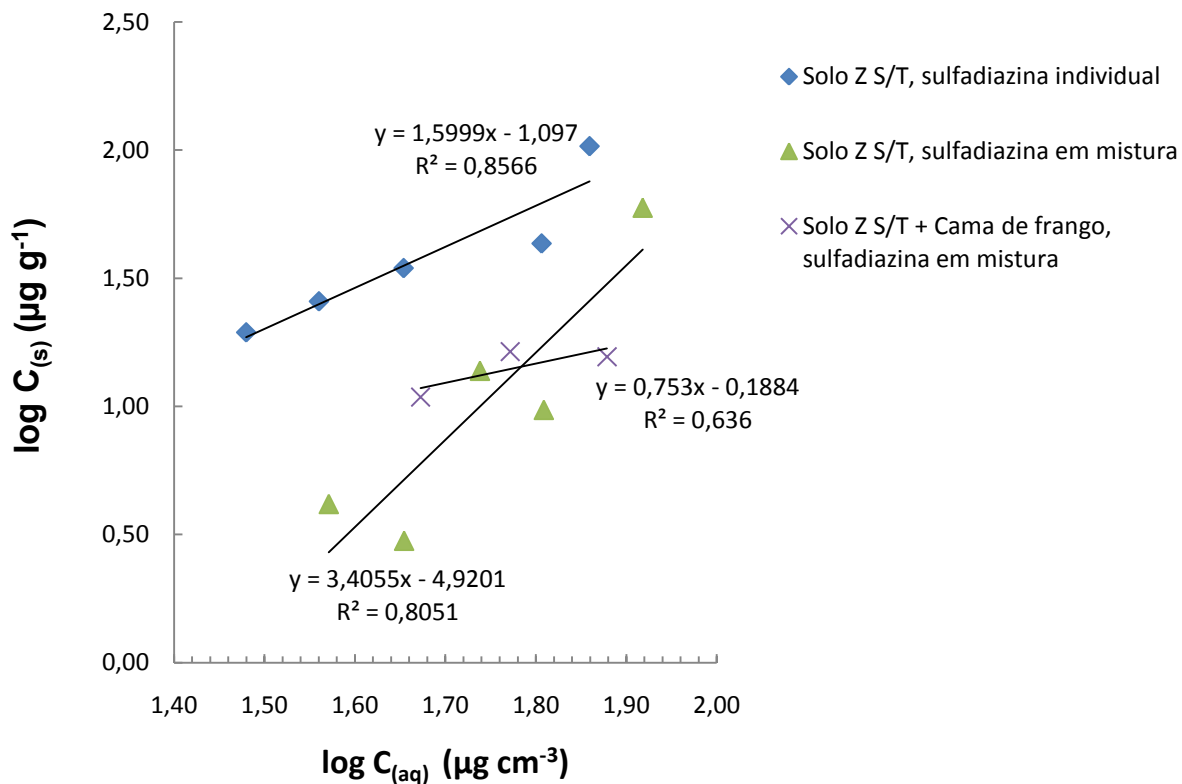
Lincomicina - Isotermas de Langmuir



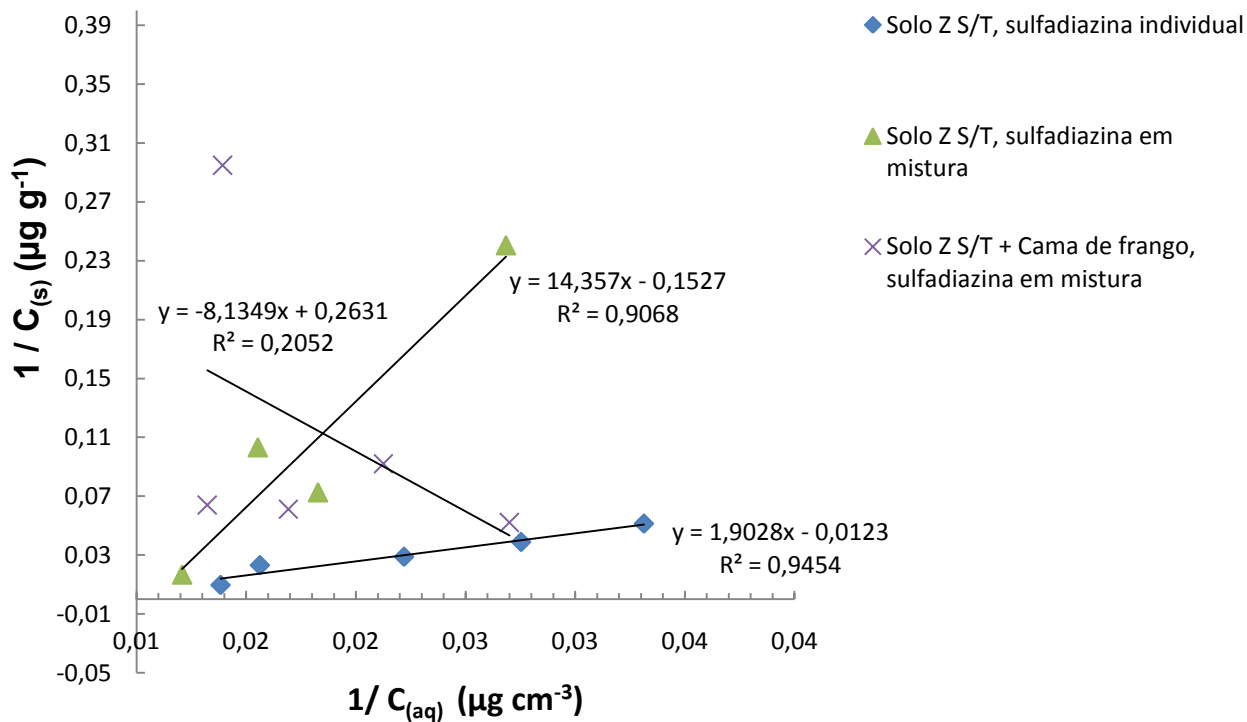
Sulfadiazina - Isotermas lineares



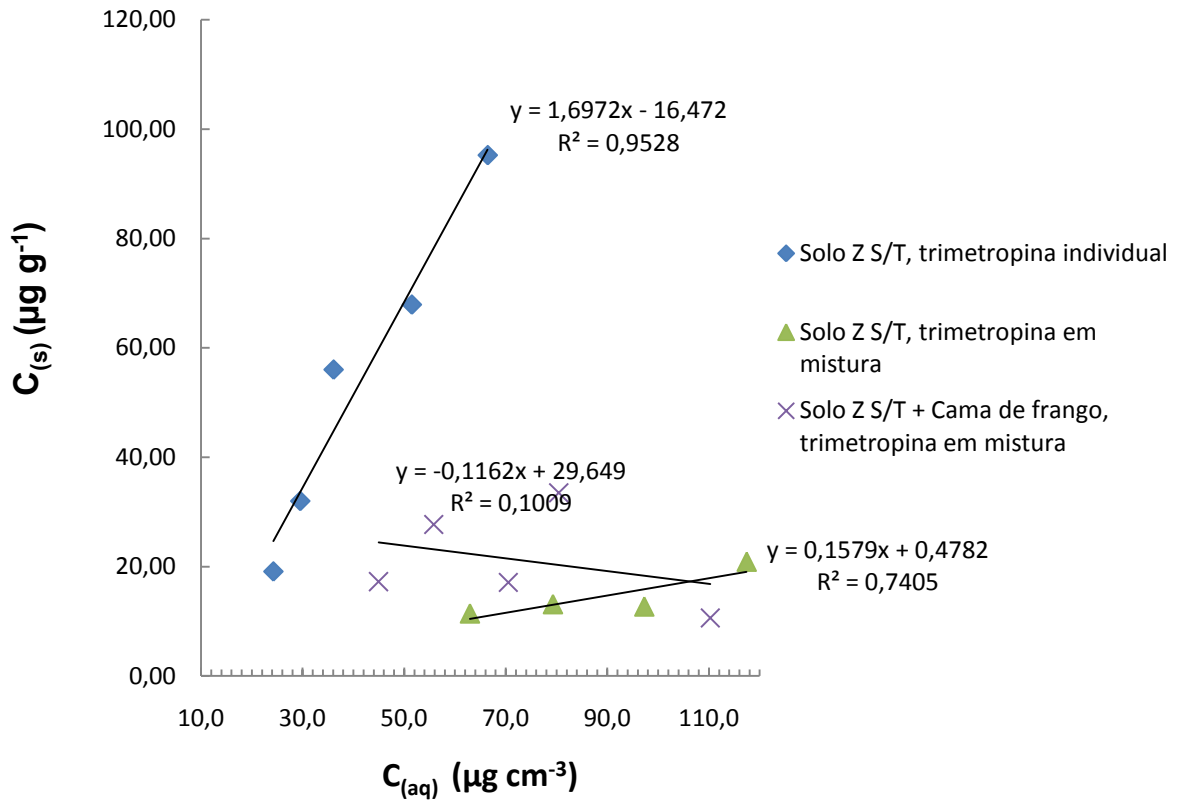
Sulfadiazina - Isotermas de Freundlich



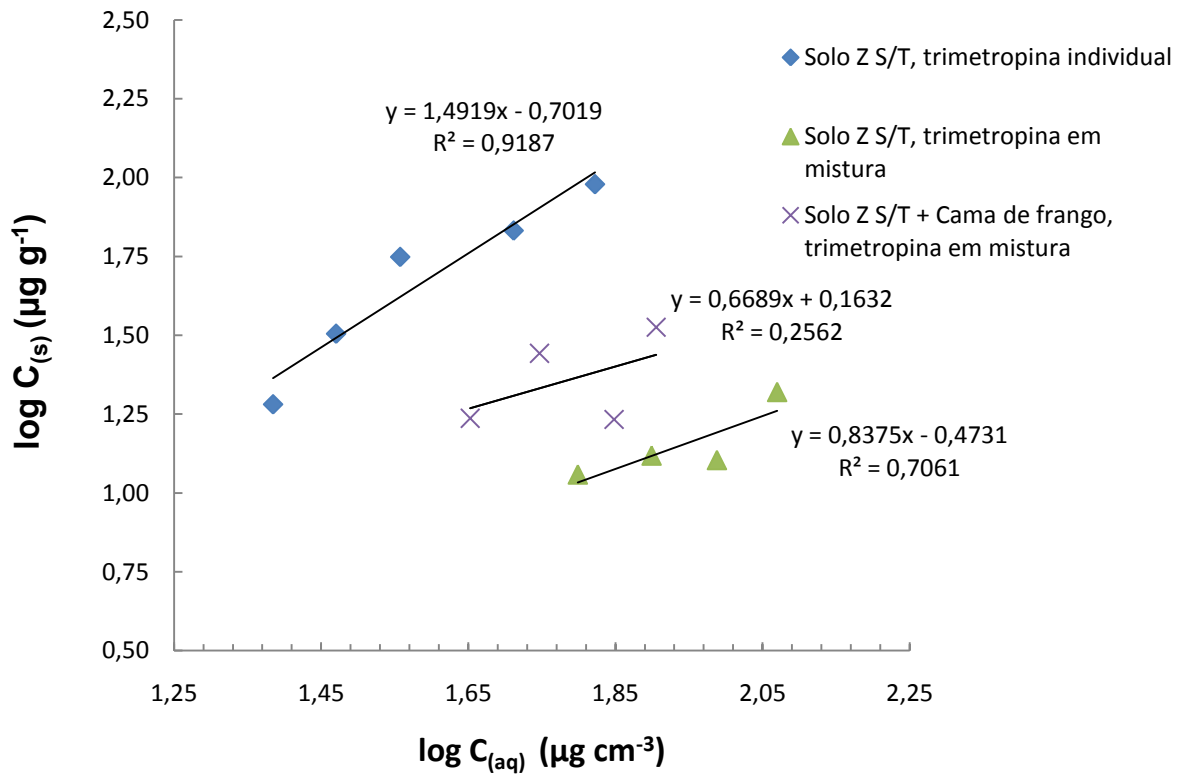
Sulfadiazina - Isotermas de Langmuir



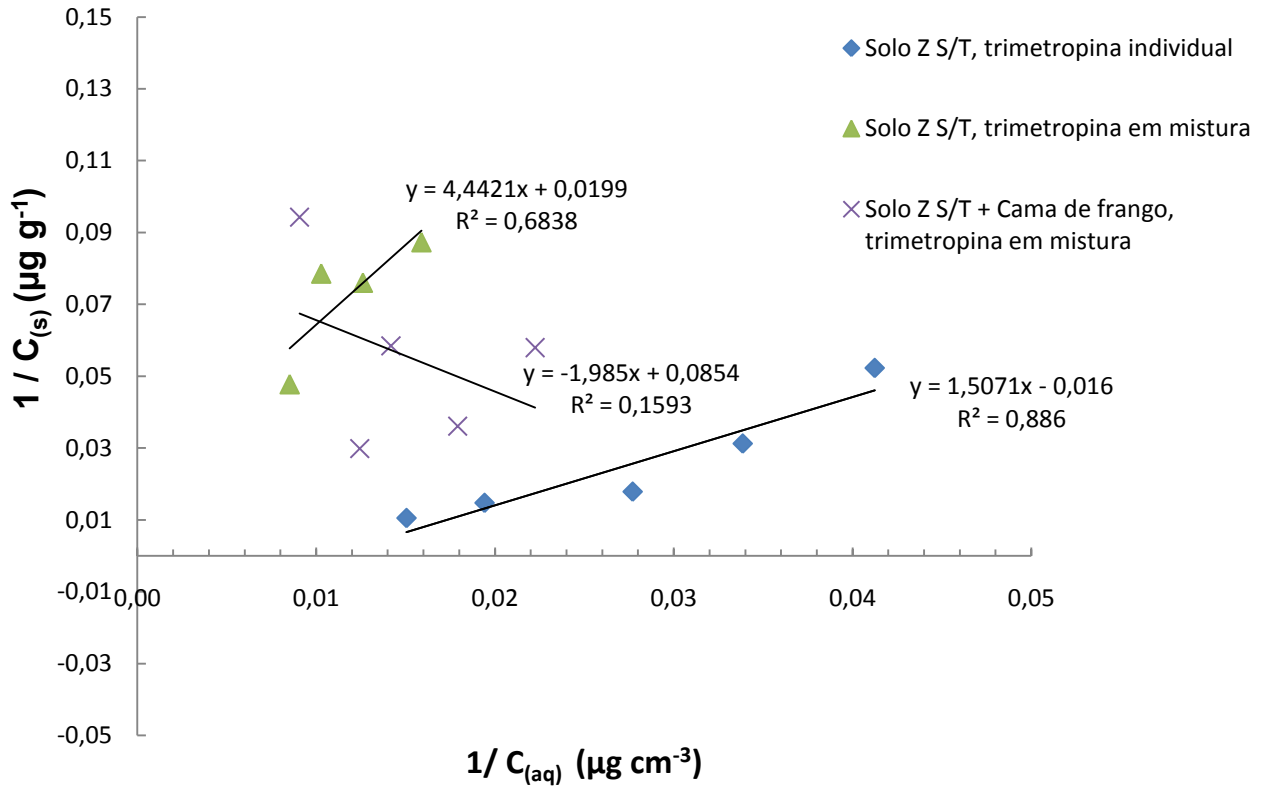
Trimetropina - Isotermas lineares



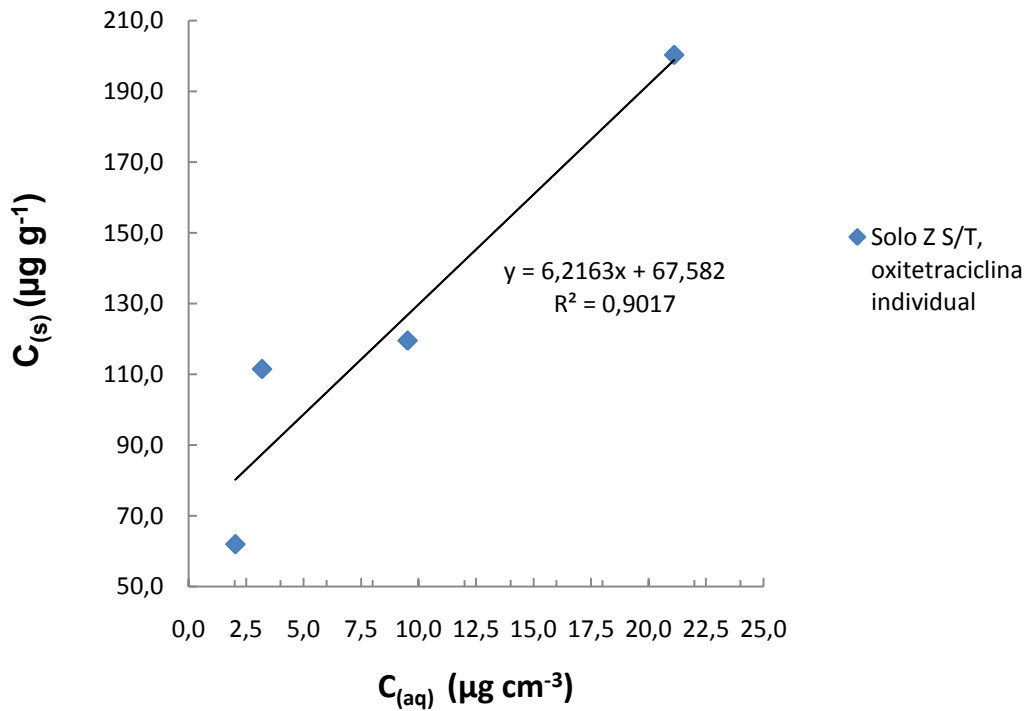
Trimetropina - Isotermas de Freundlich



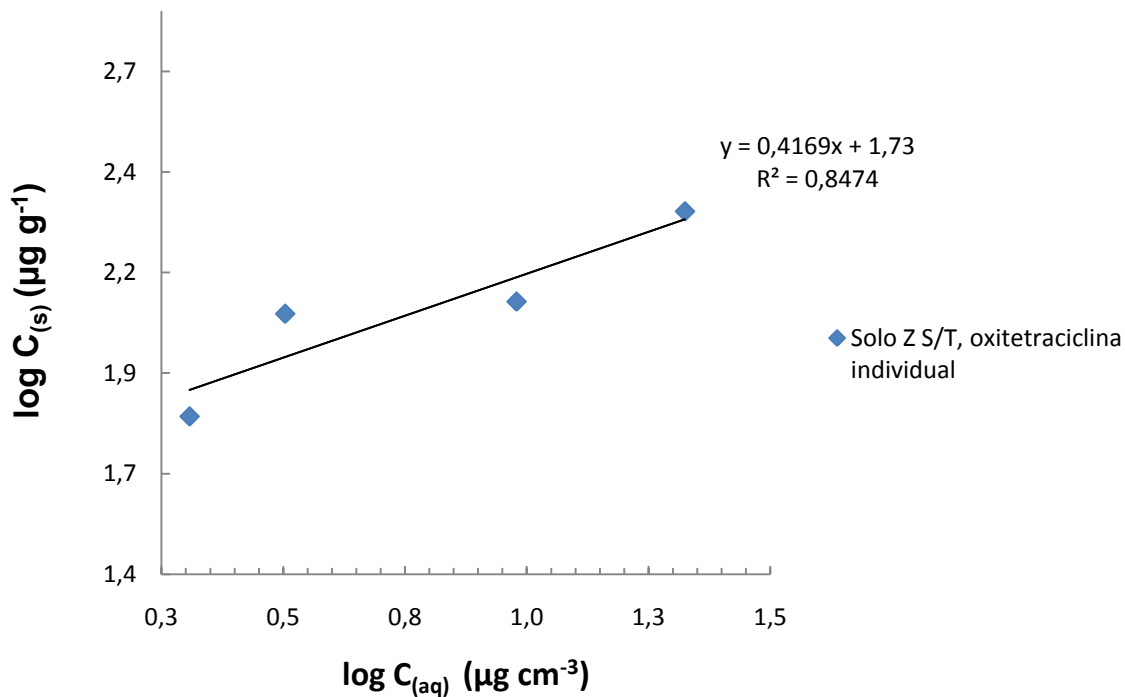
Trimetropina - Isotermas de Langmuir



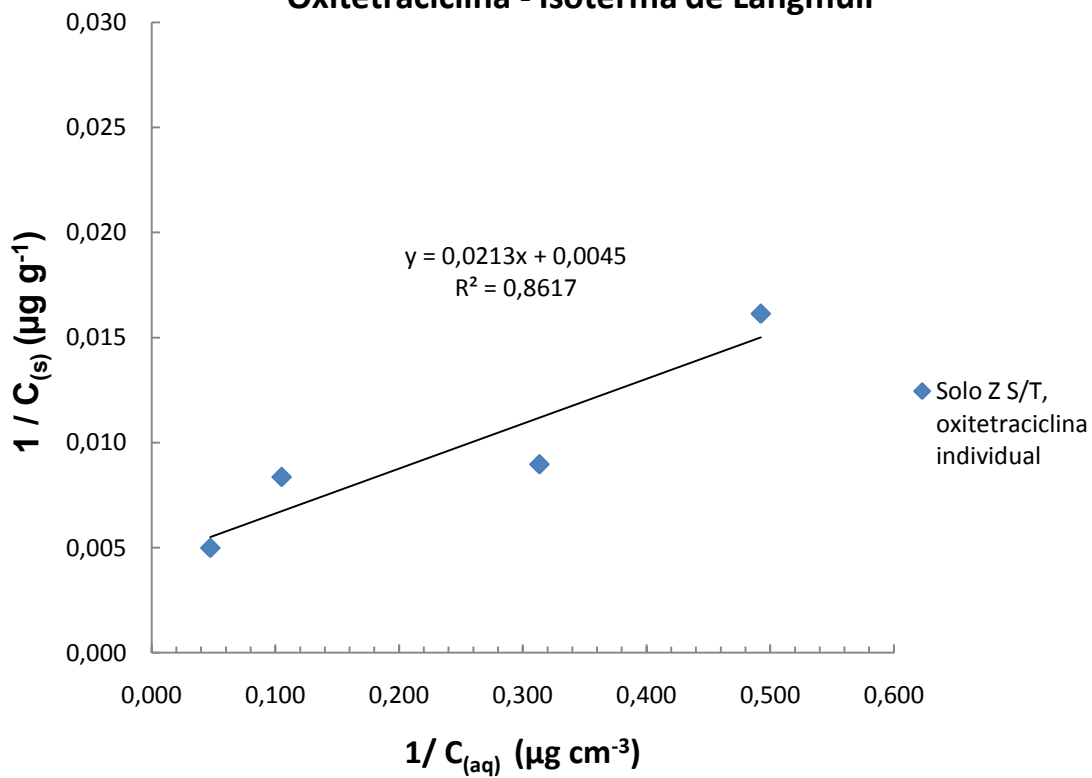
Oxitetraciclina - Isoterma linear



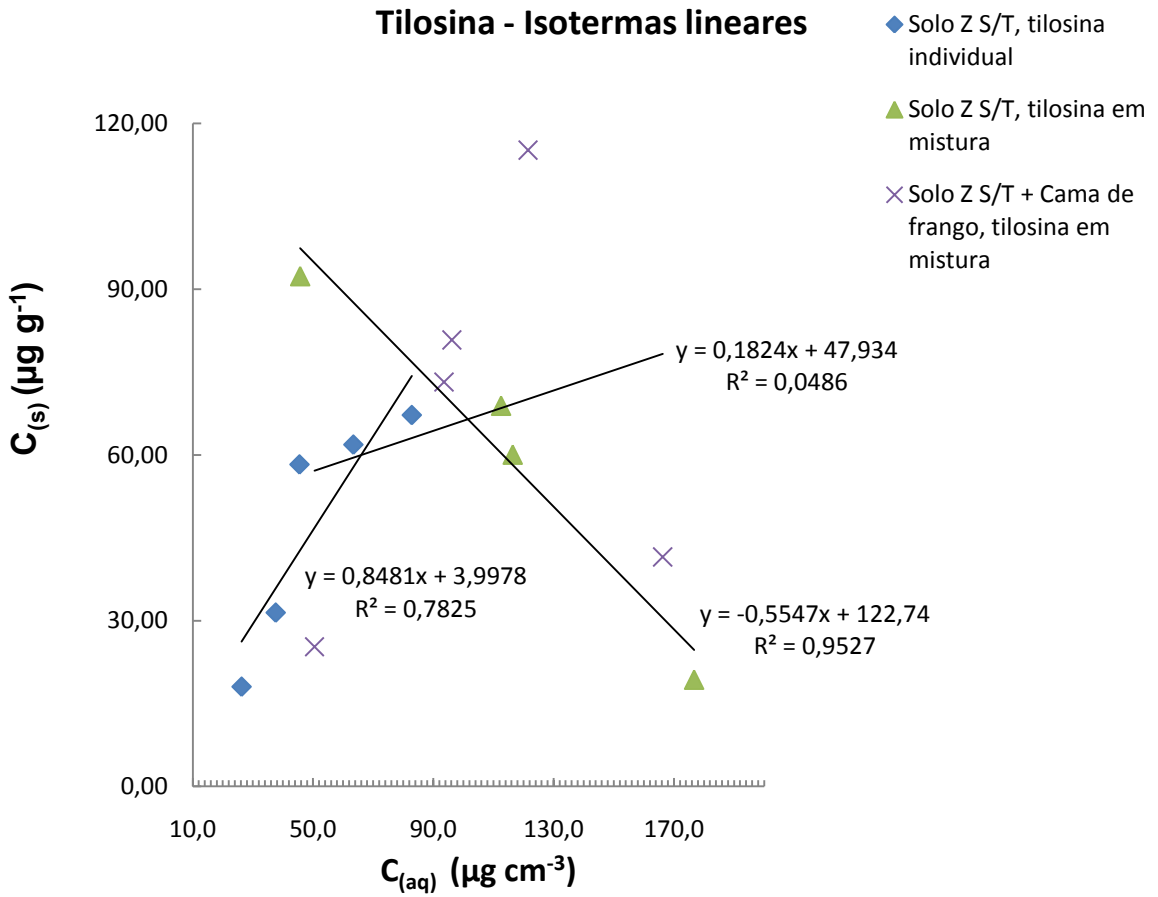
Oxitetraciclina- Isoterma de Freundlich



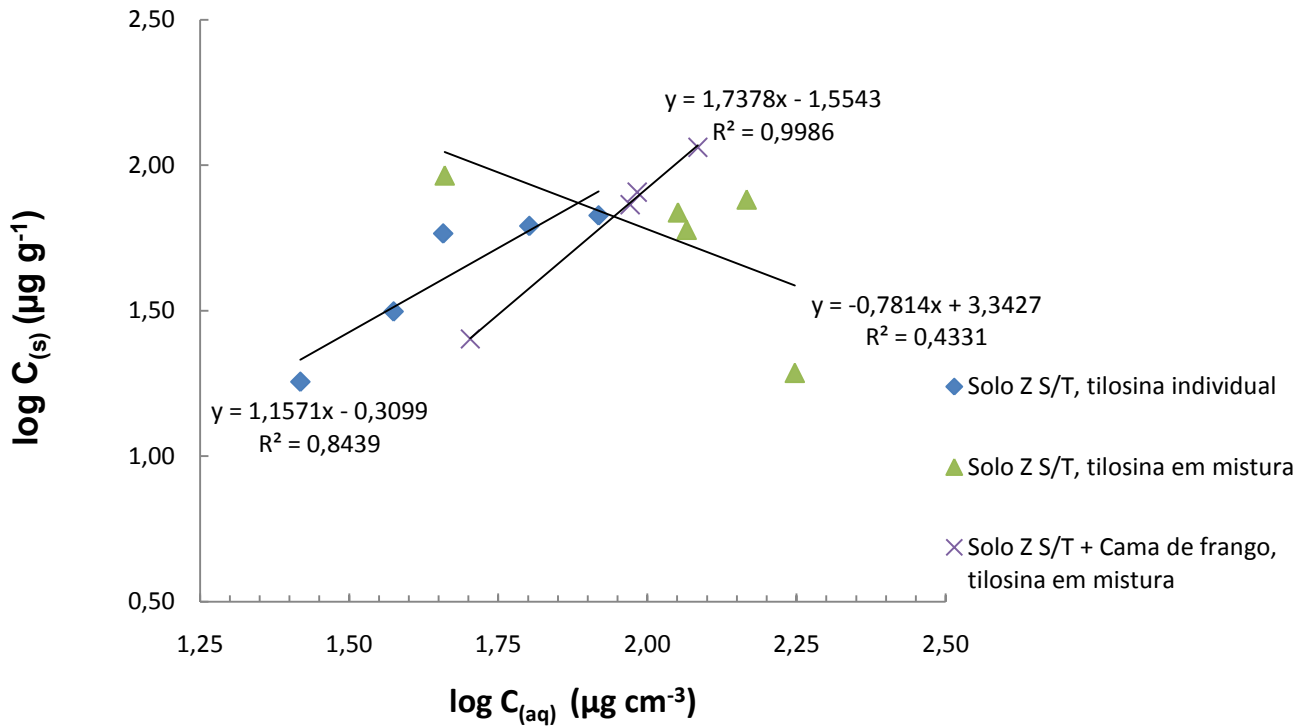
Oxitetraciclina - Isoterma de Langmuir

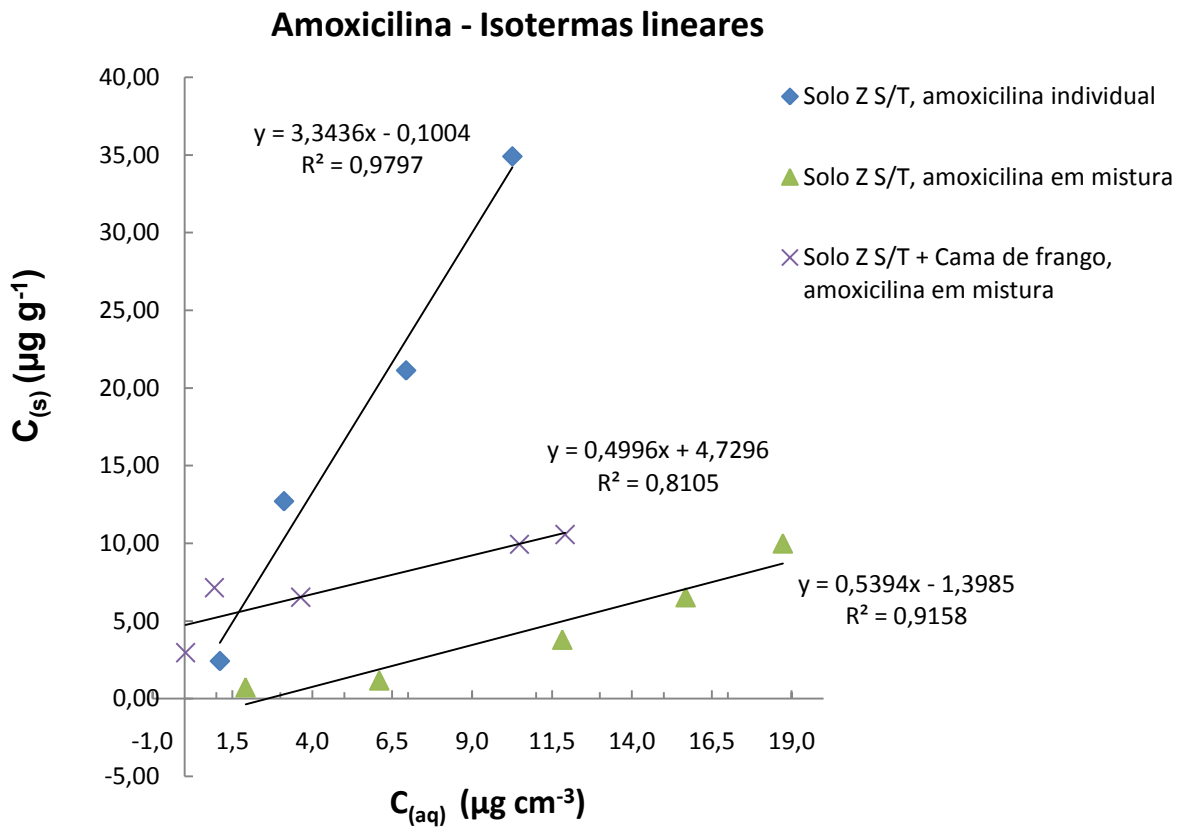
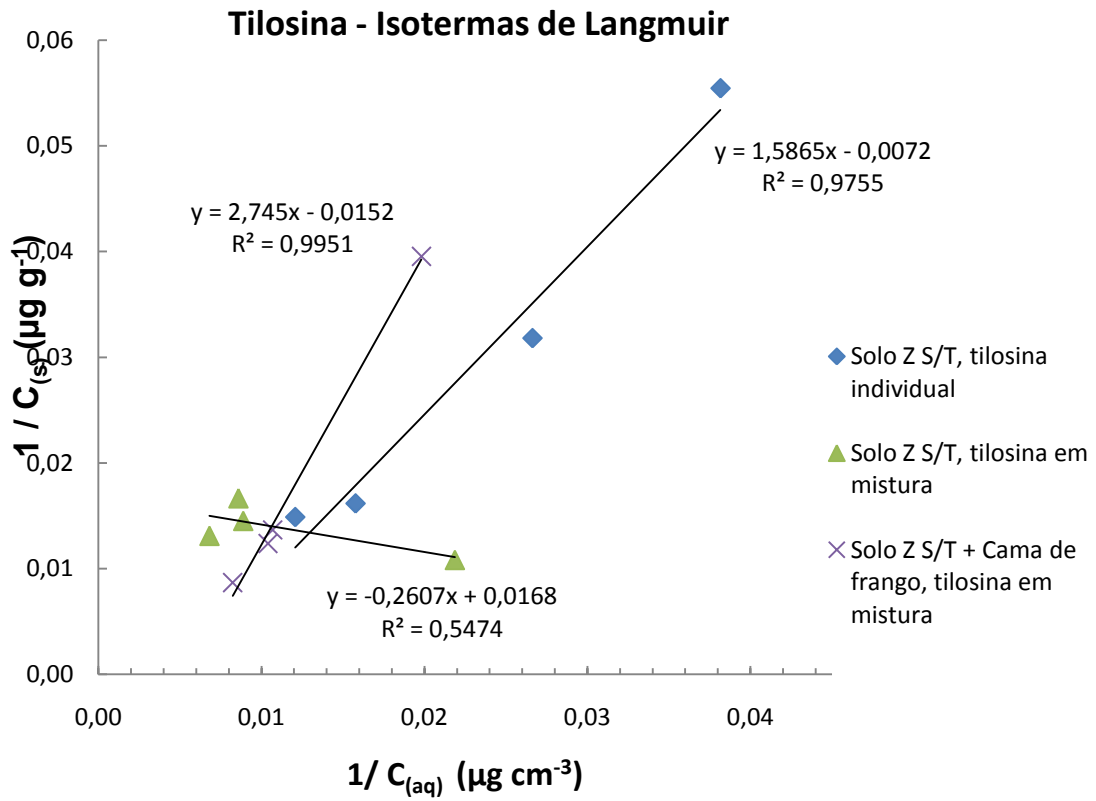


Tilosina - Isotermas lineares

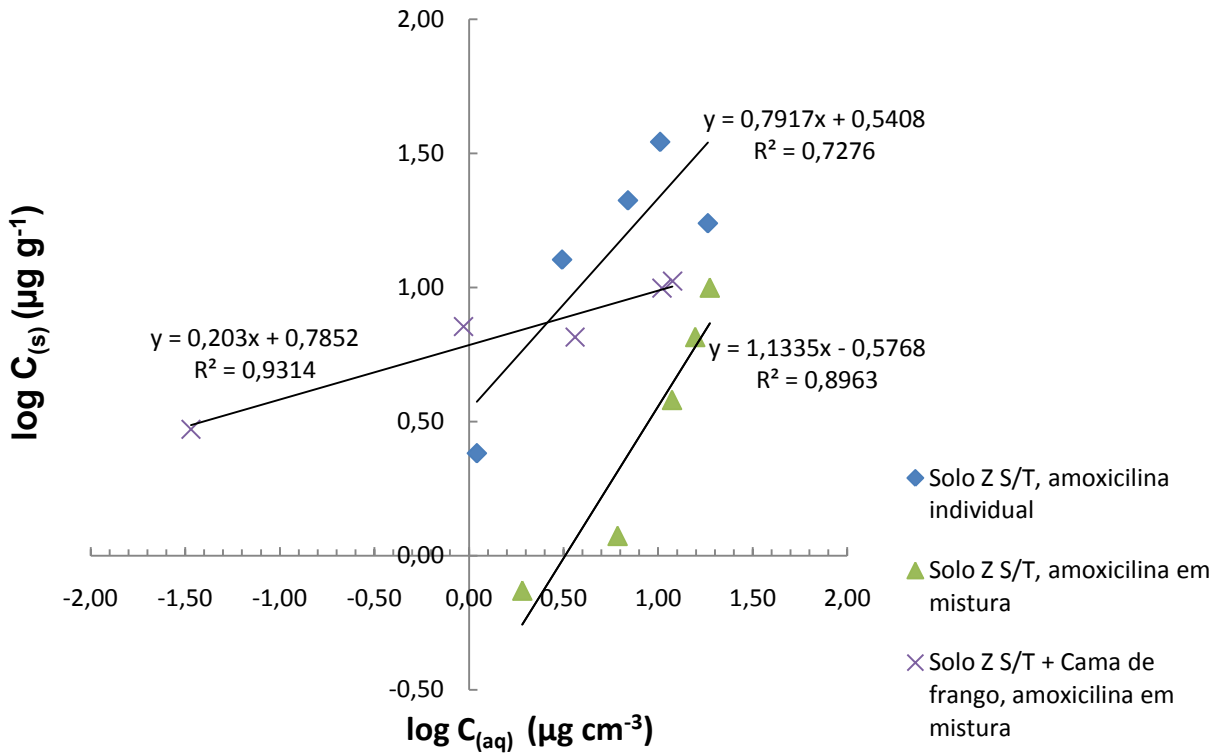


Tilosina- Isotermas de Freundlich

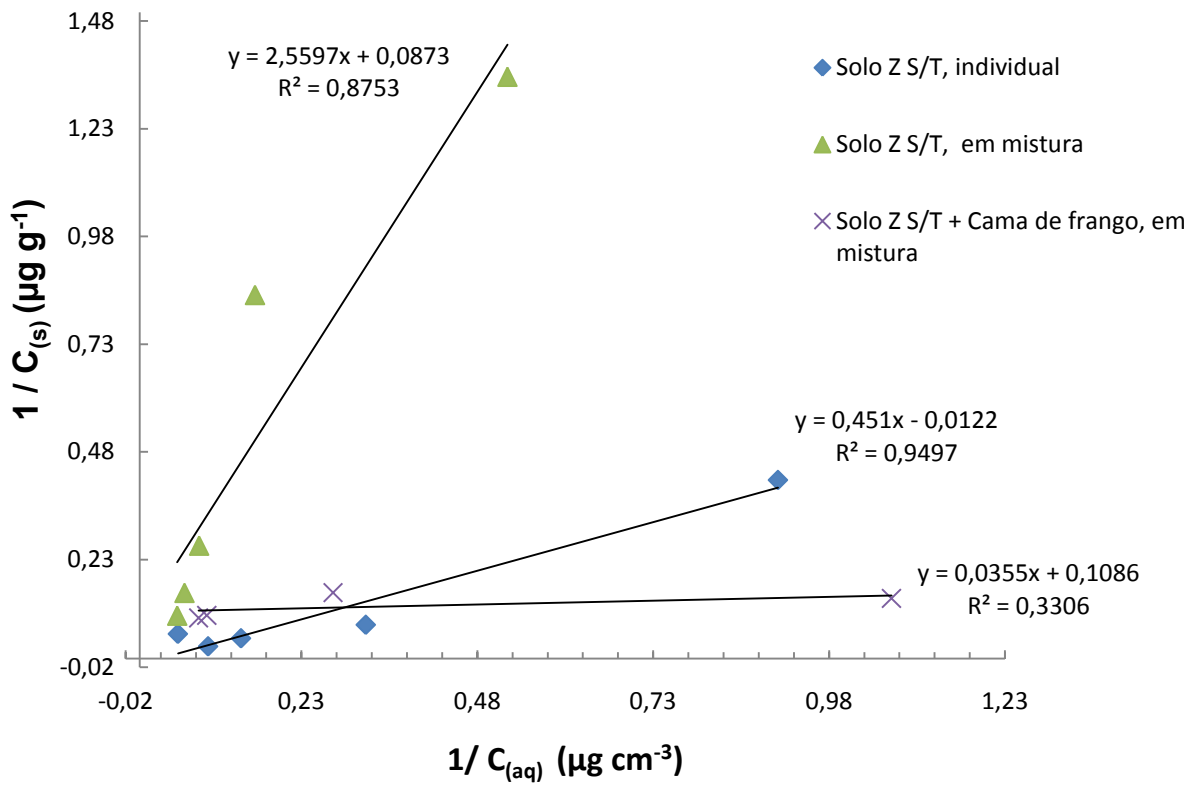


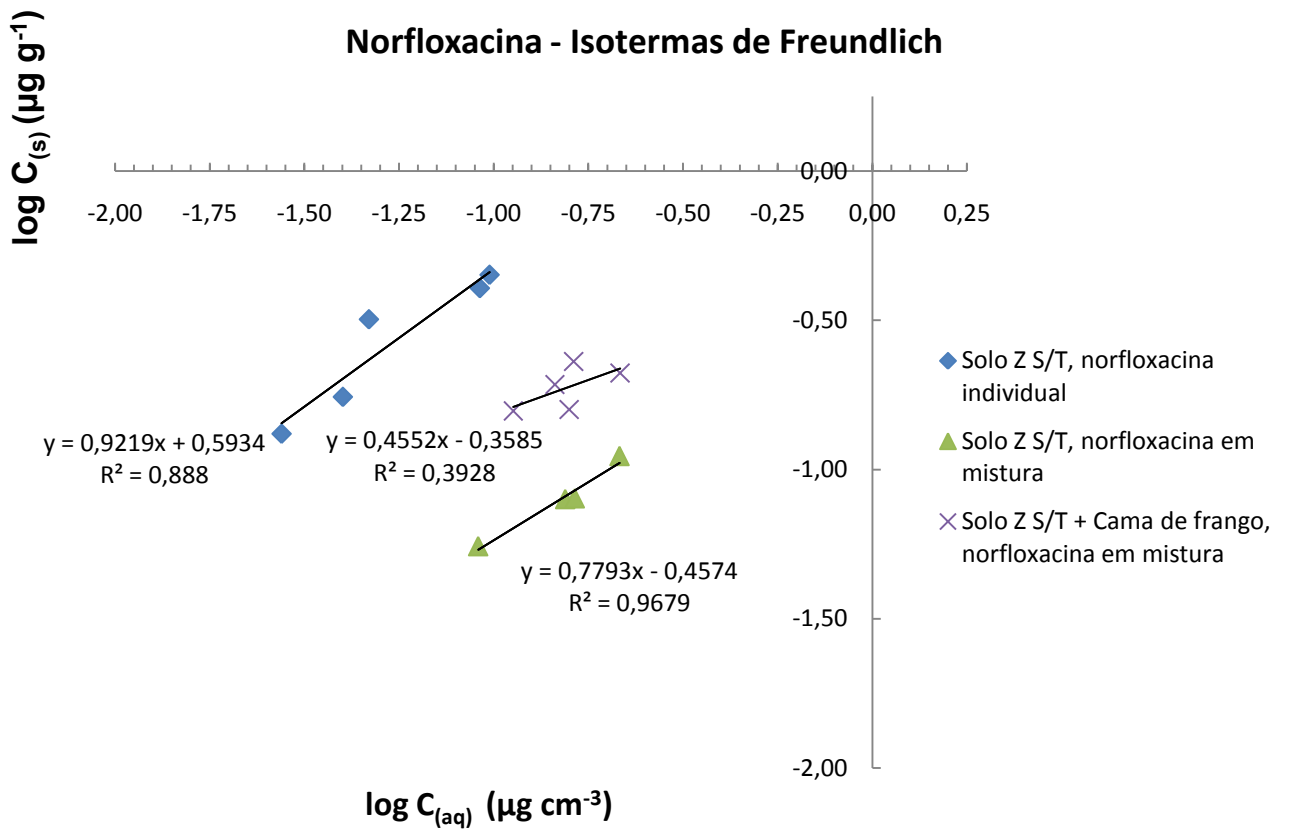
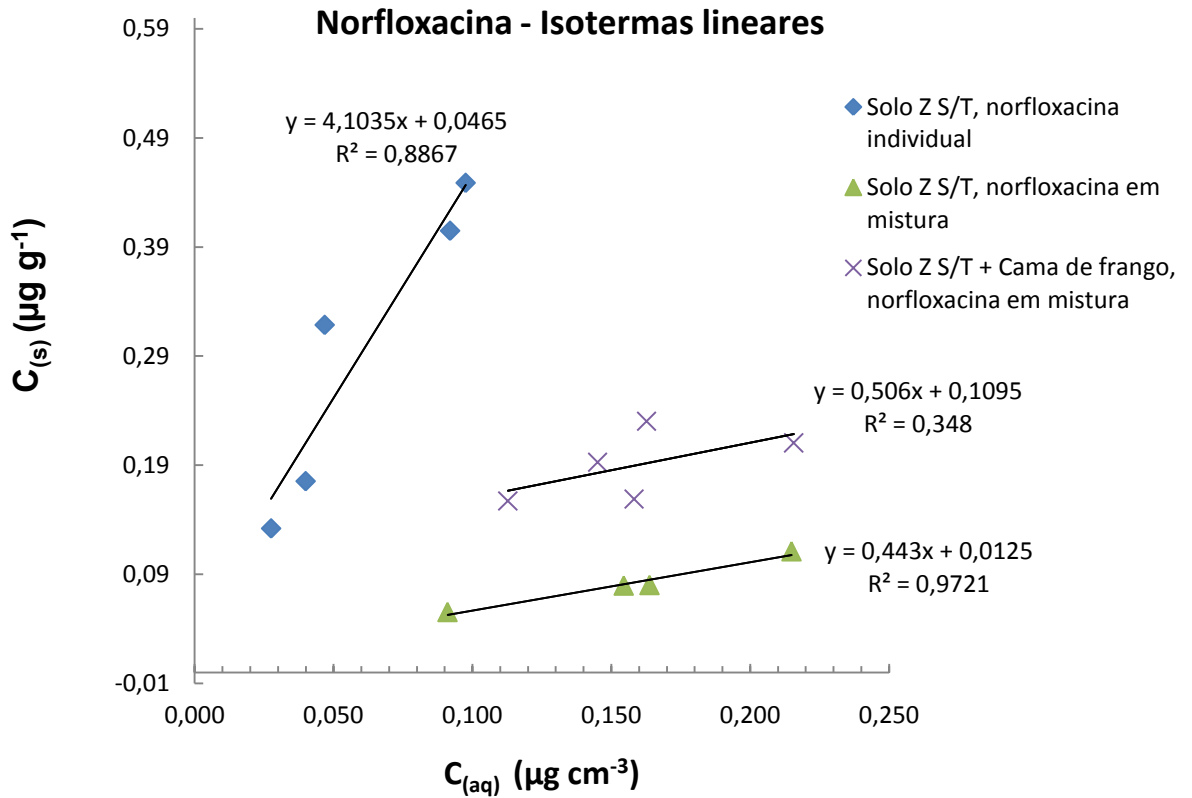


Amoxicilina - Isotermas de Freundlich

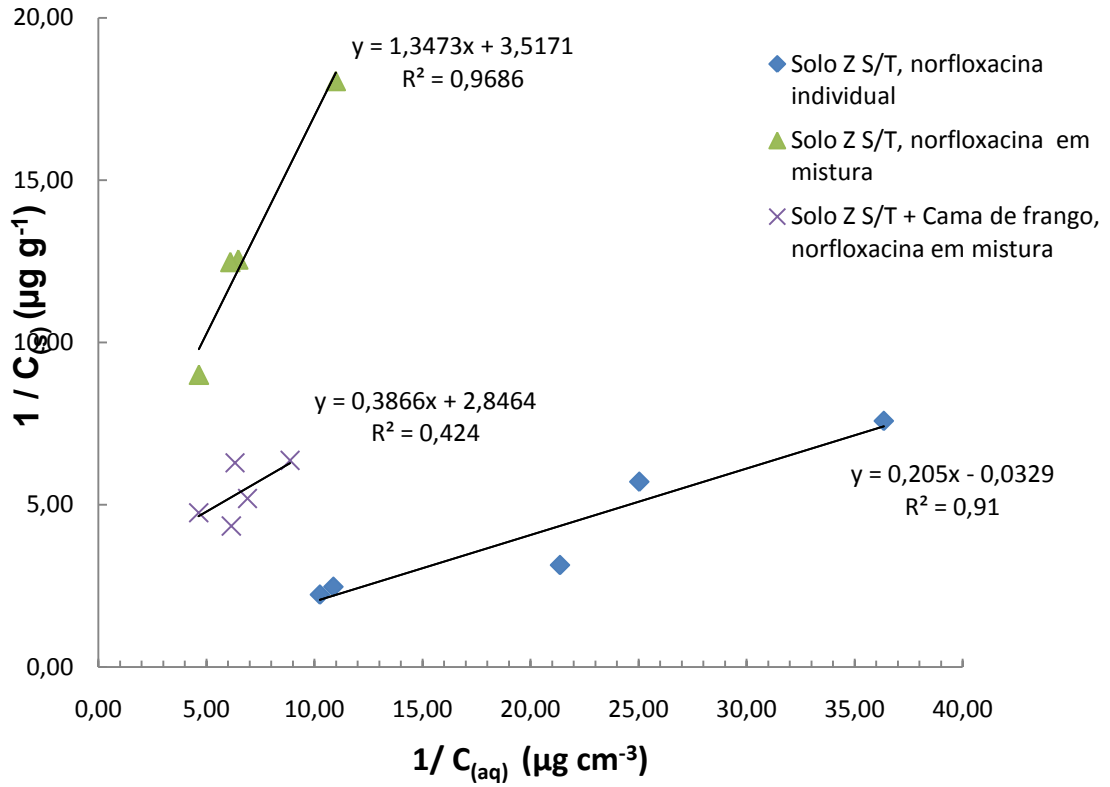


Amoxicilina - Isotermas de Langmuir

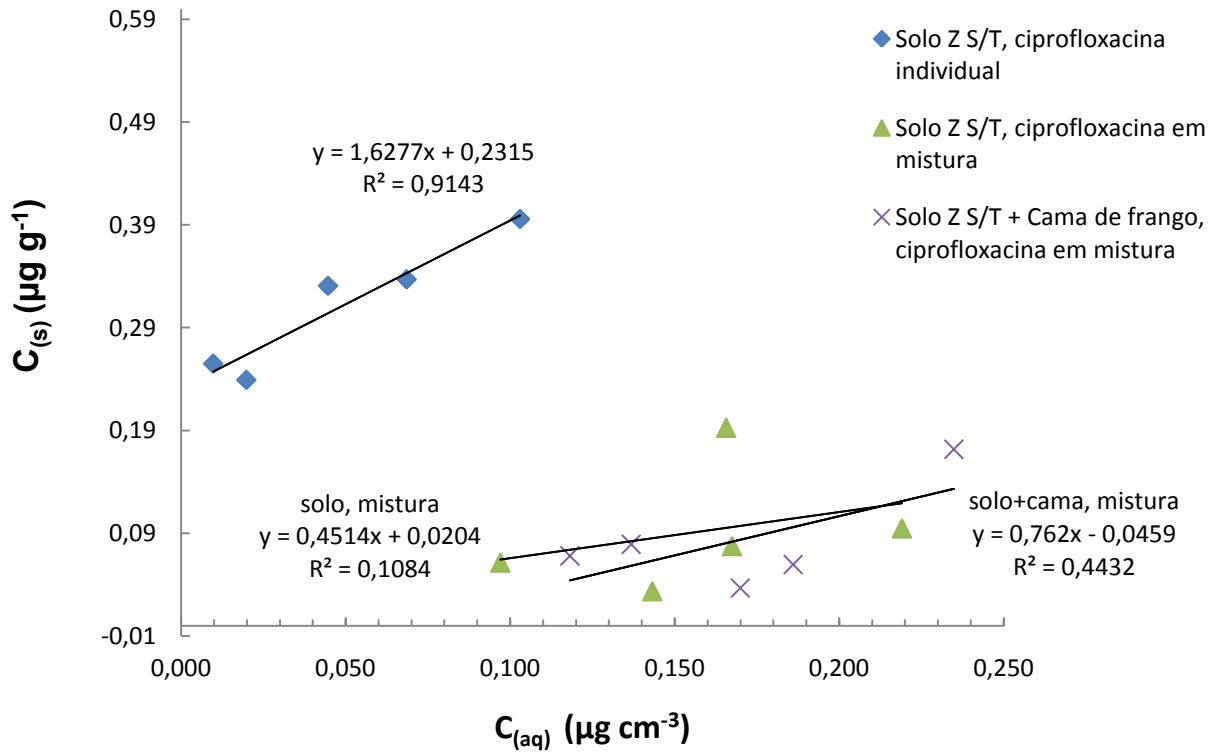




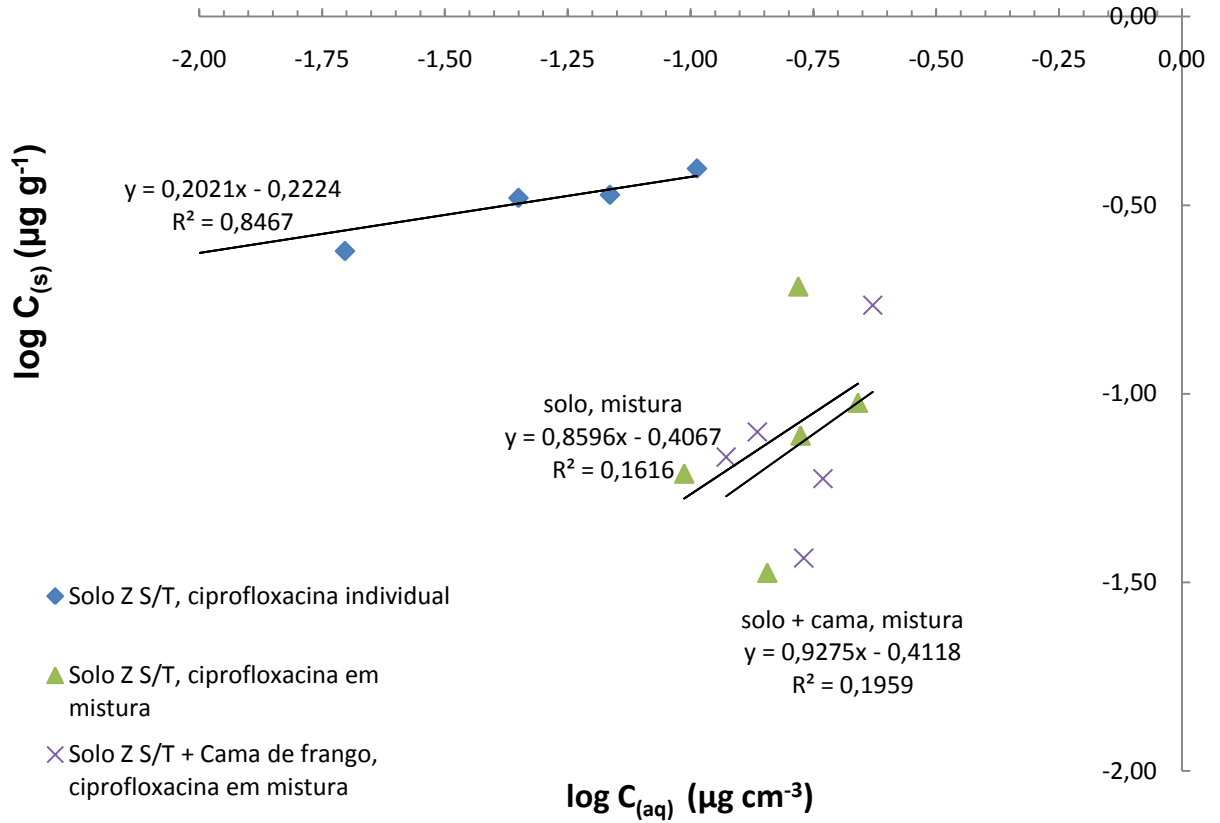
Norfloxacina - Isotermas de Langmuir



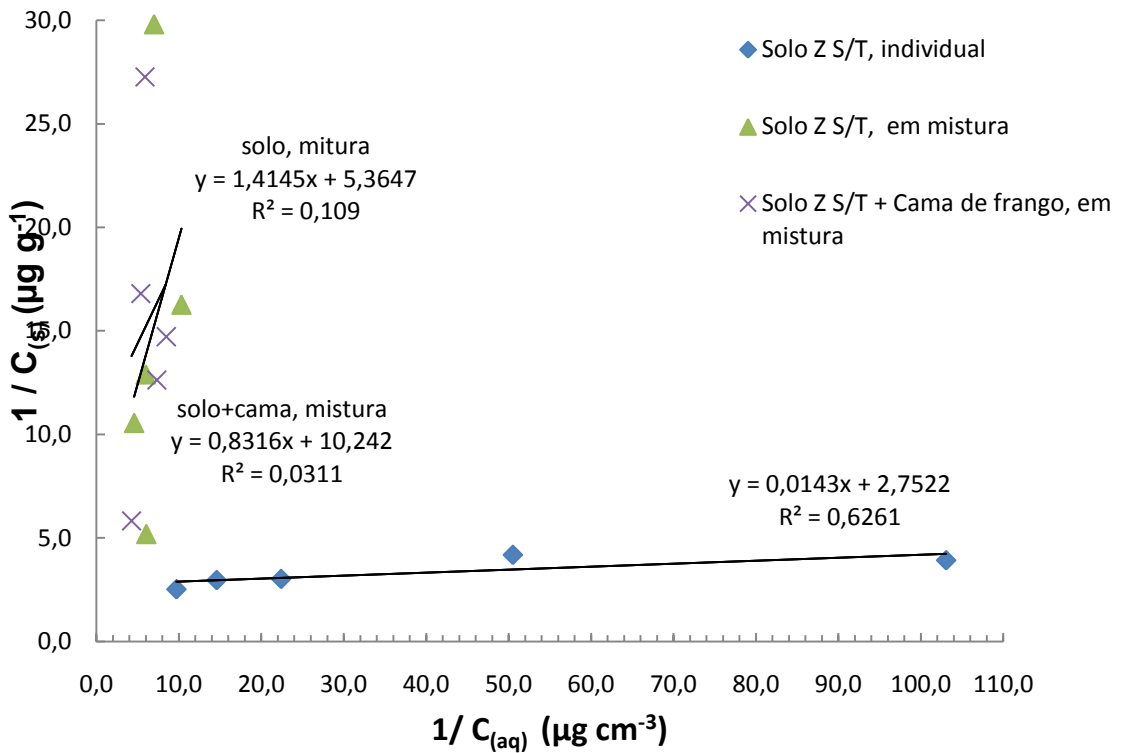
Ciprofloxacina - Isotermas lineares



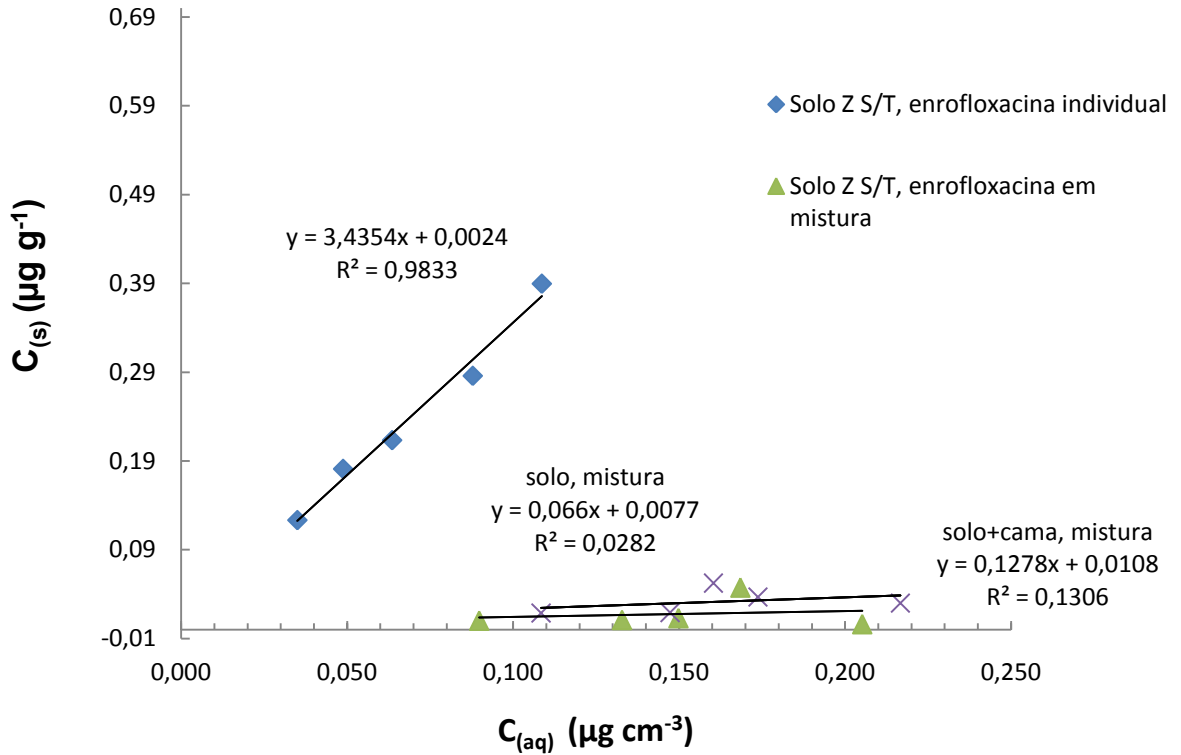
Ciprofloxacina - Isotermas de Freundlich



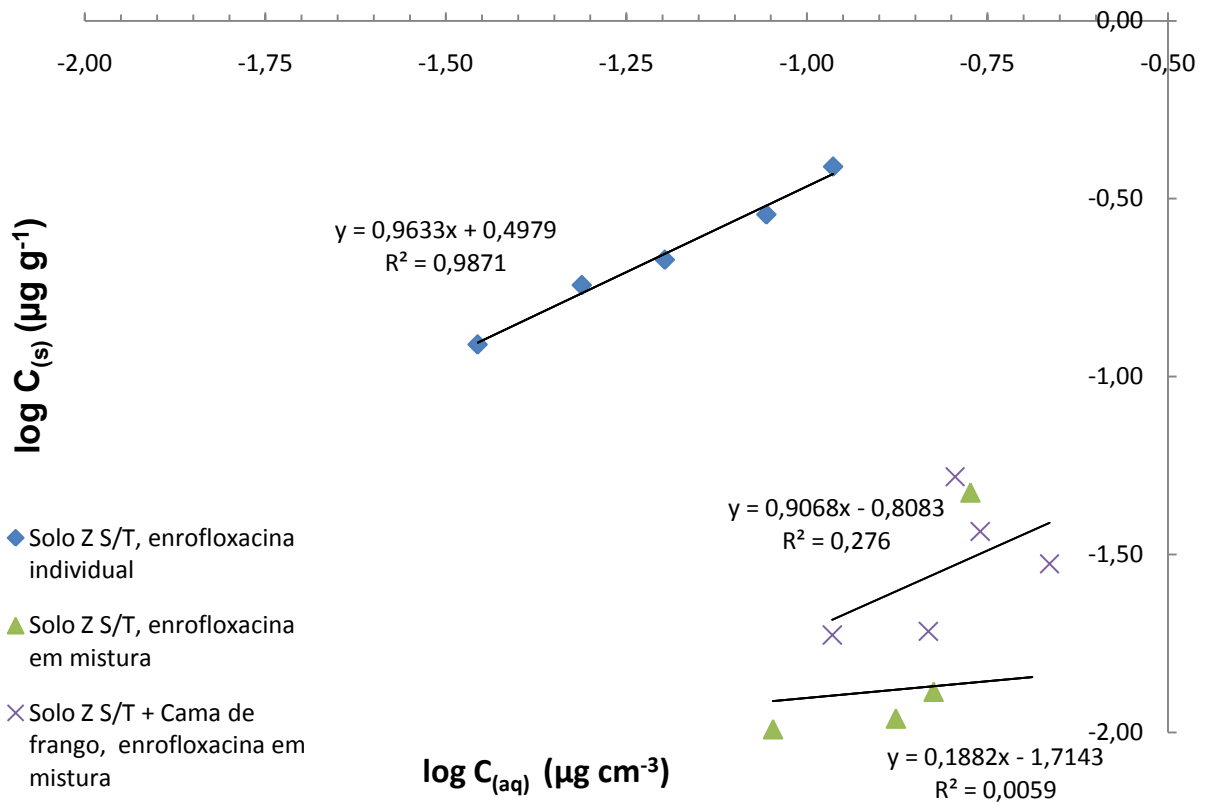
Ciprofloxacina - Isotermas de Langmuir



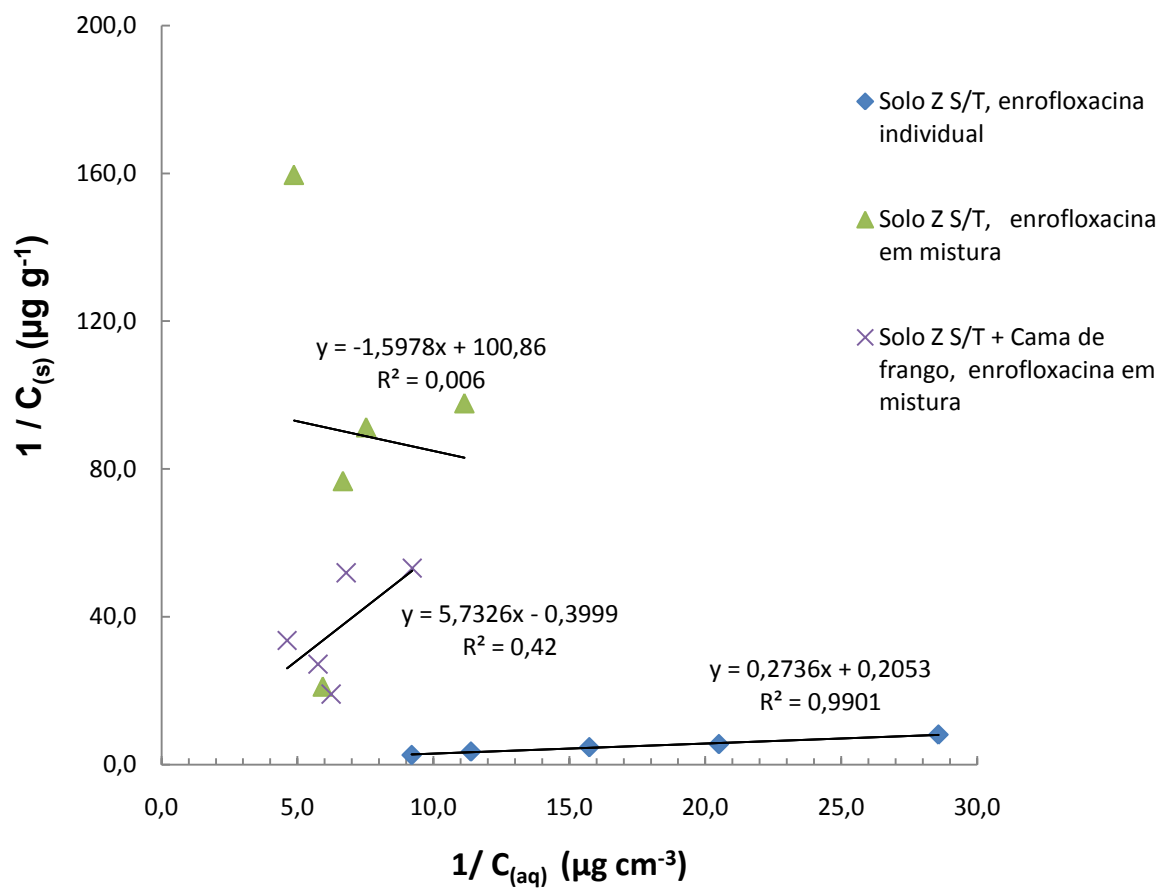
Enrofloxacin - Isotermas lineares



Enrofloxacin - Isotermas de Freundlich

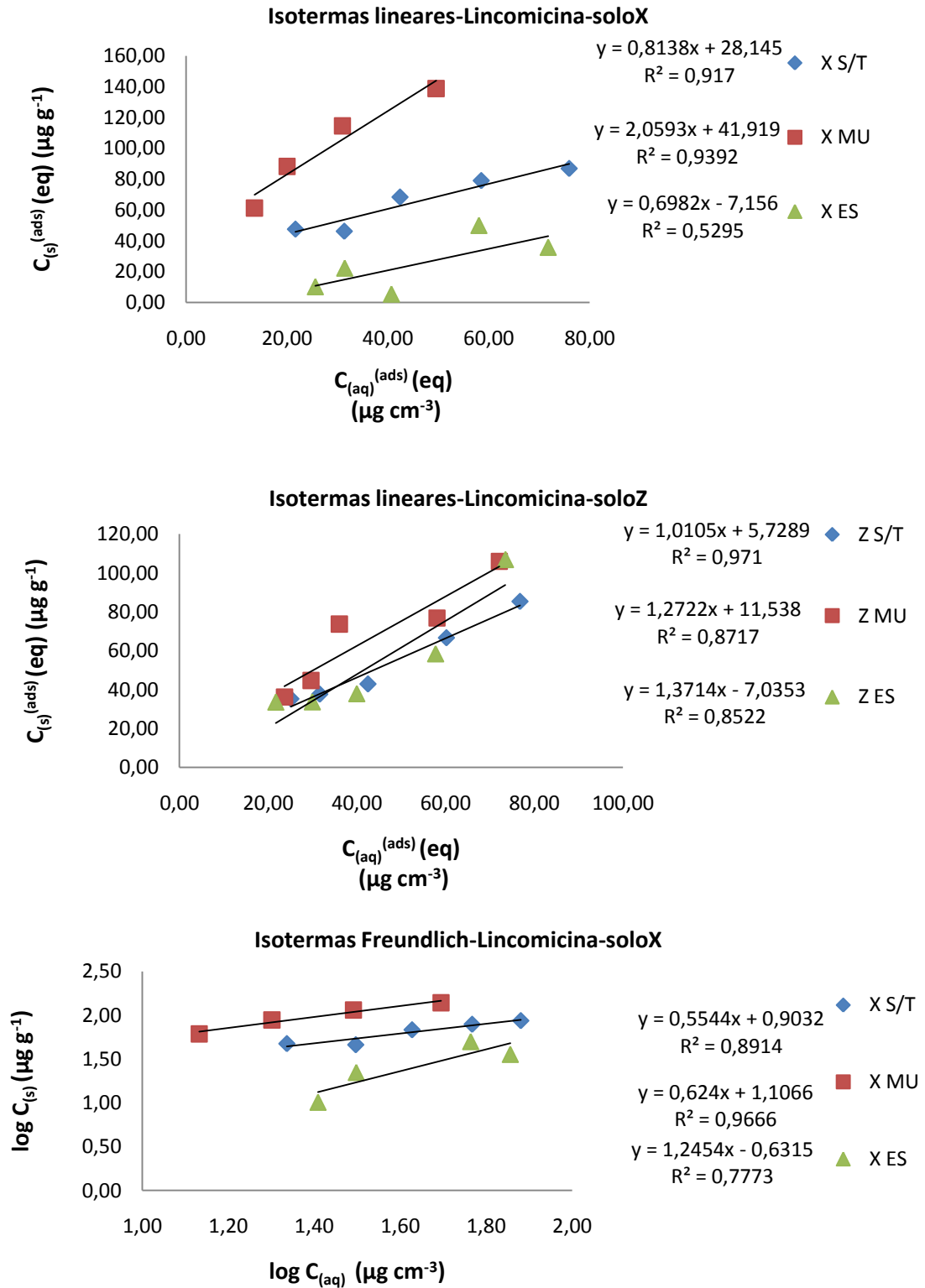


Enrofloxacin - Isotermas de Langmuir

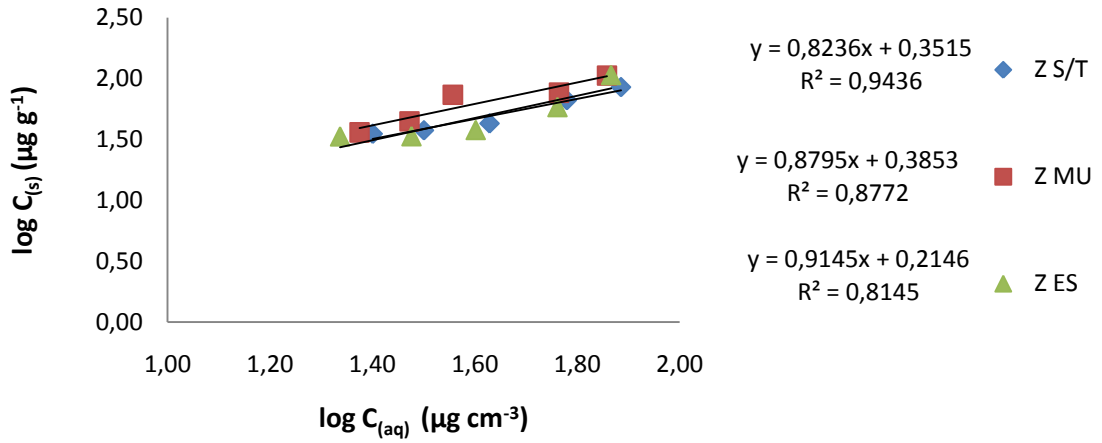


APÊNDICE C

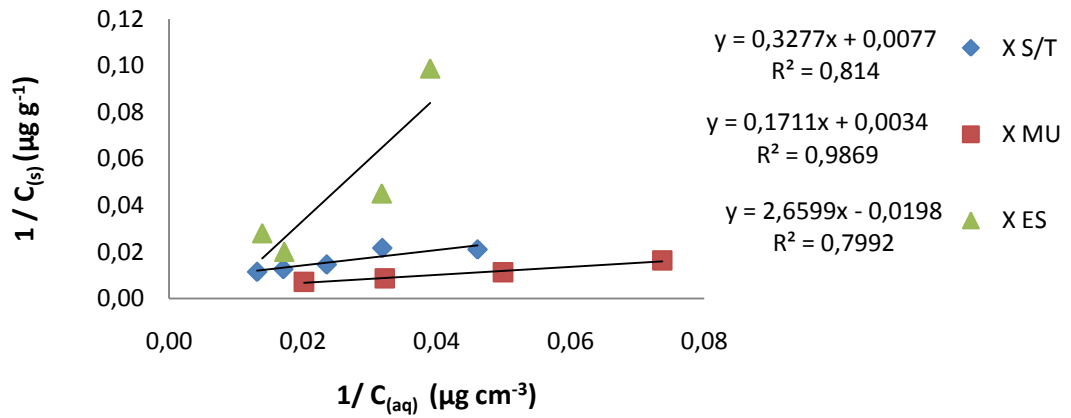
Isotermas lineares, Freundlich e Langmuir para os solos X e Z, em três diferentes tratamentos



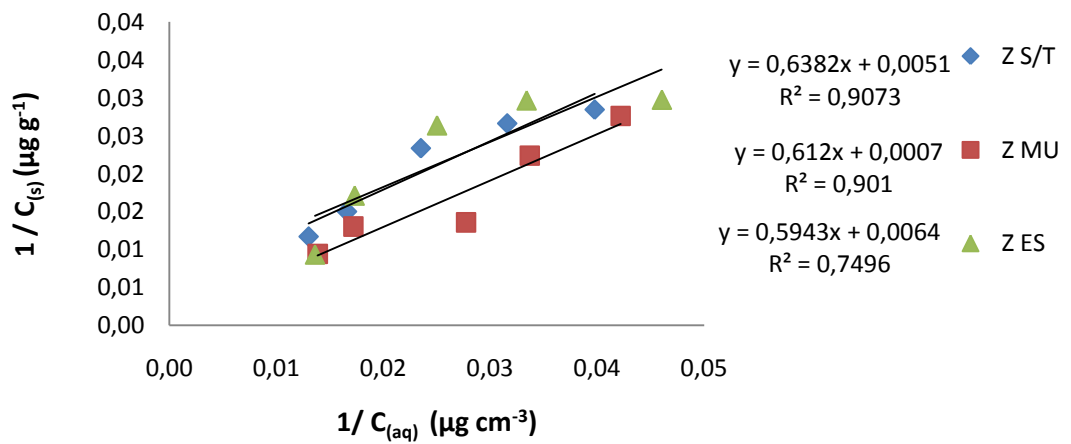
Isotermas Freundlich-Lincomicina-soloZ



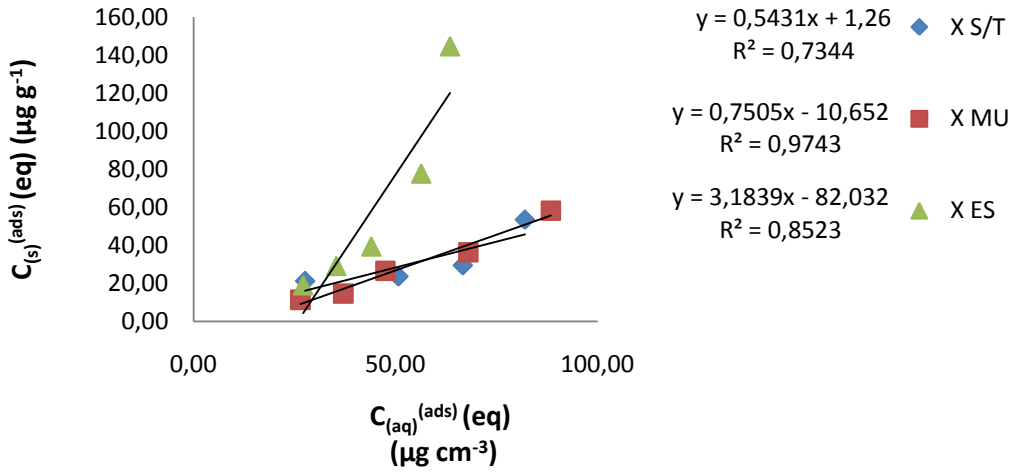
Isotermas Langmuir-lincomicina-soloX



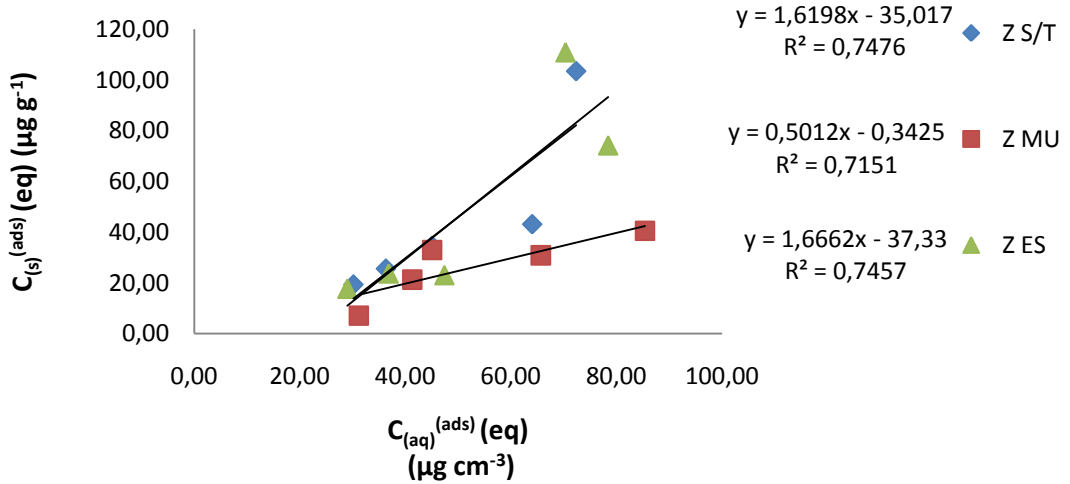
Isotermas Langmuir-lincomicina-soloZ



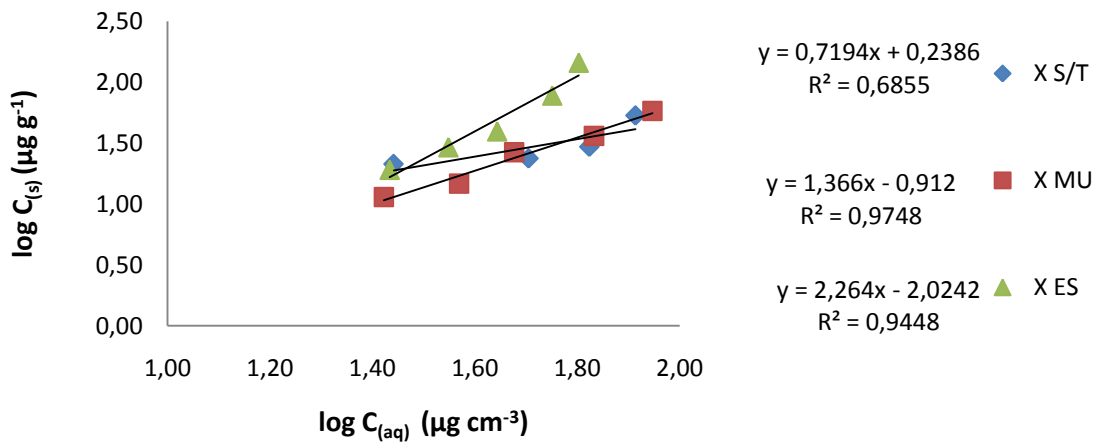
Isotermas lineares-sulfadiazina-soloX



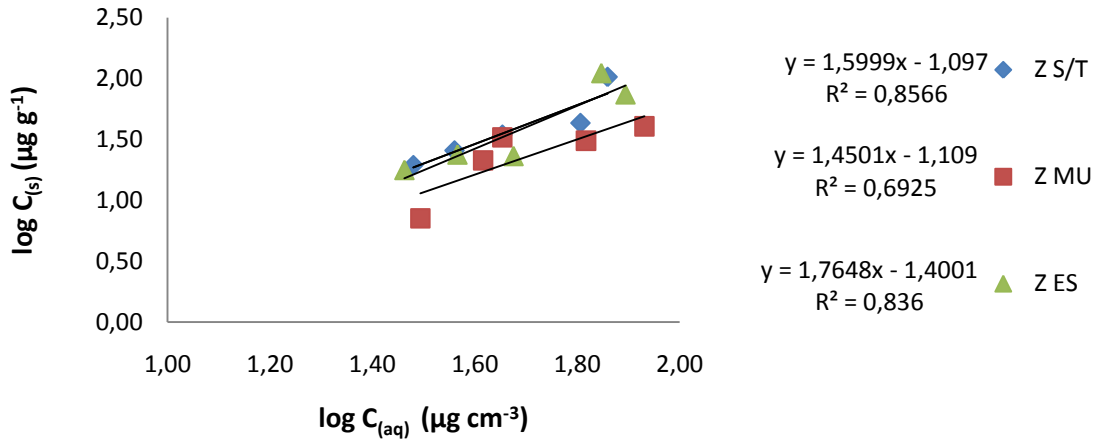
Isotermas lineares-sulfadiazina-soloZ



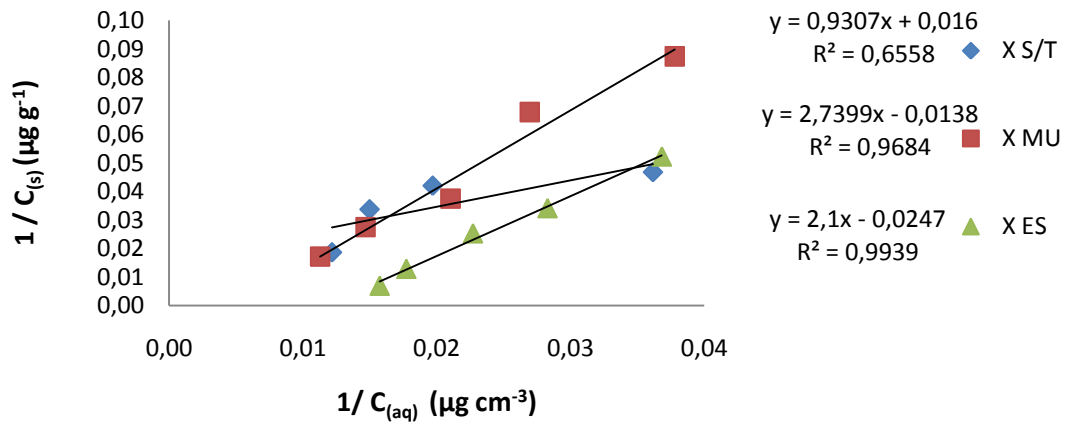
Isotermas Freundlich-Sulfadiazina-soloX



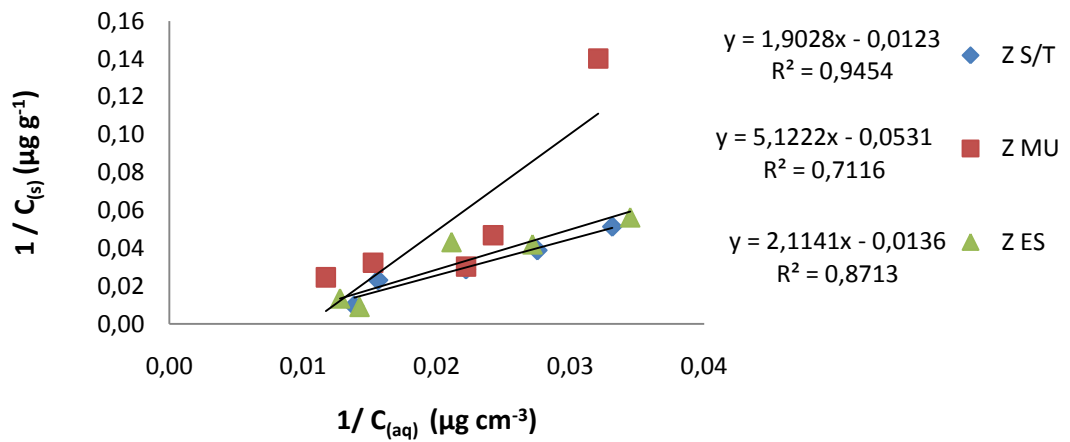
Isotermas Freundlich-Sulfadiazina-soloZ



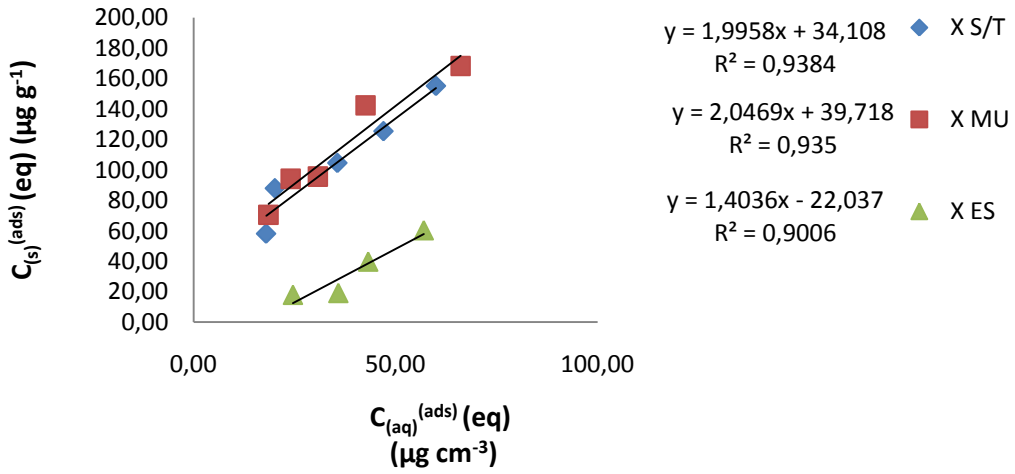
Isotermas Langmuir-Sulfadiazina-soloX



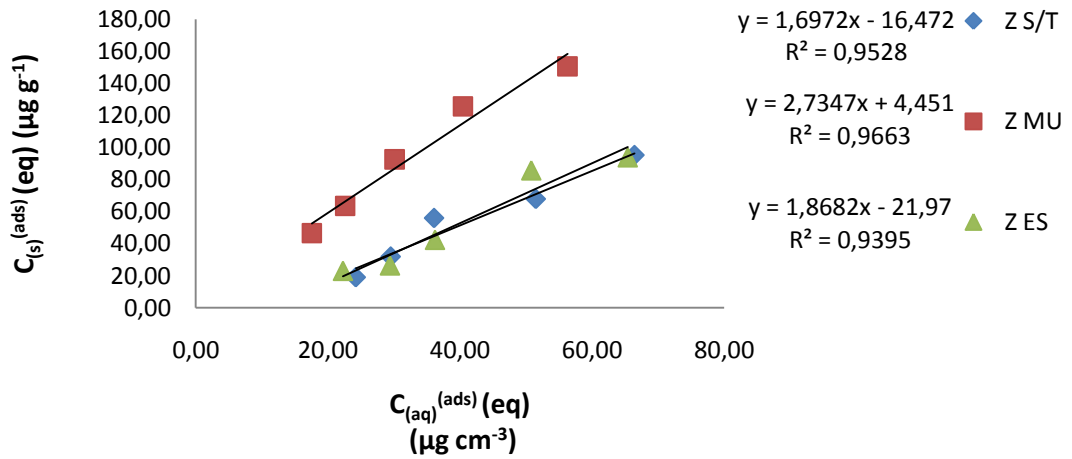
Isotermas Langmuir-Sulfadiazina-soloZ



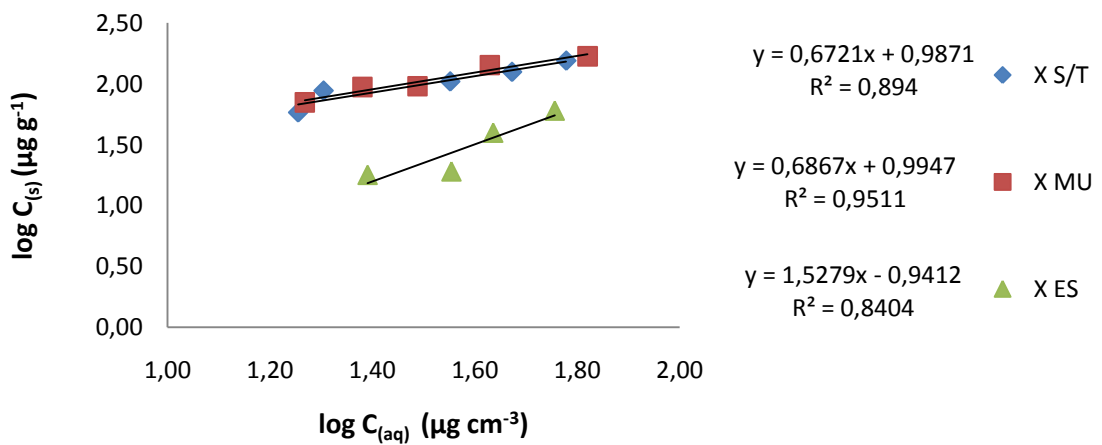
Isotermas lineares-trimetropina-soloX



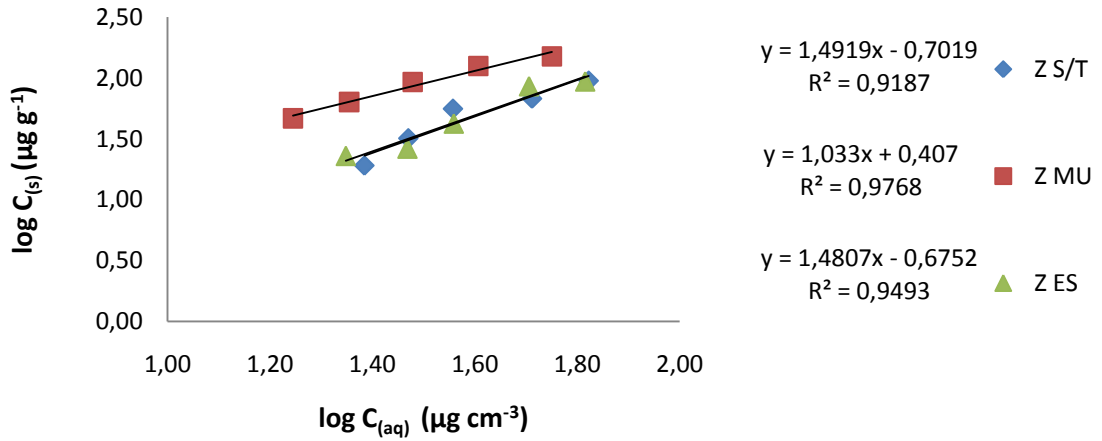
Isotermas lineares-trimetropina-soloZ



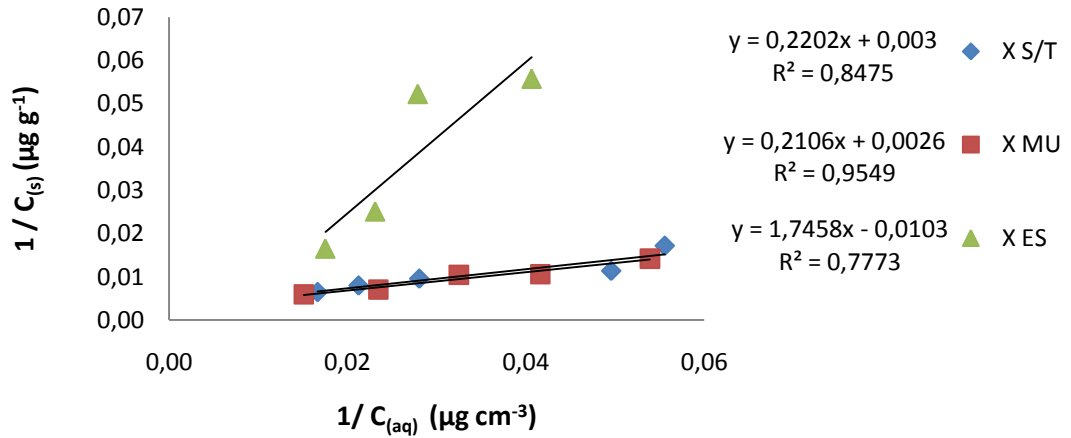
Isotermas Freundlich-Trimetropina-soloX



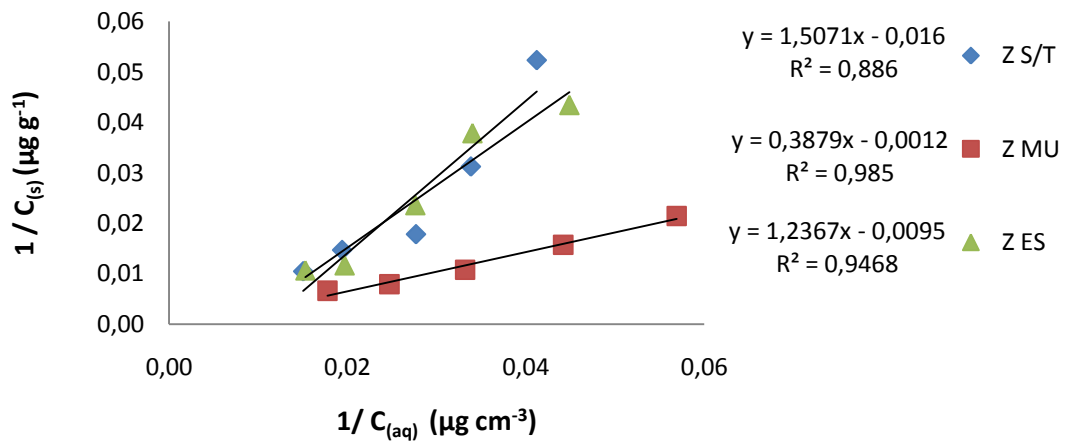
Isotermas Freundlich-Trimetropina-soloZ

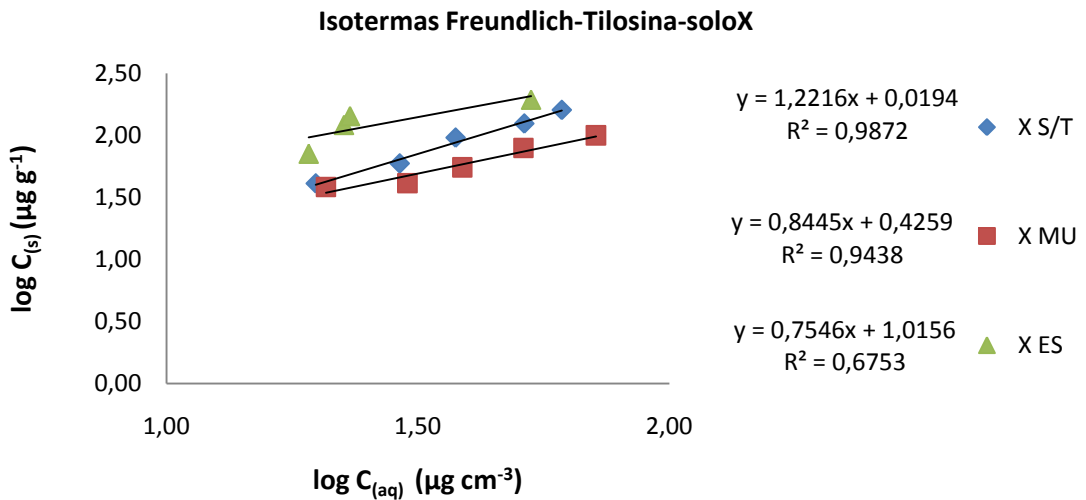
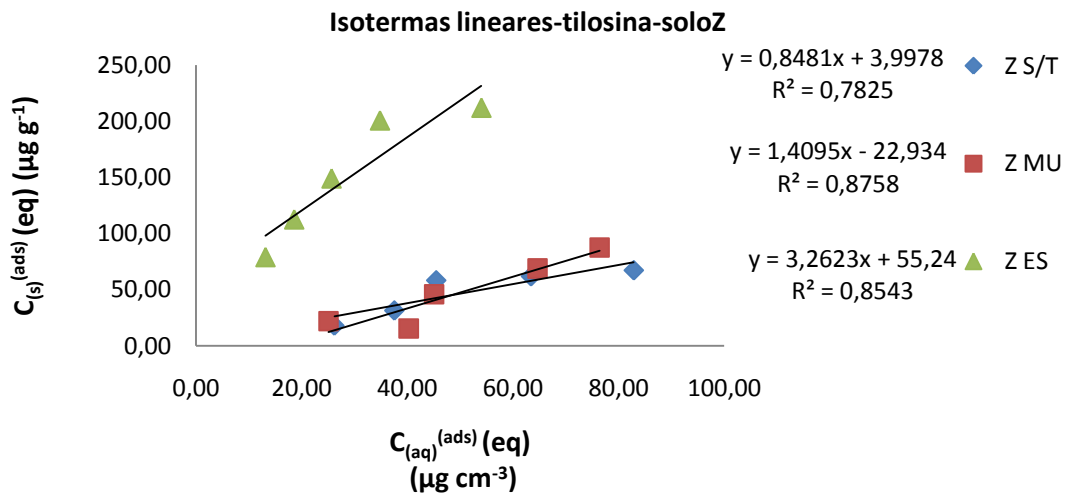
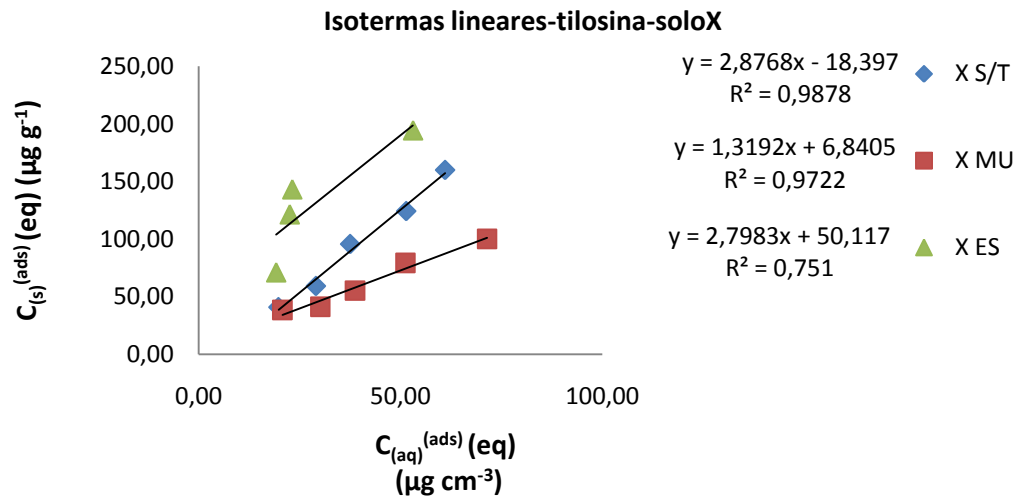


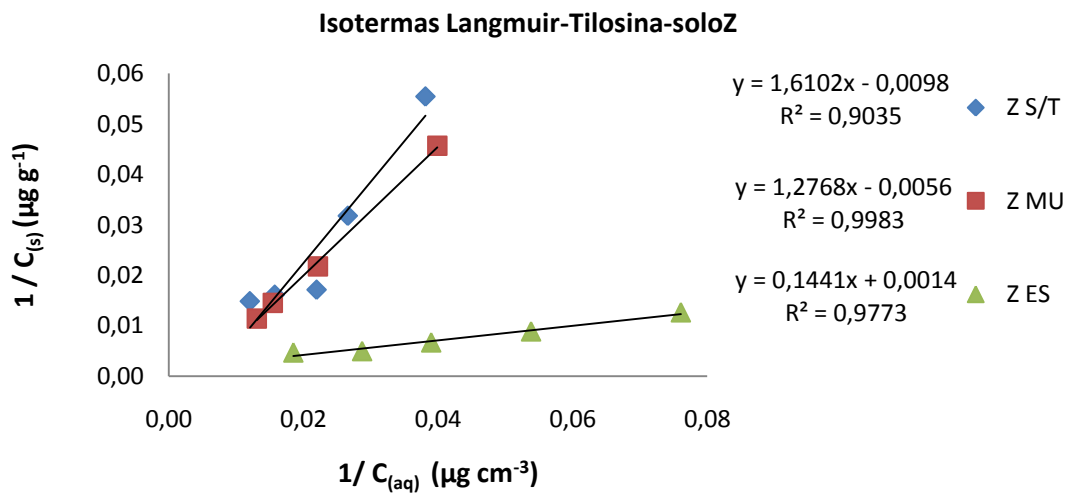
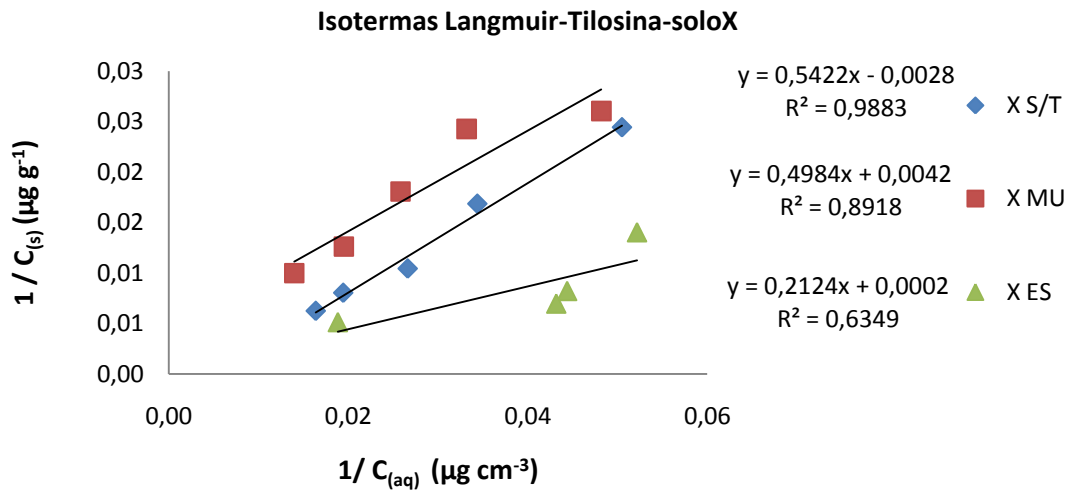
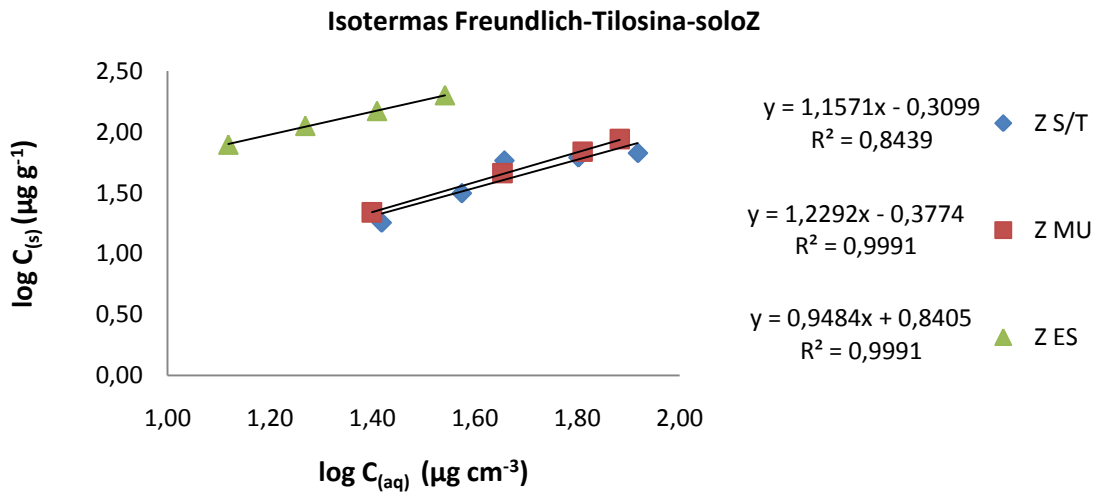
Isotermas Langmuir-Trimetropina-soloX

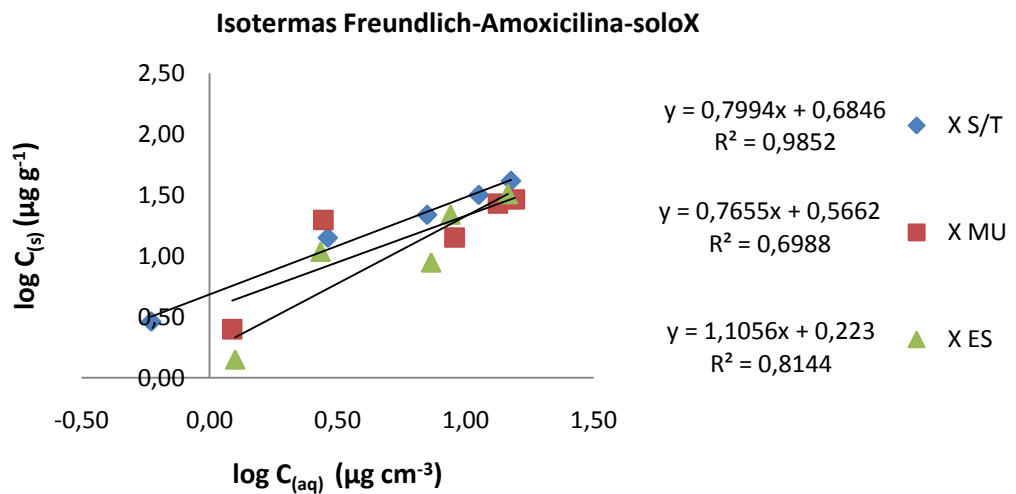
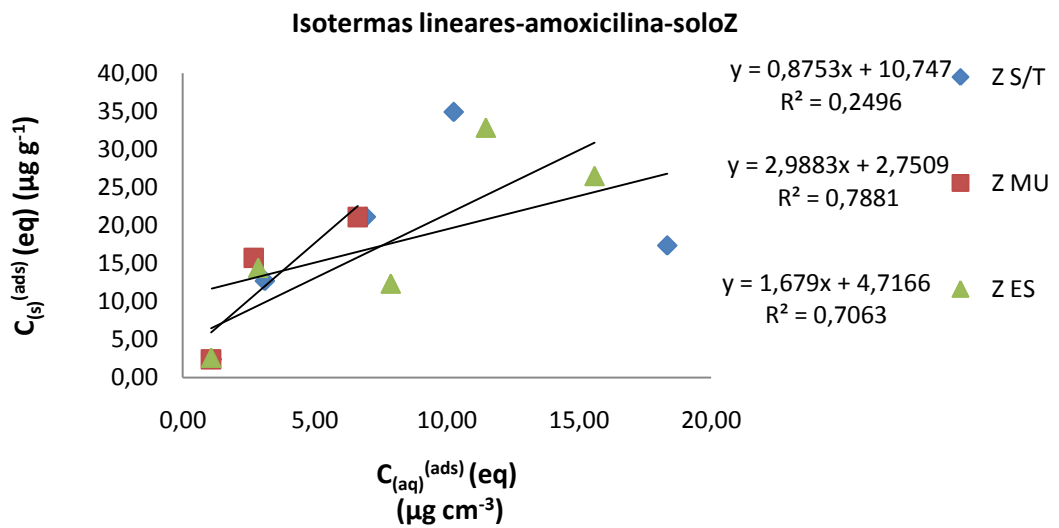
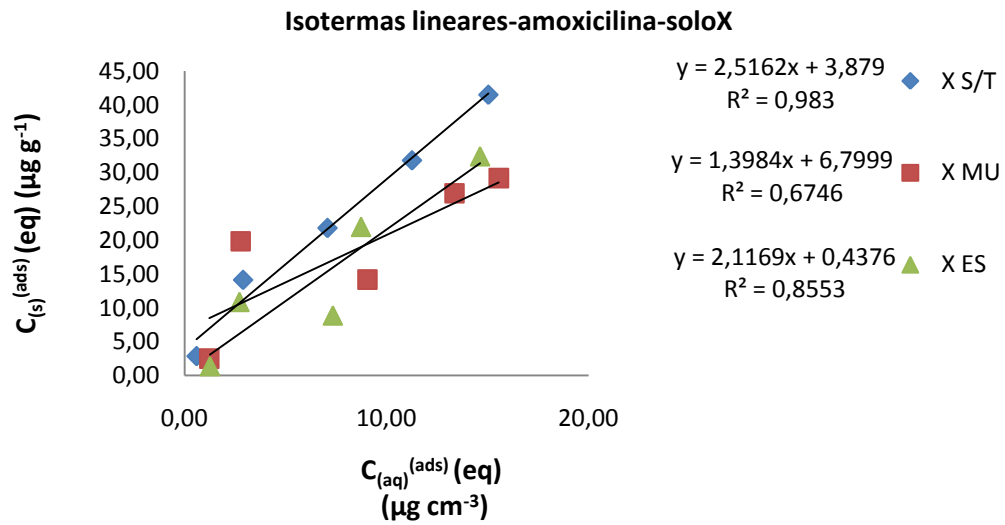


Isotermas Langmuir-Trimetropina-soloZ

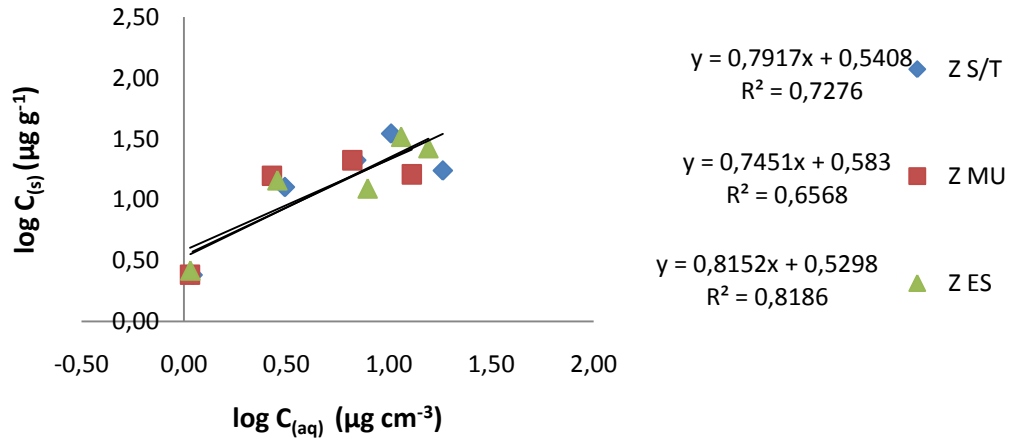




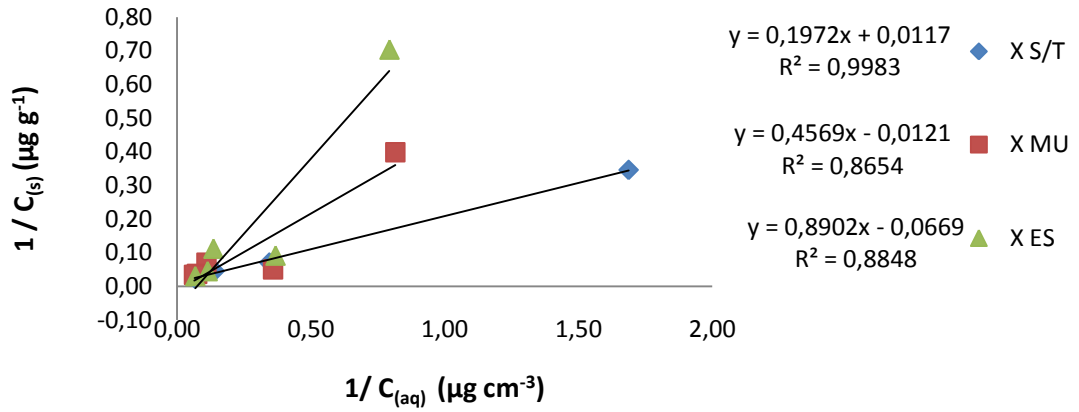




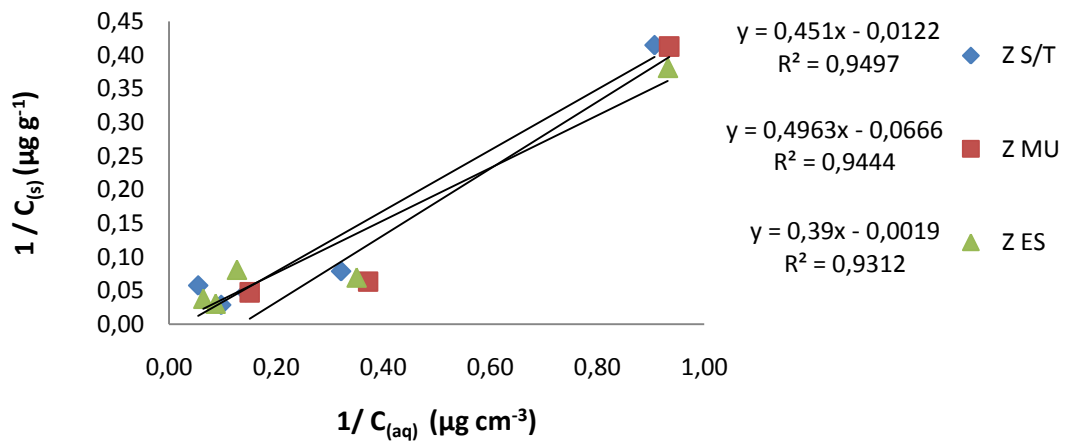
Isotermas Freundlich-Amoxicilina-soloZ

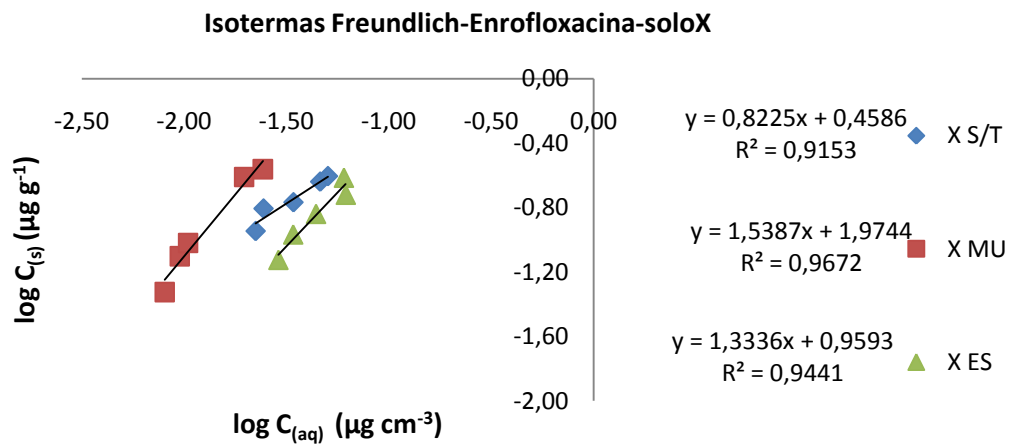
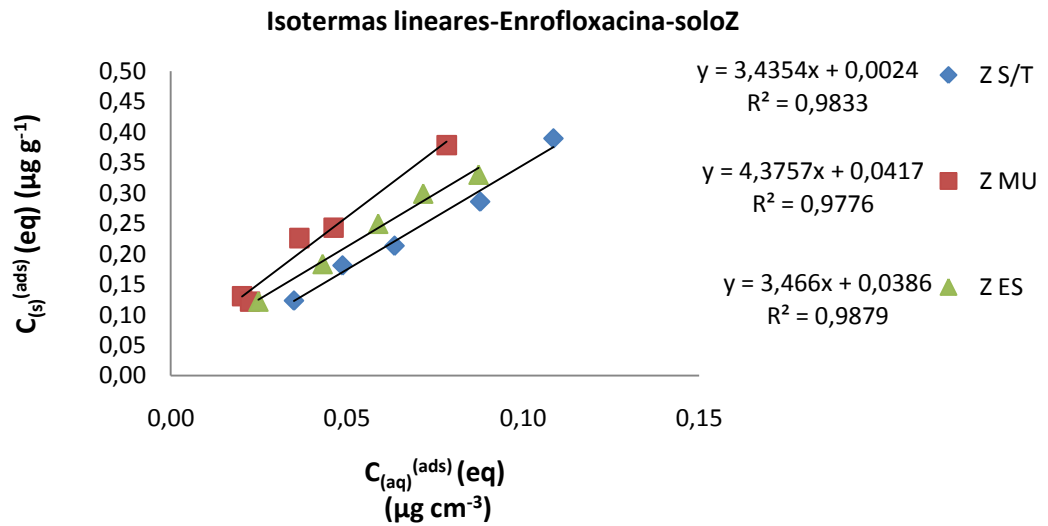
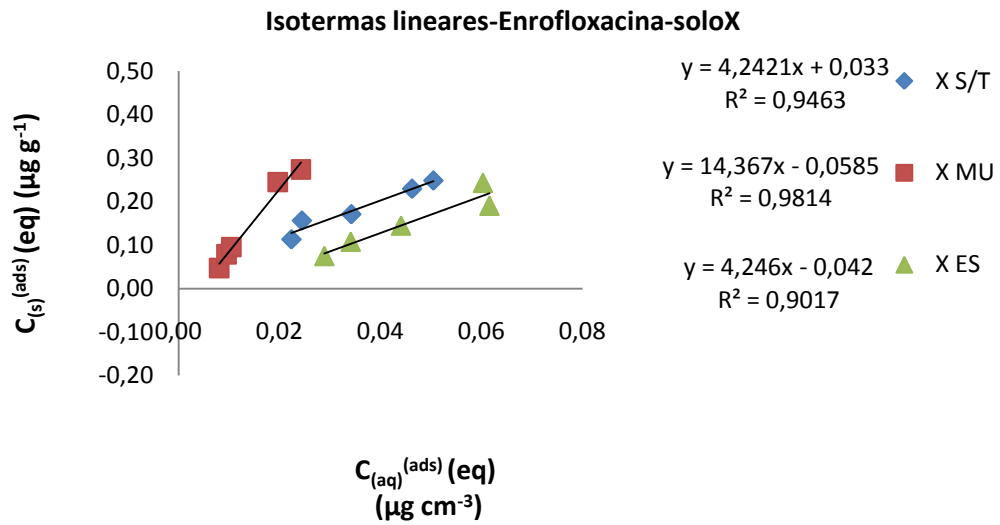


Isotermas Langmuir-Amoxicilina-soloX

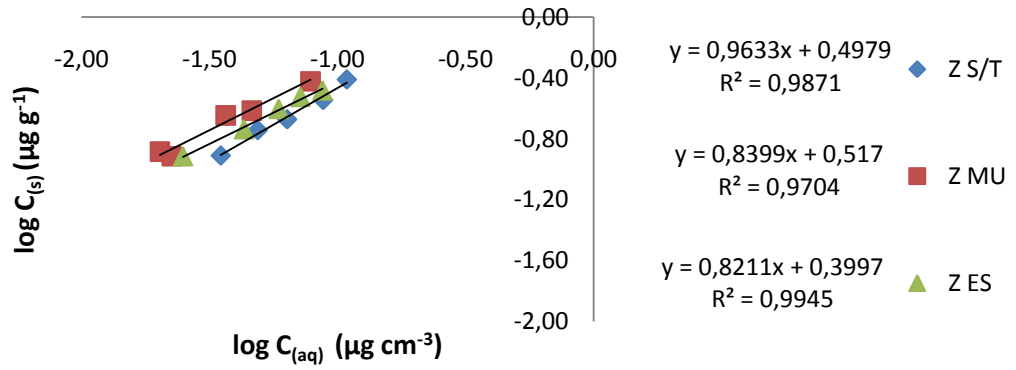


Isotermas Langmuir-Amoxicilina-soloZ

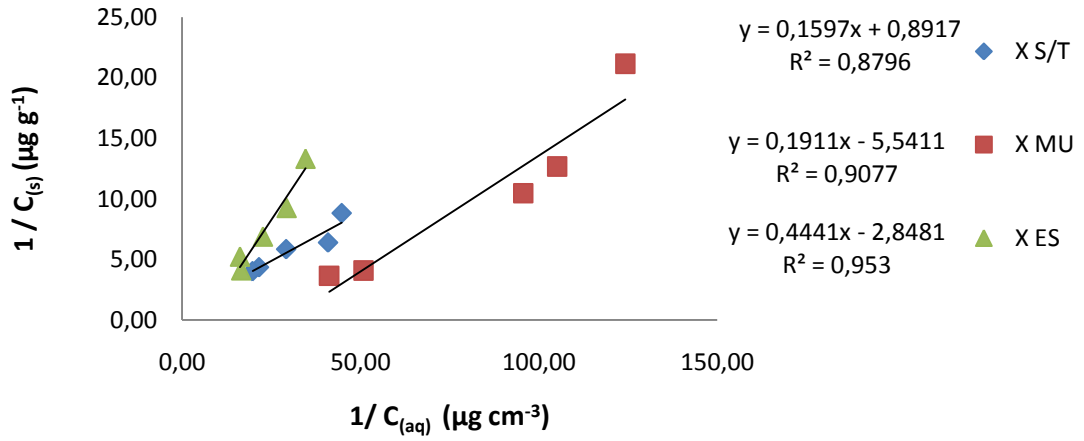




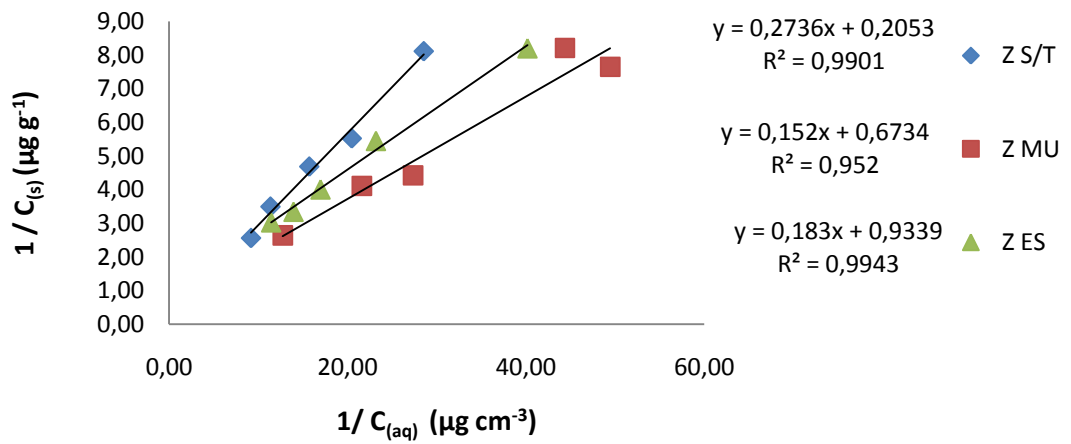
Isotermas Freundlich-Enrofloxacina-soloZ



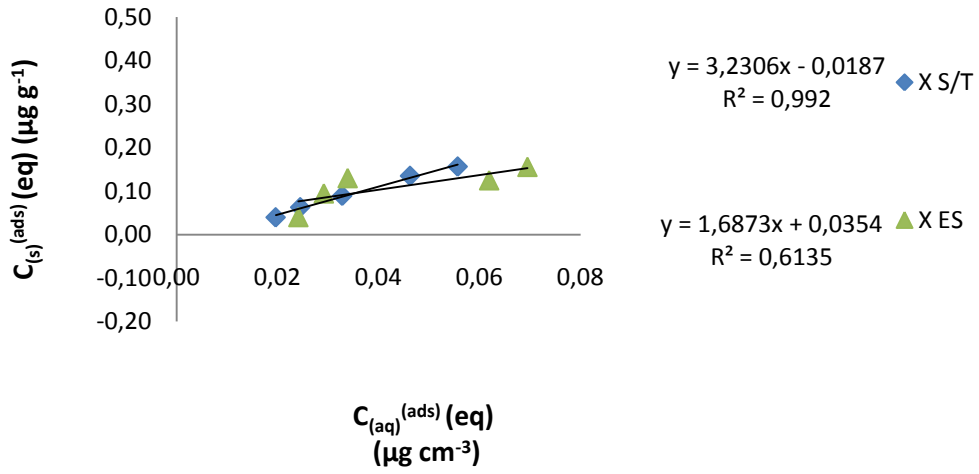
Isotermas Langmuir-Enrofloxacina-soloX



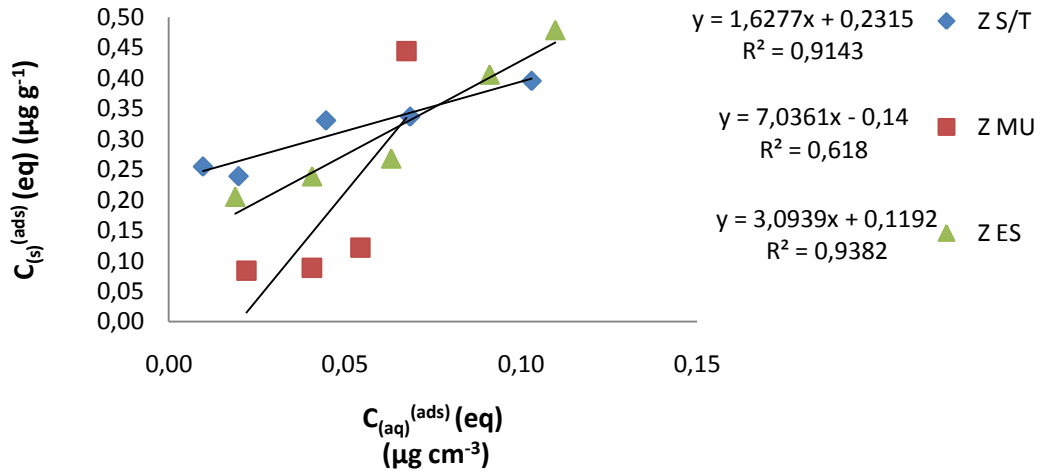
Isotermas Langmuir-Enrofloxacina-soloZ



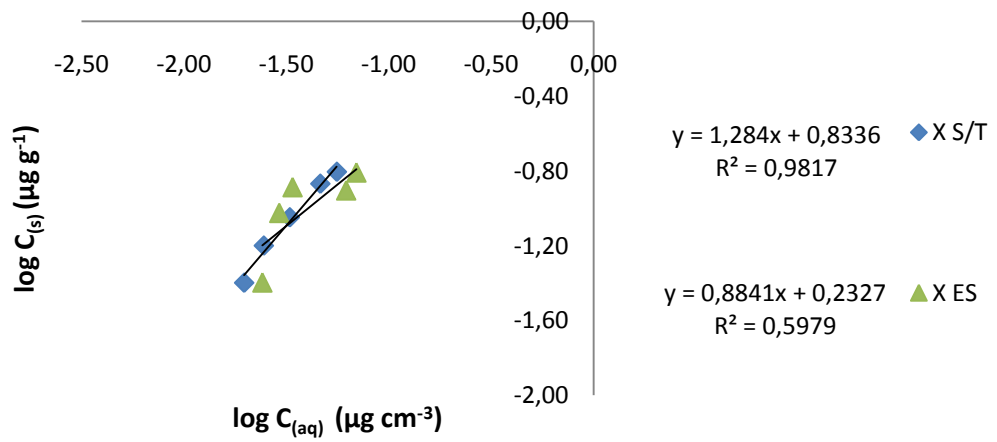
Isotermas lineares-ciprofloxacina-soloX



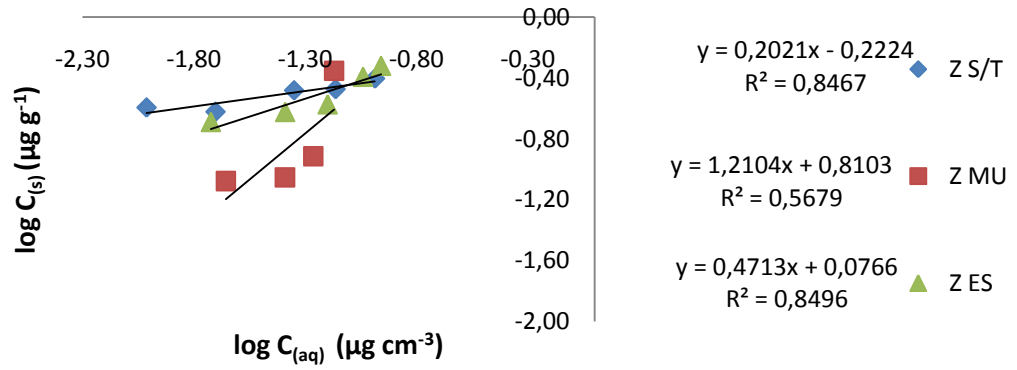
Isotermas lineares-Ciprofloxacina-soloZ



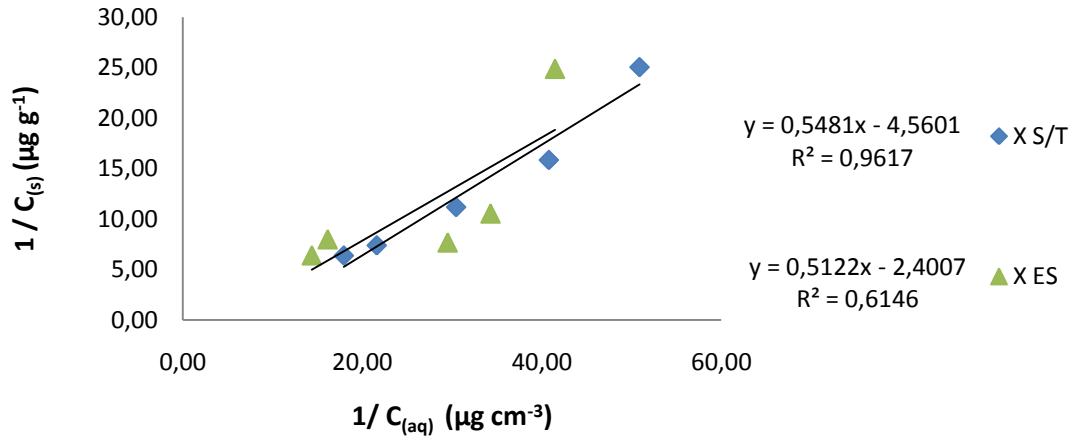
Isotermas Freundlich-Ciprofloxacina-soloX



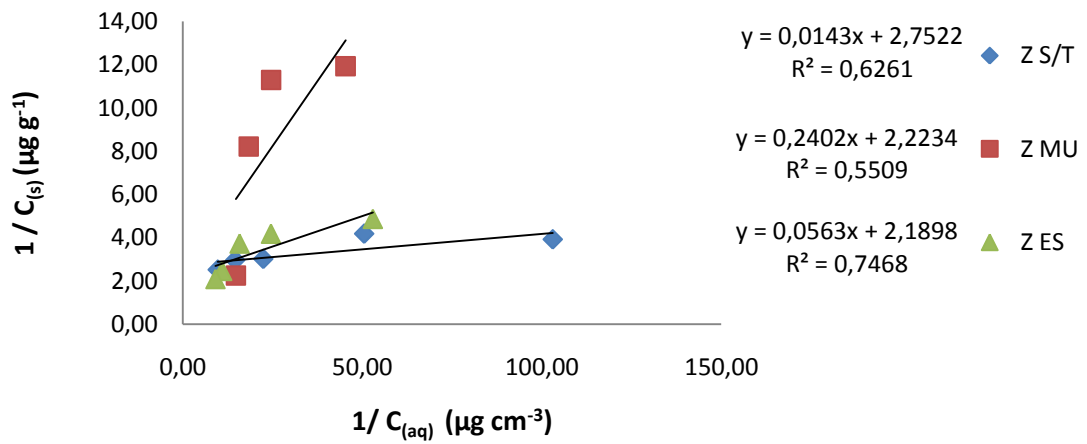
Isotermas Freundlich-Ciprofloxacina-soloZ

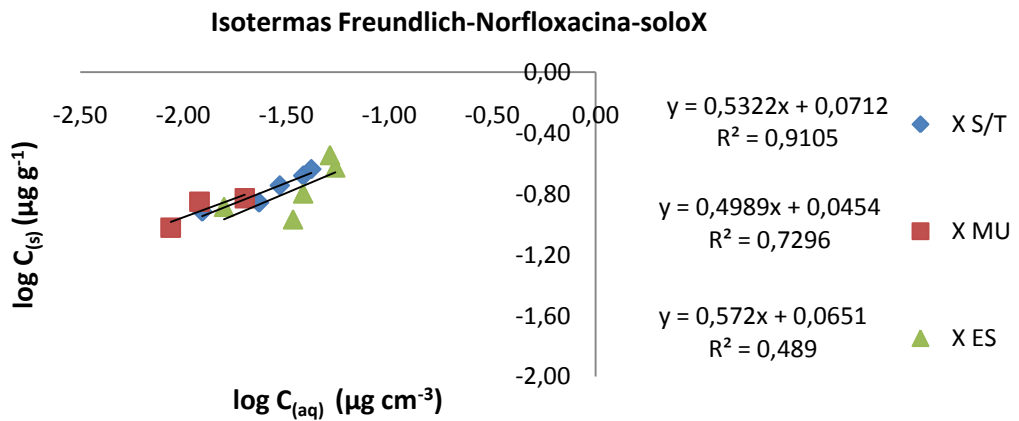
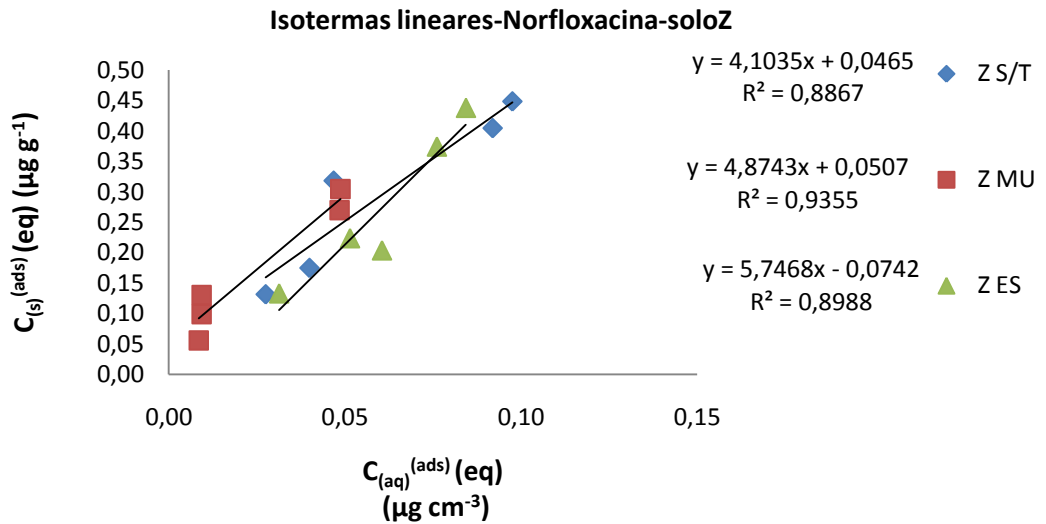
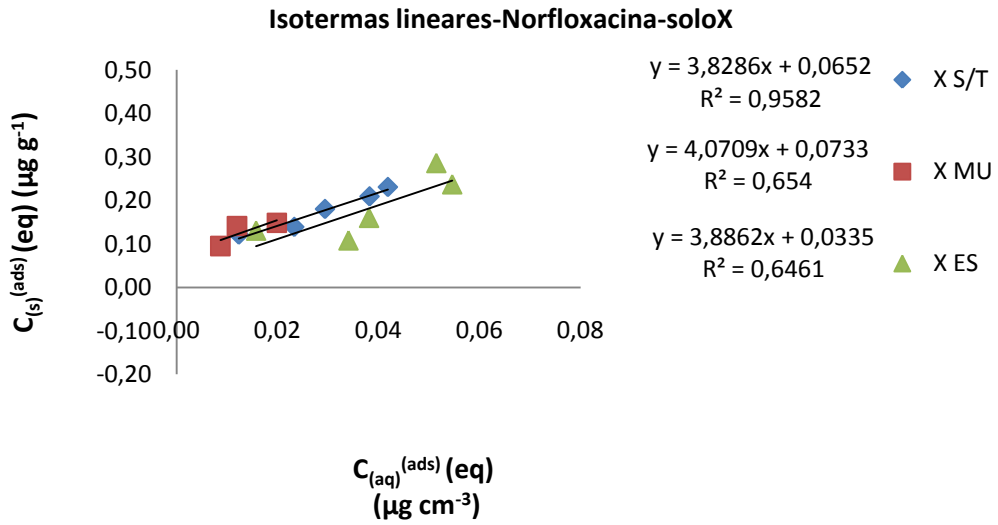


Isotermas Langmuir-Ciprofloxacina-soloX

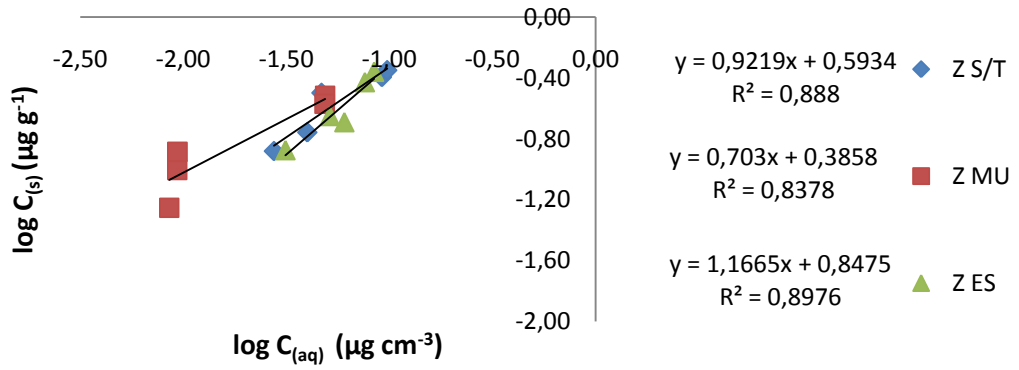


Isotermas Langmuir-Ciprofloxacina-soloZ

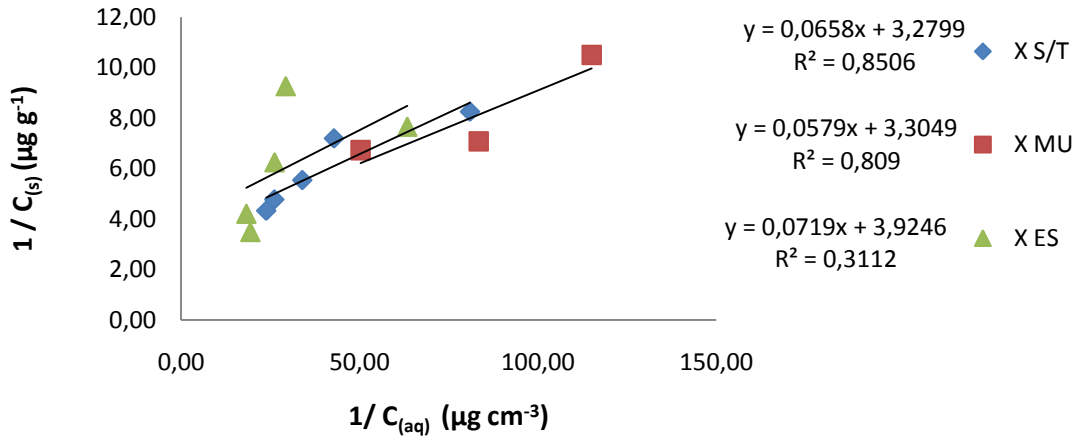




Isotermas Freundlich-Norfloxacin-soloZ



Isotermas Langmuir-norfloxacin-soloX



Isotermas Langmuir-Norfloxacin-soloZ

