

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 14/10/2021.

JOSIEL JOSÉ DA SILVA

Antibióticos na produção de etanol combustível: análise, dispersão no
meio ambiente e efeitos na biodigestão da vinhaça

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

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

Araraquara

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

S586a Silva, Josiel José da
Antibióticos na produção de etanol combustível: análise, dispersão no meio ambiente e efeitos na biodigestão da vinhaça / Josiel José da Silva. – Araraquara : [s.n.], 2021
182 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Cana-de-açúcar. 2. Etanol. 3. Cromatografia líquida de alta eficiência. 4. Espectrometria de massa. 5. Antibióticos.
I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Antibióticos na produção de etanol combustível: análise, dispersão no meio ambiente e efeitos na biodigestão da vinhaça

AUTOR: JOSIEL JOSÉ DA SILVA

ORIENTADOR: NELSON RAMOS STRADIOTTO

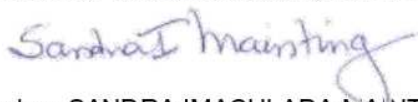
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química –
UNESP – Araraquara



Prof. Dr. PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Pesquisadora SANDRA IMACULADA MAINTINGUER (Participação Virtual)
IPBEN / Instituto de Pesquisa em Bioenergia - UNESP - Rio Claro



Prof. Dr. MARCELO ZAIAT (Participação Virtual)
Departamento de Hidráulica e Saneamento / Escola de Engenharia - USP - São Carlos



Dr. RODRIGO BARCELLOS HOFF (Participação Virtual)
Seção Laboratorial Avançada / Laboratório Nacional Agropecuário - MAPA - Porto Alegre

Araraquara, 14 de maio de 2021

DADOS CURRICULARES

Formação acadêmica:

2013 – Mestrado em Química, Instituto de Química, Unesp, Araraquara

2010 – Graduação em Química (Licenciatura), Instituto de Química, Unesp, Araraquara

Artigos completos publicados em periódicos:

DA SILVA, Josiel José et al. Identification of organic contaminants in vinasse and in soil and groundwater from fertigated sugarcane crop areas using target and suspect screening strategies. *Science of The Total Environment*, v. 761, n. 20, p. 143237, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143237>.

DA SILVA, Josiel José et al. Pressurized Liquid Extraction (PLE) and QuEChERS evaluation for the analysis of antibiotics in agricultural soils. *MethodsX*, v. 7, p. 101171, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101171>.

KIM, Joaquim Yuji Usukura et al. Efficient treatment of swimming pool water by photoelectrocatalytic ozonation: Inactivation of *Candida parapsilosis* and mineralization of Benzophenone-3 and urea. *Chemical Engineering Journal*, v. 378, n. April, p. 122094, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122094>

DA SILVA, Josiel José; PAIM, Leonardo Lataro.; STRADIOTTO, Nelson Ramos; Simultaneous determination of iron and copper in ethanol fuel using nafion/carbon nanotubes electrode. *Electroanalysis*, v. 26, n. 8, p. 1794–1800, 2014. <https://doi.org/10.1002/elan.201400136>

DOS SANTOS, Adriano et al. Determinação dos parâmetros cinéticos e termodinâmicos da adsorção de L-cisteína em ouro por meio da técnica de microbalança a cristal de quartzo. *Química Nova*, [S. l.], v. 35, n. 7, p. 1365–1368, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000700015>.

MUNIZ, E. C. et al. Synthesis and characterization of mesoporous TiO₂ nanostructured films prepared by a modified sol–gel method for application in dye solar cells. *Ceramics International*, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 1017–1024, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2010.11.014>

Capítulo de livro:

FENGA, Paula et al. Novos métodos analíticos para avaliação da qualidade do bioetanol combustível. In: LEMOS, Eliana G. M.; STRADIOTTO, Nelson Ramos (org.). *Bioenergia: Desenvolvimento, pesquisa e inovação*. São Paulo: UNESP, 2012. p. 945–978.

Trabalhos apresentados na forma de poster em eventos científicos:

- SILVA, J. J., SILVA, B. F., ZANONI, M.V.B., GROS, M., PETROVIC, M., STRADIOTTO, N. R. Antibiotics analyses in vinasse from sugarcane ethanol fuel production. In: 48th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC 2019), Milão, Itália, 16 a 20 de junho 2019
- SILVA, J. J., SILVA, B. F., ZANONI, M. V. B., STRADIOTTO, N. R., Sample preparation to antibiotics analysis in vinasse of ethanol fuel. In: 40th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry (ISEAC 40), Santiago de Compostela, Espanha, 19 a 22 de junho de 2018.
- SILVA, J. J., SILVA, B. F., ZANONI, M. V. B., STRADIOTTO, N. R. Antibiotics thermal stability and environmental risk from its use in fuel ethanol production. In: Brazilian BioEnergy Science and Technology Conference (BBEST), Campos do Jordão, 17 a 19 de outubro de 2017.
- SILVA, J.J. et al. Determinação simultânea de ferro e cobre em etanol combustível. XIX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SiBEE), 2013, Campos do Jordao, UNIFESP e UFABC.
- SILVA J. J.; PAIN, L. L.; STRADIOTTO, N. R.; Desenvolvimento de eletrodo modificado com nanotubos de carbono contendo Nafion® para determinação simultânea de ferro e cobre em etanol combustível. In: 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2012, Águas de Lindóia. Sociedade Brasileira de Química.
- SILVA, J. J. et al. Células solares sensibilizadas por corante à base de SnO₂/Al₂O₃. In: XX Congresso de iniciação científica da UNESP (CIC), 2009, São José do Rio Preto, UNESP.
- SILVA, J. J. et al. Synthesis of SnO₂ for Dye-Sensitizer Solar Cells. In: 11th International Conference on Advanced Material (ICAM), 2009, Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
- MUNIZ, E. C. et al. Thick mesoporous TiO₂ nanostructured films obtained by screen-printing for application in dye-sensitized solar cells. In: 11th International Conference on Advanced Material (ICAM), 2009, Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
- SILVA, J. J. et. al. Hydrothermal synthesis of SnO₂ suspensions for the fabrication of nanostructures. In: VII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais (SBPMat), 2008, Guarujá, Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
- SILVA, J. J. et al. Síntese sol-gel de óxido de estanho para aplicação em anodos de células solares sensibilizadas por corantes. In: XX Congresso de iniciação científica da UNESP (CIC), 2008, São José dos Campos, UNESP.

Participação em cursos:

PDPI Estatística - CDPI Pharma (Centro de Desenvolvimento Profissional Industrial), on-line, de outubro a dezembro de 2020 (30 horas).

Introdução, Operação e Troubleshooting de Sistemas de LC-MS – Teoria e Prática. Curso oferecido pela Thermo Fisher Scientifics em São Paulo, SP, de 19 a 22 de março de 2018 (32 horas)

3ª Escola de Espectrometria de Massas BrMASS realizada em Natal, RN, de 03 a 08 de dezembro de 2017 (38 horas).

VI Escola de Separações realizada na Unicamp, Campinas, SP, de 26 a 28 de julho de 2017 (13 horas).

Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE: princípios teóricos. Curso realizado na Embrapa Sudeste, São Carlos, SP, de 22 a 24 de agosto de 2016 (24 horas).

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto, pela oportunidade de realizar o doutorado sob sua orientação e pelo aprendizado durante esta jornada.

À Dra. Bianca Ferreira da Silva, por toda ajuda e aprendizado proporcionado ao longo do doutorado, em especial durante meus “primeiros passos” na área de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas e preparo de amostras.

À profa. Dra. Maria Valnice Boldrin Zanoni, pelo apoio ao projeto.

À Dra. Mira Petrovic do Instituto Catalão de Pesquisa em Água (ICRA) da Espanha, por me receber em seu grupo de pesquisa durante 11 meses de intercâmbio e proporcionar grande aprendizado e crescimento profissional.

À Dra. Meritxell Gros do ICRA, por todo apoio e aprendizado proporcionado antes durante e depois do Intercâmbio que realizei no ICRA.

Ao Dr. Pablo Ferrero-Gago do ICRA, por todo apoio e aprendizado proporcionado durante e depois do intercâmbio que realizei no ICRA.

Ao prof. Dr. Arnaldo Sarti e à Ma. Brenda Clara Gomes Rodrigues por todo apoio e aprendizado proporcionado durante a realização dos estudos de biodigestão anaeróbia deste projeto.

À Dra. Lilian Torquato, pelas análises de ácidos orgânicos voláteis e sugestões feitas durante a realização dos estudos de biodigestão anaeróbia deste projeto.

À profa. Dra. Regina Vincenzi Oliveira, pelo fornecimento da coluna RAM utilizada na SPE on-line.

Ao prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes, pelas dicas, ajudas e discussões relacionadas a LC-MS/MS durante a realização deste trabalho.

À banca do exame geral de qualificação, composta pela profa. Dra. Kelly Johana Dussán Medina e pelo prof. Dr. Arnaldo Sarti, pelas discussões e contribuições proporcionadas.

Aos colegas do GEAR (Grupo de Eletroanalítica de Araraquara) e agregados pelo bom convívio, ajudas, e trocas de experiências durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do ICRA, que me acolheram de maneira tão agradável e me proporcionaram aprendizados técnicos-científicos, aprendizados da dinâmica organizacional do ICRA, da cultura espanhola/catalã, do idioma Espanhol, e o mais valioso, a amizade.

Às usinas sucroalcooleiras que forneceram as amostras de vinhaça de lodo de reator anaeróbio utilizadas neste trabalho.

Aos moradores rurais e ao DAAE de Araraquara que forneceram amostras de solo e água subterrânea utilizadas neste trabalho.

Ao Instituto de Química da Unesp de Araraquara, pelo trabalho prestado à sociedade brasileira na formação dos novos profissionais e na condução de projetos de pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de doutorado concedida (processo 140504/2016-8) nos primeiros meses do doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelas bolsas de doutorado (processo 2016/06352-4) e de estágio de pesquisa no exterior (processo 2018/15739-5) concedidas para a realização deste trabalho.

À minha doce Flor, Carolina Gomes da Rocha. Que me acompanha a mais de uma década e compartilhou comigo os bons e maus momentos durante a realização deste trabalho sempre regados com muito amor e carinho. Obrigado pelo amor, carinho, pelos conselhos, dicas e sugestões ao longo deste trabalho.

Aos meus pais, por sempre apoiar minhas decisões, mesmo sem saber exatamente o porquê delas e que isso significasse minha ausência.

A todos e todas, aqui citados(as) e não citados(as), que contribuíram para que este trabalho se concretizasse, meu muito obrigado!

RESUMO

A vinhaça é um resíduo líquido proveniente da produção de etanol combustível a partir da cana-de-açúcar. Este resíduo tem sido utilizado há mais de 4 décadas na fertirrigação dos solos dos canaviais, sendo um aporte de água e nutrientes. Apesar da importância agrônômica e econômica desta prática, a fertirrigação pode ser uma fonte de contaminantes para o meio ambiente, especialmente com relação à antibióticos, os quais são utilizados no processo de produção do etanol. Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar possíveis riscos associados à prática da fertirrigação, do ponto de vista da dispersão de contaminantes orgânicos no meio ambiente, com maior foco em antibióticos, e avaliar o impacto da presença de antibióticos na biodigestão anaeróbia da vinhaça. Para isso, três distintas abordagens foram adotadas, sendo: i) desenvolvimento de método LC-MS/MS para a análise de antibióticos (monensina, penicilina G, virginiamicina M1, virginiamicina S1, tetraciclina e eritromicina) em vinhaça, sendo avaliadas as técnicas SPE, SALLE e SPE on-line para o preparo de amostras. ii) Análise de amostras de vinhaça, solo e água subterrânea de áreas fertirrigadas com vinhaça, por dois métodos. O primeiro, baseado em LC-MS/MS para a determinação de 32 antibióticos de múltiplas classes, sendo avaliadas as técnicas de extração QuEChERS e ELP para as amostras de solo. O segundo, baseado em análise de investigação de compostos suspeitos (*Suspect Screening*) empregando estratégias avançadas com base LC-HRMS para avaliar a presença de 7811 contaminantes, incluindo pesticidas, produtos farmacêuticos e uma ampla gama de produtos químicos industriais, entre outras substâncias. iii) Avaliação da inibição da produção de metano na biodigestão anaeróbia da vinhaça contaminada com diferentes concentrações dos antibióticos monensina, penicilina G e tetraciclina empregando reator em batelada (500 mL). Como resultado, foi verificado que as técnicas SPE, SALLE e SPE on-line mostraram-se adequadas para a extração da maioria dos analitos na vinhaça. Além disso, com o método SPE on-line-LC-MS/MS desenvolvido, foi verificado que a monensina é capaz de resistir ao processo de produção de etanol e foi detectada em uma amostra de vinhaça na concentração de $14,3 \text{ ng mL}^{-1}$. Nas análises LC-MS/MS para múltiplas classes de antibióticos não foram detectados contaminantes adicionais, sendo que as técnicas de extração QuEChERS e ELP alcançaram desempenho semelhante, com pontos positivos específicos para cada caso. As análises por LC-HRMS permitiram a identificação por tentativa de 19 contaminantes de preocupação ambiental na vinhaça, 12 no solo e 25 na água subterrânea de áreas fertirrigadas. Porém, nenhum destes compostos estão diretamente ligados à vinhaça, sendo que os resultados mostraram a existência de outras fontes potenciais de contaminação para as amostras analisadas, principalmente associadas à atividade agrícola moderna. Os estudos de biodigestão permitiram verificar que os antibióticos estudados são capazes de inibir parcialmente a produção de metano nas concentrações de 0,5 ppm para a monensina, 1,0 ppm para a tetraciclina e 0,01 ppm para a penicilina. Estes resultados indicam que a vinhaça contaminada com antibióticos pode comprometer a eficiência da produção de biogás por biodigestão anaeróbia.

Palavras-chave: Vinhaça. Etanol Combustível. Antibióticos. LC-MS/MS. Biodigestão anaeróbia.

ABSTRACT

Vinasse is a liquid residue from sugarcane ethanol fuel production. This residue has been used for more than 4 decades in the fertigation of the soil of the sugarcane fields, providing water and nutrients. Despite the agronomic and economic importance of this practice, fertigation can be a source of contaminants for the environment, especially in relation to antibiotics, which are used in the ethanol production process. Thus, the objective of this work is to evaluate possible risks associated with the practice of fertigation, from the point of view of the dispersion of organic contaminants in the environment, with a greater focus on antibiotics, and to evaluate the impact of the presence of antibiotics on anaerobic digestion of vinasse. For this, three different approaches were adopted, being: i) development of LC-MS/MS method for the analysis of antibiotics (monensin, penicillin G, virginiamycin M1, virginiamycin S1, tetracycline and erythromycin) in vinasse, being evaluated the techniques SPE, SALLE and on-line SPE for sample preparation. ii) Analysis of vinasse, soil and groundwater samples from fertigated areas with vinasse, using two methods. The first, based on LC-MS/MS for the determination of 32 antibiotics from multiple classes, being that QuEChERS and PLE extraction techniques were evaluated for soil samples preparation. The second, based on suspect screening analysis employing advanced strategies based on LC-HRMS to assess the presence of 7811 contaminants, including pesticides, pharmaceuticals and a wide range of industrial chemicals, among other substances. iii) Evaluation of the inhibition of methane production in anaerobic digestion of vinasse contaminated with different concentrations of the antibiotics monensin, penicillin G and tetracycline in a batch reactor (500 mL). As result, it was possible to verify that the SPE, SALLE and on-line SPE techniques were suitable for the extraction of most analytes in vinasse. In addition, with the developed on-line SPE-LC-MS/MS method, it was possible to verify that monensin can resist to the ethanol production process and was detected in a vinasse sample at a concentration of 14.3 ng mL^{-1} . In the LC-MS/MS analyzes for multiple classes antibiotics, no additional contaminants were detected, and the QuEChERS and PLE extraction techniques achieved similar performance, with specific positive points for each case. The analysis by LC-HRMS allowed the identification by tentative of 19 contaminants of environmental concern in the vinasse, 12 in the soil and 25 in the groundwater from fertigated areas. However, none of these compounds are causally linked to vinasse, and the results showed the existence of other potential sources of contamination for the analyzed samples, mainly associated with modern agricultural activity. The digestion experiments showed that the studied antibiotics can partially inhibit the production of methane at concentrations of 0.5 ppm for monensin, 1.0 ppm for tetracycline and 0.01 ppm for penicillin G. These results indicate that vinasse contaminated with antibiotics can compromise the efficiency of biogas production by anaerobic digestion.

Keywords: Vinasse. Ethanol Fuel. Antibiotics. LC-MS/MS. Anaerobic Digestion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição das plantas produtoras de etanol combustível no Brasil.	21
Figura 2 - Esquema resumido das etapas da produção de etanol combustível a partir da cana-de-açúcar.	24
Figura 3 - Etapas da extração em fase sólida.	30
Figura 4 - Configuração do sistema cromatográfico bidimensional empregado na SPE on-line no modo <i>back-flush</i>	32
Figura 5 - Etapas envolvidas no emprego da SALLE.	34
Figura 6 - Esquema representando as partes integrantes de equipamentos modernos de HPLC com destaque para a fase estacionária empregada na coluna cromatográfica.	37
Figura 7 - Cromatograma genérico para as substâncias X, Y e Z.	39
Figura 8 - Partes principais de um espectrômetro de massas.	40
Figura 9 - Processo de ionização por <i>electrospray</i>	41
Figura 10 - Caminho percorrido por uma molécula e sequência de eventos em um LC-MS/MS.	43
Figura 11 - Espectro de massas em <i>full scan</i> obtido por ESI(+) do antibiótico virginiamicina S1.	56
Figura 12 - Intensidade de sinal obtida em cada nível dos parâmetros estudados. (n=3).	58
Figura 13 - Cromatograma obtido no primeiro gradiente exploratório gradiente.	59
Figura 14 - Cromatogramas de íons extraídos para cada analito empregando a coluna PFP Kinetex®.	61
Figura 15 - Cromatogramas de íons extraídos para cada analito empregando a coluna fenil-hexil Luna®.	62
Figura 16 - Efeito da concentração de PFPA na área do pico cromatográfico. (Analitos em 450 ng mL ⁻¹ para a estreptomicina e 150 ng mL ⁻¹ para os demais. n=2).	64
Figura 17 - Cromatogramas obtidos empregando 10 mmol L ⁻¹ de PFPA na fase móvel. (concentração dos analitos de 450 ng mL ⁻¹ para a estreptomicina e 150 ng mL ⁻¹ para os demais).	64
Figura 18 - Comparação da área de pico dos analito utilizando os métodos sem pareamento iônico.	66
Figura 19 - Cromatograma no modo EMS obtido da solução de virginiamicina M1 submetida às condições da destilação por diferentes tempos.	68

Figura 20 - Espectro de massas referentes aos picos da virginiamicina M1 e aos produtos gerados.....	69
Figura 21 - Cromatograma em varredura de íons (EMS) da solução de monensina sem passar por aquecimento (t = 0) e após 3,0 h em ebulição.....	71
Figura 22 - Espectros de massas referentes aos picos cromatográficos observados nos cromatogramas da Figura 21.	72
Figura 23 - Cromatograma no modo EMS da alíquota em t = 0 e em t = 1 h.	73
Figura 24 - Espectro de massas referentes aos picos da penicilina (t _R = 6,79 min) em A, ao produto 1 (t _R = 4,20 min) em B, ao produto 2 (t _R = 4,99 min) em C.....	74
Figura 25 - Cromatograma no modo EMS da solução de eritromicina antes e após 3,0 h em ebulição.....	75
Figura 26 - Espectro de massas referente ao pico da eritromicina e aos produtos gerados. A) eritromicina em t _R = 7,25 min, B) produto 1 (t _R = 8,69 min), C) produto 2 (t _R = 9,02 min), D) produto 3 (t _R = 9,29 min) e E) produto 4 (t _R = 9,60 min).	76
Figura 27 - Vinhaça bruta (5 mL) sem (esquerda) e com a adição de 1,8 g de (NH ₄) ₂ SO ₄ e incubação por 30 min a ~1,0 °C (direita).	78
Figura 28 - SPE realizada com soluções de limpeza contendo 20, 40, 60, 80 e 100% de metanol (da esquerda para direita). Em A: 10 mL de vinhaça diluída 2x. Em B: cartuchos HLB após passagem da vinhaça. Em C: após diferentes soluções de limpeza. Em D: eluato obtido com 7 mL de metanol. Em E: eluato após secagem e redissolução em 1 mL contendo 15% de ACN em água.	79
Figura 29 - Recuperação obtida para cada antibiótico em diferentes soluções de limpeza no SPE.	80
Figura 30 - Recuperação obtida em diferentes pHs utilizando o cartucho HLB Supel™-Select.	81
Figura 31 - Eluatos obtidos com amostras no pHs 5,5; 4,0 e 2,6 (da esquerda para direita).....	82
Figura 32 - Efeito da adição de EDTA na recuperação dos analitos.	83
Figura 33 - Recuperação obtida empregando soluções de limpeza contendo 0,1% de ácido fórmico, 0,1% de hidróxido de amônio e sem a adição de aditivo.	83
Figura 34 - Recuperação obtida empregando soluções de limpeza contendo 60, 50 e 40% de metanol em água.	84

Figura 35 - Recuperação obtida com cartuchos de extração HLB Supel™-Select, HLB Oasis®, Strata™-X e Strata™ C18-E. n = 2.	85
Figura 36 - Cromatogramas de íons extraídos de cada analito obtidos em vinhaça fortificada.....	86
Figura 37 - SALLE empregando como solventes extratores acetonitrila, etanol e isopropanol.	87
Figura 38 - Recuperação obtida (esquerda) e separação de fase após centrifugação (direita) empregando SALLE. n = 3.....	88
Figura 39 - Recuperação dos analitos empregando diferentes proporções de acetonitrila:vinhaça.....	89
Figura 40 - Efeito matriz para os analitos utilizando diferentes proporções solvente extrator:amostra.	90
Figura 41 - Área de pico normalizada para cada analito nas diferentes proporções extrator:amostra.	90
Figura 42 - Recuperação para cada analito nos diferentes valores de pH. (n = 3).	91
Figura 43 - Efeito matriz observado para cada analito nos diferentes valores de pH. .	92
Figura 44 - Cromatogramas de íons extraídos para tetraciclina e anidrotetraciclina em diferentes pHs.	93
Figura 45 - Cromatogramas de íons extraídos para cada analito em pH 6,0.	94
Figura 46 - Cromatograma obtido com as colunas HLB Oasis®, em A, e RAM, em B.	95
Figura 47 - Área de pico normalizada obtida para cada analito com diferentes colunas de extração.....	96
Figura 48 - Cromatogramas obtidos na análise de uma amostra de vinhaça fortificada com 130,0 ng mL ⁻¹ dos analitos utilizando SPE on-line com coluna RAM.....	97
Figura 49 - Curva de adição de padrão e cromatograma obtido na análise de monensina em amostra de vinhaça.	101
Figura 50 - Espectro de massas de baixa resolução (MS/MS) vs alta resolução (QTOF) para tetraciclina.....	107
Figura 51 - Comparação dos resultados de recuperação obtidos por ELP (n=2) e QuEChERS (n=3).....	125
Figura 52 - Etapas do processo de identificação e número de suspeitos detectados após cada etapa em cada matriz.	130

Figura 53 - Identificação do carbendazim nas amostras de solo: a) cromatograma de íons extraídos (XIC) para o correspondente $[M+H]^+$ (± 2 mDa); b) espectro de massas contendo o correspondente $[M+H]^+$; c) XIC para o fragmento qualificador (m/z 160.0499) em alta energia de colisão (35eV) e o respectivo espectro de massas em d. e) Espectro de MS^2 do carbendazim obtido do MassBank (registro UF405003).	133
Figura 54 - Distribuição dos compostos detectados nas matrizes.	134
Figura 55 - Representação simplificada das etapas da biodigestão anaeróbia levando à formação de CH_4	148
Figura 56 - Sistema utilizado nos testes de AME.	150
Figura 57 - Biodigestão preliminar: volume deslocado em função do tempo.	154
Figura 58 - Definição do V_0 , curva corrigida da produção de metano em função do tempo e taxa máxima de produção de metano.	154
Figura 59 - Volume de metano produzido em função do tempo para os estudos com monensina.	157
Figura 60 - Volume de metano produzido em função do tempo para os estudos com tetraciclina.	158
Figura 61 - Volume de metano produzido em função do tempo para os estudos com penicilina.	159
Figura 62 - Decaimento da área de pico cromatográfico referente a cada antibióticos durante a biodigestão.	160

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros otimizados para detecção por MS.....	45
Tabela 2 - Parâmetros da fonte de ionização otimizados.	45
Tabela 3 - Programa de solvente utilizado com as diferentes colunas estudadas.....	46
Tabela 4 - Programa de solvente empregado no estudo da concentração de PFFA na fase móvel.	47
Tabela 5 - Programa de solvente empregado para virginiamicina M1, penicilina G, monensina e eritromicina. (A = água com 0,1% de ácido fórmico e B = acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico).....	48
Tabela 6 - Programa de solvente e posições das válvulas da extração e de desvio utilizados no método com extração em fase sólida <i>on-line</i>	54
Tabela 7 - Valores obtidos na otimização da detecção de cada analito.....	57
Tabela 8 - Valores obtidos na otimização dos parâmetros da fonte de ionização.	58
Tabela 9 - Limites de detecção e quantificação obtidos para os analitos estudados. ...	98
Tabela 10 - Dados obtidos para faixa linear, equação da reta e coeficiente de determinação no estudo de linearidade.....	99
Tabela 11 - Abundância relativa das transições monitoradas para cada analito obtida em solvente e em amostra fortificada. n = 5.....	100
Tabela 12 - Recuperação e repetibilidade obtida por adição de padrão (AP) ou padrão interno (PI).....	101
Tabela 13 - Lista dos analitos e respectivos ILIS utilizados no trabalho.	110
Tabela 14 - Localização dos pontos de coletas, fonte de água e tipo de solo nas áreas de coleta.....	112
Tabela 15 - Diferentes testes realizados utilizando a técnica de extração ELP.....	113
Tabela 16 - Solventes e sais empregados na otimização das extrações por QuEChERS.	114
Tabela 17 - Tempo de retenção (t_R) para a detecção por <i>Scheduled</i> MRM, íons precursores e transições monitoradas dos analitos.	117
Tabela 18 - Recuperação obtida para cada analitos nos diferentes testes realizados com ELP.....	122
Tabela 19 - Recuperação obtida para cada analitos nos diferentes testes empregando QuEChERS.....	124
Tabela 20 - Parâmetros da validação para água subterrânea. n=3.	127

Tabela 21 - Parâmetros da validação para solo. n=3.	128
Tabela 22 - Detalhes dos compostos identificados por tentativa na vinhaça, nível de confiança 3 (<i>tentative candidate</i>) (SCHYMANSKI <i>et al.</i> , 2014).	137
Tabela 23 - Detalhes dos compostos identificados por tentativa no solo, nível de confiança 3 (<i>tentative candidate</i>) (SCHYMANSKI <i>et al.</i> , 2014).	141
Tabela 24 - Detalhes dos compostos identificados por tentativa em água subterrânea, nível de confiança 3 (<i>tentative candidate</i>) (SCHYMANSKI <i>et al.</i> , 2014).....	142
Tabela 25 - Propriedades físico-químicas dos compostos detectados no solo (CHEMICALBOOK, 2020; CHEMSPIDER, 2020; KIM <i>et al.</i> , 2019b; WISHART <i>et al.</i> , 2018).	144
Tabela 26 - Propriedades físico-químicas dos compostos detectados na água subterrânea (CHEMICALBOOK, 2020; CHEMSPIDER, 2020; KIM <i>et al.</i> , 2019b; WISHART <i>et al.</i> , 2018).	145
Tabela 27 - Concentrações de antibióticos estudadas.....	152
Tabela 28 - Taxa máxima de produção de metano (mL h ⁻¹) na ausência e na presença de diferentes concentrações de antibióticos.	155
Tabela 29 - Tempo gasto pelo sistema para iniciar a produção de metano (T ₀) nas biodigestões realizadas sem antibióticos e com antibióticos.....	157

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABP - Ácido benzilpenicilóico.
- ACN - Acetonitrila
- ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.
- ATC - Anidrotetraciclina
- CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência.
- CLAE-FR - Cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa.
- DIA - Aquisição independente de dados (do inglês *Data Independent Aquisition*).
- DSFP - *Norman Digital Sample Freezing Platform*.
- DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio.
- DQO - Demanda Química de Oxigênio.
- ELP - Extração por líquido pressurizado.
- EM - Efeito matriz
- EM - Espectrometria de massas.
- EMS - *Enhanced Mass Spectrometry*
- EPI - *Enhanced Product Ions*
- Eri - Eritromicina
- ESI - Ionização por *electrospray*.
- ESI(-) - Ionização por *electrospray* no modo negativo.
- ESI(+)- Ionização por *electrospray* no modo positivo.
- FD - Frequência de detecção.
- FIA - Análise por injeção em fluxo (do inglês *flow injection analysis*).
- FT-ICR - Analisador de massas por ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier (do inglês *Fourier-transform ion cyclotron resonance*).
- HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*.
- ILIS - Padrão interno isotopicamente marcado (do inglês *Isotopically Labelled Internal Standards*).
- LC-HRMS - Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (do inglês *Liquid Chromatography coupled to High Resolution Mass Spectrometry*).
- LC-MS - Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (do inglês *Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry*).
- LC-MS/MS - Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem.
- LD - Limite de detecção

LIT - Armadilha de íons linear (do inglês *Linear Ion Trap*).

LQ - Limite de Quantificação

m/z - razão massa carga.

MeOH - Metanol

Mon - Monensina

MRM - Monitoramento das reações múltiplas (do inglês *Multiple Reactions Monitoring*)

MS - *Mass spectrometry*.

Pen - Penicilina G

PFPA - Ácido pentafluoropropiônico (do inglês *pentafluoropropionic acid*).

PI - Íons produto (do inglês *Product ions*)

Q - Analisador de massas quadruplo linear

q - Célula de colisão quadrupolar.

QIT - Armadilha de íons de Paul (QIT do inglês *Quadrupole ion Trap*).

QuEChERS - Acrônimo para *quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*.

RAM - Material de acesso restrito (do inglês *Restricted Access Material*)

SALLE - Extração líquido-líquido assistida pelo efeito *salting-out* (do inglês *Salting-out Assisted Liquid-Liquid Extraction*).

SPE - Extração em fase sólida (do inglês *Solid Phase Extraction*).

SPE on-line - Extração em fase sólida on-line.

ST - Sólidos totais.

STP - Estreptomicina

SVT - Sólidos voláteis totais.

T₀ - Tempo gasto pelo sistema para iniciar a produção de metano (T₀).

TC - Tetraciclina.

TOF - Analisador de massas por tempo de voo (do inglês *Time-of-Flight*)

UHPLC - Ultra High Performance Liquid Chromatography.

VM - Virginiamicina M1

VS - Virginiamicina S1

SUMÁRIO

Introdução	21
Objetivos	27
Capítulo 1: Desenvolvimento de Método Analítico para Determinação de Antibióticos em Vinhaça Empregando LC-MS/MS.....	28
1.1 Introdução.....	28
1.1.1 Técnicas de Preparo de Amostra para Análise de Contaminantes de Preocupação Ambiental	29
1.1.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	34
1.2 Objetivo.....	43
1.3 Materiais e Métodos	43
1.3.1 Preparo das Soluções dos Analitos.	44
1.3.2 Otimização da Detecção por Espectrometria de Massas.....	44
1.3.3 Otimização dos Parâmetros da Fonte de Ionização.....	45
1.3.4 Otimização da Separação Cromatográfica	45
1.3.5 Separação Cromatográfica sem Pareamento Iônico.....	46
1.3.6 Separação Empregando Pareamento Iônico com PFFA	46
1.3.7 Estabilidade Térmica dos Antibióticos na Condição Térmica da Destilação	47
1.3.8 Preparo de Amostra.....	48
1.3.9 Validação do Método Analítico	54
1.4 Resultados e Discussões.....	55
1.4.1 Otimização da Detecção por Espectrometria de Massas.....	55
1.4.2 Otimização dos Parâmetros da Fonte de Ionização.....	57
1.4.3 Otimização da Separação Cromatográfica	58
1.4.4 Estudo da Estabilidade Térmica dos Antibióticos	66
1.4.5 Otimização do Preparo de Amostra	76
1.4.6 Validação no Método Analítico	97
1.4.7 Análise das Amostras de Vinhaça.....	101

1.5	Conclusões.....	102
Capítulo 2: Avaliação da Contaminação da Vinhaça, Solo e Água Subterrânea de Áreas Fertilizadas com Vinhaça Empregando Abordagem Alvo e Investigação de Compostos Suspeitos		
		103
2.1	Introdução.....	103
2.1.1	Preparo de Amostra Empregando ELP	104
2.1.2	Preparo de Amostra Empregando QuEChERS	105
2.1.3	Investigação de Compostos Suspeitos Empregando LC-HRMS	106
2.2	Objetivo	108
2.3	Materiais e Métodos	109
2.3.1	Reagentes	109
2.3.2	Coleta das Amostras de Água Subterrânea, Solo e Vinhaça.....	111
2.3.3	Otimização do Preparo das Amostras de Solo	112
2.3.4	Preparo de Amostras para as Análises de Água Subterrânea e Vinhaça....	114
2.3.5	Análises Cromatográficas	115
2.3.6	Avaliação da Performance dos Métodos Analíticos	118
2.3.7	Processamento dos Dados de HRMS.....	119
2.4	Resultados e Discussões.....	120
2.4.1	Análises Quantitativas por UHPLC-QqLIT.....	120
2.4.2	Análises Qualitativas por LC-HRMS.....	129
2.5	Conclusão	146
Capítulo 3: Avaliação da Inibição da Biodigestão Anaeróbia da Vinhaça por Antibióticos Utilizados na Produção de Etanol Combustível.....		
		147
3.1	Introdução.....	147
3.2	Objetivo	151
3.3	Materiais e Métodos	151
3.3.1	Testes de Biodigestão Anaeróbia	151

3.3.2 Análises Cromatográficas	153
3.4 Resultado e Discussões	153
3.4.1 Avaliação da Inibição do Processo de Biodigestão por Antibióticos	155
3.4.2 Monitoramento dos antibióticos durante a biodigestão	160
3.5 Conclusão	161
Conclusão Geral e Perspectivas Futuras.....	162
Referências Bibliográficas.....	163

Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de etanol combustível, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América. Em 12/10/2020 havia no Brasil 362 usinas produtoras de etanol combustível autorizadas pela ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) para atuação no mercado do etanol combustível (ANP, 2020a). A maioria destas usinas são complexos industriais mistos, capazes de produzir tanto etanol quanto açúcar. Toda esta infraestrutura tem sua origem impulsionada pelo Programa Nacional do Álcool (Proálcool) na década de 70 (AMORIM *et al.*, 2011) e está concentrada na região centro-sul e nordeste do país, **Figura 1**, sendo responsável por uma produção total de 35,6 bilhões de litros de etanol e 224,5 milhões de toneladas de açúcar na safra 2019/2020 (CONAB, 2020). Vale destacar que no ano de 2019 a quantidade de gasolina comum (gasolina com adição de etanol) vendida no país foi de 38,2 bilhões de litros (ANP, 2020b). Desta forma, fica evidente a importância deste setor na composição da matriz energética brasileira como um setor estratégico em termos energético e econômico.

Figura 1 - Distribuição das plantas produtoras de etanol combustível no Brasil.



Fonte: ANP (ANP, 2020c).

Para a produção do etanol combustível no Brasil é utilizada como matéria prima principalmente a cana-de-açúcar. Nos últimos anos, uma área de aproximadamente 8,4 milhões de hectares tem sido dedicada a esta cultura (CONAB, 2020). A cana-de-açúcar apresenta em sua composição de 10-17% de sacarose, principal carboidrato que é fermentado e convertido

em etanol. Entre as principais matérias-primas utilizadas mundialmente para a produção de etanol combustível, a cana-de-açúcar se destaca no Brasil e o milho nos Estados Unidos da América (NOGUEIRA *et al.*, 2008). O etanol é um combustível renovável que tem grande destaque na diminuição da emissão de gases de efeito estufa, quando comparado aos combustíveis fósseis. Esta característica é mais marcante para o etanol oriundo da cana-de-açúcar e, no cenário atual, este combustível constitui uma alternativa para amenizar os efeitos nocivos da queima de combustíveis fósseis (SADEGHINEZHAD *et al.*, 2014).

O uso do etanol combustível, ao invés da gasolina, em veículos com motores de ciclo Otto, contribui com uma redução de emissão de 71% dos gases de efeito estufa, comparado com a gasolina (2009/28/EC, 2009), embora este ganho na redução da emissão tenha sido questionado, devido a diferentes metodologias aplicadas na análise e falta de transparência no dados utilizados (BICALHO; SAUER; PATIÑO-ECHEVERRI, 2019; DE SOUZA DIAS *et al.*, 2015). Da mesma maneira, o uso de misturas gasolina-etanol (~25% de etanol) também traz vantagens ambientais pois permitem abolir o uso de aditivos para melhoramento da octanagem como o MTBE (do inglês *methyl tert-butyl ether*) cujo impacto negativo no meio ambiente devido à contaminação de águas subterrâneas já foi verificado (FACETTI *et al.*, 2019).

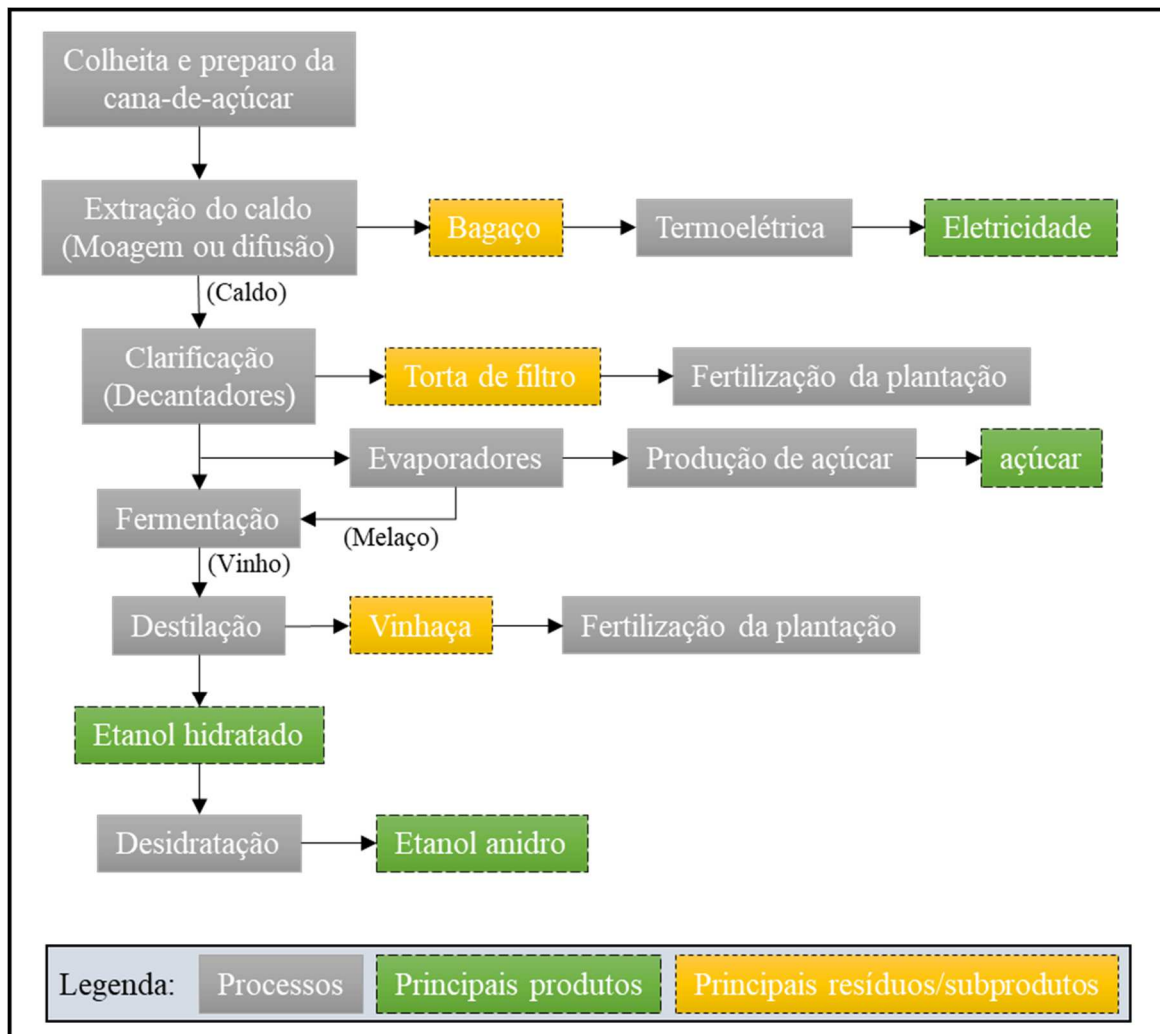
Embora o uso de etanol combustível apresente vantagens ambientais em relação aos combustíveis de origem fóssil, um complexo agroindustrial do porte deste setor também impõe novos desafios ambientais a serem superados, como por exemplo, a gestão dos resíduos gerados. Resumidamente, as etapas industriais envolvidas na produção do etanol combustível estão descritas abaixo (AMORIM *et al.*, 2011; NOGUEIRA *et al.*, 2008) e esquematizadas na

Figura 2:

- 1) **Extração do caldo da cana:** esta etapa é realizada por moagem ou empregando difusores, extraíndo o caldo de cana e gerando uma grande quantidade de bagaço de cana. O caldo de cana extraído pode ser utilizado tanto para a produção de etanol quanto de açúcar.
- 2) **Clarificação do caldo:** o caldo é submetido a tratamento químico para coagulação, floculação e precipitação das impurezas e decantação/filtração para remoção dos sólidos. Como resultado, tem-se um caldo com menor quantidade de sólidos e a torta de filtro, que é o montante de sólido removido.

- 3) **Evaporação:** o caldo de cana tratado, quando destinado à produção de açúcar, é concentrado em evaporadores e cozedores para a cristalização do açúcar. Deste processo, resulta ainda o melaço (ou mel), solução residual rica em açúcar.
- 4) **Fermentação:** o caldo de cana clarificado, ou o melaço diluído resultante da produção de açúcar, ou uma mistura dos dois (o mosto) é fermentada por leveduras produzindo o “vinho” com uma porcentagem de etanol na faixa de 8-9%. Após finalizada a fermentação, as leveduras são recuperadas por centrifugação e tratadas para serem empregadas em uma próxima batelada de fermentação. Já o vinho, é levado para a coluna de destilação.
- 5) **Destilação:** nesta etapa o etanol é separado do “vinho” produzindo o etanol hidratado com aproximadamente 96% (v/v) de etanol e vinhaça (ou vinhoto) na proporção aproximada de 1 L de etanol para 12 L de vinhaça. O etanol hidratado pode ser o produto final, que é empregado diretamente como combustível, concorrendo com a gasolina, ou pode ser submetido a desidratação.
- 6) **Desidratação:** o etanol hidratado é enviado para colunas de desidratação para a remoção de água, produzindo o etanol anidro com aproximadamente 99,7% (v/v) de etanol.

Figura 2 - Esquema resumido das etapas da produção de etanol combustível a partir da cana-de-açúcar.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Como pode ser visto na **Figura 2**, os principais resíduos gerados na produção de etanol combustível a partir na cana de açúcar são a torta de filtro, o bagaço e a vinhaça. Estes resíduos são, na verdade, subprodutos, sendo reaproveitados e empregados na cadeia produtiva como matérias-primas para outros fins. No caso da torta de filtro e da vinhaça, estas são empregadas na fertilização do solo do canavial, diminuindo a demanda por fertilizantes minerais, além de diminuir a demanda por irrigação, no caso da vinhaça. Já o bagaço é utilizado para queima no sistema termoelétrico para geração de energia elétrica e térmica, as quais são utilizadas no próprio processo de produção do etanol, sendo que o excedente de energia elétrica é vendido para o sistema de energia elétrica brasileiro (NOGUEIRA *et al.*, 2008).

Entre os resíduos gerados, a vinhaça é o resíduo que enfrenta o maior desafio para a sua adequada destinação. Neste caso, a adequada destinação envolve o reaproveitamento da vinhaça gerando o menor impacto possível e geração de receita. A vinhaça é um resíduo líquido,

proveniente da etapa de destilação na produção de etanol. Sua composição é variável, contendo elevada carga de matéria orgânica e minerais como potássio, nitrogênio, fosfato e água, fazendo desta uma ótima fonte de nutrientes e água para o solo das plantações de cana-de-açúcar (BORDONAL *et al.*, 2018), justificando assim seu emprego na fertirrigação dos canaviais. Atualmente, a fertirrigação dos canaviais com vinhaça é a prática mais empregada como destinação final da vinhaça gerada (MORAES *et al.*, 2014). Desta forma, tendo como referência a produção de etanol da safra 2019/2020 e a proporção de 12 L de vinhaça para 1 L de etanol produzido (AMORIM *et al.*, 2011), um montante de aproximadamente 400 bilhões de litros de vinhaça são reaproveitados anualmente por meio da fertirrigação.

Tendo como base o volume de vinhaça que é reaproveitado anualmente por meio da fertirrigação, diversas são as preocupações relacionadas com esta prática. Entre estas estão a possibilidade de salinização do solo (FUESS; GARCIA, 2014), aumento na emissão de gases de efeito estufa (N_2O e CH_4) (OLIVEIRA *et al.*, 2013, 2015) e contaminação de águas subterrâneas (GONZÁLEZ; MEJÍA, 2015). Desta forma, estes temas têm sido foco de pesquisa com o intuito de conhecer os impactos ambientais relacionados a fertirrigação com vinhaça. Além disso, a possibilidade da vinhaça ser uma fonte de dispersão de antibióticos para o meio ambiente tem chamado a atenção recentemente (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015; SULEIMAN *et al.*, 2018). O uso de antibióticos na produção de etanol se dá na etapa de fermentação, sempre que os níveis de contaminação com bactérias colocam em risco a produtividade das leveduras responsáveis pela conversão do açúcar em etanol. Desta forma, a contaminação pode ser eliminada e a produtividade mantida (AMORIM *et al.*, 2011).

A dispersão de antibióticos no ambiente traz a preocupação relacionada ao aumento dos microrganismos resistentes a antibióticos (MARTI; VARIATZA; BALCAZAR, 2014). Antibióticos e genes responsáveis pela resistência podem alcançar os solos, as águas superficiais e subterrâneas por diferentes vias. A migração de substâncias entre os diferentes compartimentos ambientais depende de propriedades físico-químicas de cada molécula, as quais podem guiar processos importantes como solubilidade, sorção e reatividade que serão responsáveis pela sua mobilidade no ambiente. Desta forma, torna-se necessária a análise dos diversos compartimentos do ambiente com o intuito de identificar a ocorrência destes contaminantes (BOY-ROURA *et al.*, 2018).

Além da problemática relacionada à contaminação do ambiente, a presença de antibióticos na vinhaça pode comprometer a adoção de processos para a redução da carga orgânica da vinhaça por meio da produção de biogás. Atualmente, o processo que demonstra

maior viabilidade econômica para esta tarefa é a biodigestão anaeróbia, que permitiria reduzir a carga orgânica da vinhaça, produzindo o biogás (mistura de gases contendo principalmente metano) e isso sem diminuir a capacidade nutritiva da vinhaça para o solo (ESPANA-GAMBOA *et al.*, 2011). Entretanto, a presença de antibióticos na vinhaça pode comprometer a eficiência da conversão da matéria orgânica em biogás no processo de biodigestão anaeróbia, a qual depende de um consórcio de microrganismos que podem ser inibidos com a ação dos antibióticos (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015). Desta forma, o uso de antibióticos na produção de etanol combustível e a prática da fertirrigação com vinhaça dos canaviais, como forma de reaproveitamento e destinação final deste resíduo, trazem novos riscos que requerem maior investigação com o intuito de dimensionar os impactos decorrentes destas práticas.

Entre as lacunas na literatura científica relacionadas a este tema, está a falta de estudos para a quantificação de antibióticos em vinhaça, além de solo e água subterrânea de áreas tratadas com vinhaça. Os trabalhos de analítica com vinhaça têm se restringido principalmente a determinação de sua composição/propriedade, como determinação de carbono orgânico total, nitrogênio total, enxofre total, DBO (demanda bioquímica de oxigênio), DQO (demanda química de oxigênio), sólidos em suspensão, sólidos dissolvidos, turbidez, salinidade, pH, carboidratos, aminoácidos, ácido oxálico, ácido acético, ácido lático, ácido fumárico, ácido succínico, glicerol, etanol, íons metálicos, nitratos, sulfatos, amônio entre outros (BENKE; MERMUT; CHATSON, 1998; CERÓN; AYERBE, 2013; CRESPI *et al.*, 2011; DOELSCH *et al.*, 2009; WILKIE; RIEDESEL; OWENS, 2000).

Na literatura científica é possível encontrar trabalhos de determinação de antibióticos em diversas matrizes, como carne, peixe, ovo, leite, urina, ração animal, grãos secos de destilaria (tradução literal do termo em inglês “*dried distillers grains*”), águas superficiais, efluentes, solo, sedimento, entre outros (CHA; YANG; CARLSON, 2005; CHIESA *et al.*, 2015; DASENAKI; THOMAIDIS, 2015; DE ALWIS; HELLER, 2010; DELAHAUT *et al.*, 2010; FERRER; THURMAN, 2012; GÓMEZ-PÉREZ *et al.*, 2015; SEKAR; WU, 2006; TURNIPSEED *et al.*, 2001; ZHOU *et al.*, 2012). Na maioria destes trabalhos a técnica analítica utilizada é a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS), uma ferramenta capaz de realizar análises qualitativas e quantitativas de amostras complexas com elevada seletividade e com a capacidade de alcançar limites de detecção muitas vezes inferiores a ng mL^{-1} .

Entre os antibióticos mais comumente aplicados durante o processo de fermentação etanólica estão a penicilina G, virginamicina (composta pela mistura de virginamicina M1 e

virginiamicina S1), monensina, tetraciclina e estreptomicina (HYNES *et al.*, 1997; ISLAM; TOLEDO; HAMDY, 1999; MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015; MUTHAIYAN; LIMAYEM; RICKE, 2011; OLIVA-NETO; YOKOYA, 2001), os quais foram alvo de estudo neste trabalho.

Conclusão Geral

Os estudos realizados permitiram avaliar as técnicas de extração SPE, SALLE e SPE on-line para a extração dos antibióticos em vinhaça, sendo a SPE on-line se mostrou a opção mais vantajosa devido a pouca manipulação das amostras e consequente maior frequência analítica. Com o método analítico desenvolvido foi verificada a presença de monensina em uma das amostras de vinhaça analisadas, confirmando a hipótese de que a fertirrigação com vinhaça, oriunda da produção de etanol combustível na qual foi feito o uso de antibióticos, é uma fonte de dispersão de antibióticos para no meio ambiente. As análises realizadas nas amostras de água subterrânea e solo de áreas sujeitas à fertirrigação não detectaram contaminação de antibióticos nestas amostras. Porém, a abordagem de análise de compostos suspeitos mostrou-se uma ferramenta importante para a investigação do grau de contaminação das amostras analisadas, pois foi possível obter evidências de que a agricultura moderna é a principal fonte de contaminação para as amostras de solo e água subterrânea. Os resultados obtidos nos estudos de biodigestão anaeróbia evidenciaram que o uso de antibióticos na produção de etanol combustível tem potencial para comprometer a produção de biogás em sistemas integrados de produção de etanol e de biogás por biodigestão anaeróbia da vinhaça. Desta forma, fica claro a necessidade da implementação de tecnologias alternativas ao uso de antibióticos para o controle microbiológico no processo produtivo de etanol combustível.

Referências Bibliográficas

2009/28/EC, DIRECTIVE. **DIRECTIVE 2009/28/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL.** [S. l.], 2009.

96/23/EC, Council Directive. 96/23/EC COMMISSION DECISION of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (notified under document number C(2002) 3044)(Text with EEA relevance) (2002/657/EC). **Official Journal of the European Communities**, [S. l.], p. 1–29, 2002.

AALIZADEH, Reza *et al.* Quantitative Structure-Retention Relationship Models to Support Nontarget High-Resolution Mass Spectrometric Screening of Emerging Contaminants in Environmental Samples. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [S. l.], v. 56, n. 7, p. 1384–1398, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00752>

AALIZADEH, Reza; NIKA, Maria Christina; THOMAIDIS, Nikolaos S. Development and application of retention time prediction models in the suspect and non-target screening of emerging contaminants. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 363, n. August 2018, p. 277–285, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.09.047>

AB SCIEX. **Hardware guide: 3200 QTRAP® LC/MS/MS System.** Concord, Ontário, Canadá: AB Sciex, 2011.

AHMED, O.; SULIEMAN, Abdel Moneim E.; ELHARDALLOU, Sirelkhatim B. Physicochemical, chemical and microbiological characteristics of vinasse, a by-product from ethanol industry. **American Journal of Biochemistry**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 80–83, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5923/j.ajb.20130303.03>

ALDEEK, Fadi *et al.* Identification of Penicillin G Metabolites under Various Environmental Conditions Using UHPLC-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 64, n. 31, p. 6100–6107, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b06150>

ÁLVAREZ, J. A. *et al.* The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 101, n. 22, p. 8581–8586, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.075>

ALYGIZAKIS, Nikiforos A. *et al.* Exploring the Potential of a Global Emerging Contaminant Early Warning Network through the Use of Retrospective Suspect Screening with High-Resolution Mass Spectrometry. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 52,

n. 9, p. 5135–5144, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00365>

ALYGIZAKIS, Nikiforos A. *et al.* NORMAN digital sample freezing platform: A European virtual platform to exchange liquid chromatography high resolution-mass spectrometry data and screen suspects in “digitally frozen” environmental samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 115, p. 129–137, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.008>

AMORIM, Henrique V. *et al.* Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 91, n. 5, p. 1267–1275, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3437-6>

ANASTASSIADES, MICHELANGELO; LEHOTAY, STEVEN J. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. **JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL**, [S. l.], v. 86, n. 2, p. 412–431, 2003.

ANDERSON, Collin R.; RUPP, Heidi S.; WU, Wen-Hsin. Complexities in tetracycline analysis—chemistry, matrix extraction, cleanup, and liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1075, n. 1, p. 23–32, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.04.013>. Acesso em: 21 jul. 2016.

ANDRADE-EIROA, Auréa *et al.* Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 80, p. 641–654, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.015>

ANDREU, Vicente; PICÓ, Yolanda. Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 118, p. 709–721, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.038>

ANP. **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**. [s. l.], 2019. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/arquivos/central-conteudos/anuario-estatistico/2019/2019-anuario-versao-impressao.pdf>. Acesso em: 27 mar. 2020.

ANP. **CENTRAL DE SISTEMAS ANP (CSA)**. [s. l.], 2020a. Disponível em: <http://app.anp.gov.br/anp-cpl-web/public/etanol/consulta-produtores/consulta.xhtml>. Acesso em: 12 out. 2020.

ANP. **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**. [s. l.], 2020b. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/publicacoes/anuario-estatistico/5809-anuario-estatistico-2020>. Acesso em: 12 out. 2020.

ANP. **Painel Dinâmico de Produtores de Etanol**. [s. l.], 2020c.

APHA, American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington DC: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 2005. *E-book*.

AQUINO, Sérgio F. *et al.* Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-41522007000200010>

ARIKAN, Osman A. *et al.* The fate and effect of monensin during anaerobic digestion of dairy manure under mesophilic conditions. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 1–12, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192080>

BARRERA, Cristina; BETORET, Noelia; SEGUÍ, Lucía. Phenolic profile of cane sugar derivatives exhibiting antioxidant and antibacterial properties. **Sugar Tech**, [S. l.], 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12355-020-00817-y>

BENKE, M. B.; MERMUT, A. R.; CHATSON, B. Carbon-13 CP / MAS NMR and DR-FTIR spectroscopic studies of sugarcane distillery waste. [S. l.], 1998.

BERAN, M. *et al.* Preparative reversed-phase high-performance liquid chromatography of monensin A and B sodium salts. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 268, p. 315–320, 1983. Disponível em: [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)95423-8](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(01)95423-8)

BERENDSEN, Bjorn J. A. *et al.* The assessment of selectivity in different quadrupole-orbitrap mass spectrometry acquisition modes. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 337–346, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13361-014-1021-x>

BERTOLINO, Sueli M.; CARVALHO, Cornélio F.; AQUINO, Sérgio F. Characterization and biodegradability of wastewater produced in university campus. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 271–277, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-41522008000300005>

BICALHO, Tereza; SAUER, Ildo; PATIÑO-ECHEVERRI, Dalia. Quality of data for estimating GHG emissions in biofuel regulations is unknown: A review of default values related to sugarcane and corn ethanol. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 239, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.117903>

BIEL-MAESO, Miriam; CORADA-FERNÁNDEZ, Carmen; LARA-MARTÍN, Pablo A. Determining the distribution of pharmaceutically active compounds (PhACs) in soils and sediments by pressurized hot water extraction (PHWE). **Chemosphere**, [S. l.], v. 185, p. 1001–

1010, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.094>

BIOENERGIA, Canal-Jornal da. **Produção de biogás e o setor sucroenergético**. [s. l.], 2020. Disponível em: <https://www.canalbioenergia.com.br/setor-sucroenergetico-e-a-producao-de-biogas/>. Acesso em: 21 fev. 2021.

BORDONAL, Ricardo de Oliveira *et al.* Sustainability of sugarcane production in Brazil. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, [S. l.], v. 38, n. 2, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0490-x>

BORGES, Keyller Bastos; PEREIRA, Arnaldo César; MANO, Valdir. Fundamentos do preparo de amostras. *In*: FIGUEIREDO, Eduardo Costa de; BORGES, Keyller Bastos; QUEIROZ, Maria Eugênicia C. (org.). **Preparo de Amostras para análise de compostos orgânicos**. 1. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015. p. 1–8. *E-book*.

BOY-ROURA, M. *et al.* Towards the understanding of antibiotic occurrence and transport in groundwater: Findings from the Baix Fluvià alluvial aquifer (NE Catalonia, Spain). **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 612, p. 1387–1406, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.012>

BURGESS, Richard R. Chapter 20 Protein Precipitation Techniques. *In*: BURGESS, Richard R.; DEUTSCHER, Murray P. (org.). **Guide to Protein Purification**. 2. ed. on-line: Methods in Enzymology Elsevier Inc., 2009. v. 463p. 331–342. *E-book*. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)63020-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63020-2)

CAMPER, N. D.; KIM, J. H.; RILEY, M. B. Degradation of isoxaben in soils and an aqueous system. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, [S. l.], v. 36, n. 6, p. 729–739, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1081/PFC-100107407>

CERÓN, Vanessa Zúñiga; AYERBE, MARIO ANDRÉS GANDINI. ENVIRONMENTAL CHARACTERIZATION OF STILLAGE FROM SUGAR CANE WASTE FROM THE PRODUCTION OF ETHANOL. **Dyna**, [S. l.], n. 177, p. 124–131, 2013.

CETECIOGLU, Z. *et al.* Chronic impact of tetracycline on the biodegradation of an organic substrate mixture under anaerobic conditions. **Water Research**, [S. l.], v. 47, n. 9, p. 2959–2969, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.02.053>

CETESB. **Águas subterrâneas**. [s. l.], 2019. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-subterraneas/>. Acesso em: 24 out. 2019.

CHA, J. M.; YANG, S.; CARLSON, K. H. Rapid analysis of trace levels of antibiotic polyether ionophores in surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography

with ion trap tandem mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1065, n. 2, p. 187–198, 2005. Disponível em: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2004.12.091>

CHAMBERS, Matthew C. *et al.* A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. **Nature Biotechnology**, [S. l.], v. 30, n. 10, p. 918–920, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nbt.2377>

CHEMICALBOOK. **No Title**. [S. l.], 2020. Disponível em: https://www.chemicalbook.com/ProductIndex_EN.aspx. Acesso em: 18 maio. 2020.

CHEMSPIDER. **Royal Society of Chemistry**. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.chemspider.com/>. Acesso em: 18 maio. 2020.

CHIESA, Luca *et al.* Determination of veterinary antibiotics in bovine urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food chemistry**, [S. l.], v. 185, p. 7–15, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.098>. Acesso em: 7 nov. 2015.

CHITESCU, Carmen Lidia *et al.* Ultrasonic or accelerated solvent extraction followed by U-HPLC-high mass accuracy MS for screening of pharmaceuticals and fungicides in soil and plant samples. **Talanta**, [S. l.], v. 88, p. 653–662, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.054>

CHRISTOFOLETTI, Cintya Aparecida *et al.* Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, [S. l.], v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.09.005>

CHU, Libing *et al.* Degradation of antibiotics and inactivation of antibiotic resistance genes (ARGs) in Cephalosporin C fermentation residues using ionizing radiation, ozonation and thermal treatment. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 382, n. May 2019, p. 121058, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121058>

COLLINS, Carol H. Princípios básicos de cromatografia. *In*: COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S. (org.). **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1997. p. 11–26. *E-book*.

COLLINS, Carol H. I. Michael Tswett e o “nascimento” da Cromatografia. **Scientia Chromatographica**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 7–20, 2009. Disponível em: <http://iicweb.org/scientiachromatographica/v1n1a1/>

CONAB. Cana-de-açúcar: Acompanhamento da safra brasileira. **Companhia Nacional de Abastecimento**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 64, 2020.

CRESPI, Marisa S. *et al.* Characterization and thermal behavior of residues from

industrial sugarcane processing. **JOURNAL OF THERMAL ANALYSIS AND CALORIMETRY**, VAN GODEWIJCKSTRAAT 30, 3311 GZ DORDRECHT, NETHERLANDS, v. 106, n. 3, p. 753–757, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1397-9>

DASENAKI, Marilena E.; THOMAIDIS, Nikolaos S. Multi-residue determination of 115 veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, [S. l.], v. 880, p. 103–121, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.04.013>. Acesso em: 2 nov. 2015.

DE ALWIS, Hemakanthi; HELLER, David N. Multiclass, multiresidue method for the detection of antibiotic residues in distillers grains by liquid chromatography and ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography A**, [S. l.], v. 1217, n. 18, p. 3076–3084, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.081>. Acesso em: 2 nov. 2015.

DE OLIVA-NETO, Pedro *et al.* The Brazilian technology of fuel ethanol fermentation – yeast inhibition factors and new perspectives to improve the technology. **Formatex**, [S. l.], p. 371–379, 2013.

DE SOUZA DIAS, Marina Oliveira *et al.* Sugarcane processing for ethanol and sugar in Brazil. **Environmental Development**, [S. l.], v. 15, p. 35–51, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2015.03.004>

DELAHAUT, Ph. *et al.* Multi-residue method for detecting coccidiostats at carry-over level in feed by HPLC–MS/MS. **Food Additives & Contaminants: Part A**, [S. l.], v. 27, n. 6, p. 801–809, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19440040903552408>

DOELSCH, Emmanuel *et al.* Spectroscopic characterization of organic matter of a soil and vinasse mixture during aerobic or anaerobic incubation. **Waste Management**, [S. l.], v. 29, n. 6, p. 1929–1935, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.12.009>

DORES, Eliana F. G. C. *et al.* Multiresidue determination of herbicides in environmental waters from Primavera do Leste region (Middle West of Brazil) by SPE-GC-NPD. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 17, n. 5, p. 866–873, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000500008>

DUELGE, Kaleb J.; NISHSHANKA, Upul; DE ALWIS, Hemakanthi G. An LC–MS/MS method for the determination of antibiotic residues in distillers grains. **Journal of Chromatography B**, [S. l.], v. 1053, p. 81–86, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.03.037>. Acesso em: 8 maio. 2017.

ESPANA-GAMBOA, E. *et al.* Vinasses: characterization and treatments. **Waste Management & Research**, [S. l.], v. 29, n. 12, p. 1235–1250, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0734242X10387313>

EUGÊNIA, Maria; QUEIROZ, Costa. Cromatografia Líquida no modo Column Switching para Bioanálises. **Scientia Chromatographica**, [S. l.], v. 9, p. 73–82, 2017.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION (CEN). **Foods of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - Modular QuEChERS-method (CEN - EN 15662)**. Brussels, Belgium: [s. n.], 2018.

FACETTI, Juan Francisco *et al.* Methyl tert-butyl ether (MtBE) in deep wells of the Patiño Aquifer, Paraguay: A preliminary characterization. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 647, p. 1640–1650, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.062>

FERRER, Imma; THURMAN, E. Michael. Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1259, p. 148–157, 2012. Disponível em: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.03.059>

FU, Qiuguo *et al.* Meta-analysis of biosolid effects on persistence of triclosan and triclocarban in soil. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 210, p. 137–144, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.003>

FUESS, Lucas T.; RODRIGUES, Isabella J.; GARCIA, Marcelo L. Fertirrigation with sugarcane vinasse: Foreseeing potential impacts on soil and water resources through vinasse characterization. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, [S. l.], v. 52, n. 11, p. 1063–1072, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1338892>

FUESS, Lucas Tadeu; GARCIA, Marcelo Loureiro. Implications of stillage land disposal: A critical review on the impacts of fertigation. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 145, p. 210–229, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.07.003>

FUESS, Lucas Tadeu; GARCIA, Marcelo Loureiro. Bioenergy from stillage anaerobic digestion to enhance the energy balance ratio of ethanol production. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 162, p. 102–114, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.046>. Acesso em: 6 out. 2015.

GAGO-FERRERO, Pablo *et al.* Extended Suspect and Non-Target Strategies to Characterize Emerging Polar Organic Contaminants in Raw Wastewater with LC-HRMS/MS. **Environmental Science & Technology**, [S. l.], v. 49, n. 20, p. 12333–12341, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03454>

GAGO-FERRERO, Pablo *et al.* Suspect Screening and Regulatory Databases: A Powerful Combination To Identify Emerging Micropollutants. **Environmental Science & Technology**, [S. l.], v. 52, n. 12, p. 6881–6894, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b06598>

GAGO-FERRERO, Pablo *et al.* Wide-scope target screening of >2000 emerging contaminants in wastewater samples with UPLC-Q-ToF-HRMS/MS and smart evaluation of its performance through the validation of 195 selected representative analytes. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 387, n. July 2019, p. 121712, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121712>

GARCÍA-GALÁN, Ma Jesús *et al.* Simultaneous occurrence of nitrates and sulfonamide antibiotics in two ground water bodies of Catalonia (Spain). **Journal of Hydrology**, [S. l.], v. 383, n. 1–2, p. 93–101, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2009.06.042>

GARCÍA-GALÁN, María Jesús; DÍAZ-CRUZ, Silvia; BARCELÓ, Damià. 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**, [S. l.], v. 1275, p. 32–40, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.12.004>

GARTISER, Stefan *et al.* Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes. **Chemosphere**, [S. l.], v. 66, n. 10, p. 1839–1848, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.08.040>

GÓMEZ-PÉREZ, María Luz *et al.* Analysis of veterinary drug and pesticide residues in animal feed by high-resolution mass spectrometry: comparison between time-of-flight and Orbitrap. **Food Additives & Contaminants: Part A**, [S. l.], v. 32, n. 10, p. 1637–1646, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1023742>

GÓMEZ-RÍOS, David *et al.* Degradation kinetics of clavulanic acid in fermentation broths at low temperatures. **Antibiotics**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 12–16, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics8010006>

GOMORI, G. [16] Preparation of buffers for use in enzyme studies. *In*: **Methods in**

Enzymology. [S. l.: s. n.]. v. 1p. 138–146. *E-book*. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01020-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01020-3)

GONÇALVES, Carlos M.; DA SILVA, Joaquim C. G. Esteve.; ALPENDURADA, Maria F. Evaluation of the pesticide contamination of groundwater sampled over two years from a vulnerable zone in Portugal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 55, n. 15, p. 6227–6235, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf063663u>

GONZÁLEZ, Luis; MEJÍA, Miguel. Impact of Ferti-Irrigation with Vinasse on Groundwater Quality. **Irrigation and Drainage**, [S. l.], v. 64, n. 3, p. 400–407, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ird.1873>

GRECCO, Caroline Fernandes *et al.* Extração líquido-líquido assistida pelo efeito salting out para análise de amostras biológicas. **Scientia Chromatographica**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 99–110, 2018. Disponível em: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5935/sc.2018.006>

GROS, Meritxell *et al.* Veterinary pharmaceuticals and antibiotics in manure and slurry and their fate in amended agricultural soils: Findings from an experimental field site (Baix Empordà, NE Catalonia). **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 654, p. 1337–1349, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.061>

GROS, Meritxell; RODRÍGUEZ-MOZAZ, Sara; BARCELÓ, Damià. Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1292, p. 173–188, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.12.072>

GROSS, Jürgen H. **Mass Spectrometry**. 3. ed. Cham: Springer International Publishing, 2017. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-54398-7>

GURMESSA, Biyensa *et al.* Manure anaerobic digestion effects and the role of pre- and post-treatments on veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes removal efficiency. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 721, p. 137532, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137532>. Acesso em: 7 out. 2020.

GUSMAROLI, Lucia; INSA, Sara; PETROVIC, Mira. Development of an online SPE-UHPLC-MS/MS method for the multiresidue analysis of the 17 compounds from the EU “Watch list”. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 410, n. 17, p. 4165–4176, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1069-8>

HEUER, Holger; SCHMITT, Heike; SMALLA, Kornelia. Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. **Current Opinion in Microbiology**,

[S. l.], v. 14, n. 3, p. 236–243, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.009>

HOFF, Rodrigo Barcello *et al.* Residues of antibiotics in yeasts from ethanol production: a possible contamination route for feedingstuffs. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, [S. l.], v. 0, n. 0, p. 1–6, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03601234.2021.1880223>

HOFF, Rodrigo Barcellos; PIZZOLATO, Tânia Mara. Combining extraction and purification steps in sample preparation for environmental matrices: A review of matrix solid phase dispersion (MSPD) and pressurized liquid extraction (PLE) applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 109, p. 83–96, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.002>

HOLČAPEK, Michal; JIRÁSKO, Robert; LÍSA, Miroslav. Recent developments in liquid chromatography–mass spectrometry and related techniques. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1259, p. 3–15, 2012. Disponível em: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.072>

HOLLENDER, Juliane *et al.* High resolution mass spectrometry-based non-target screening can support regulatory environmental monitoring and chemicals management. **Environmental Sciences Europe**, [S. l.], v. 31, n. 1, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0225-x>

HUSSAIN, Athar; DUBEY, Shashi Kant. Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. **Applied Water Science**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 535–542, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0305-z>

HYNES, S. H. *et al.* Use of virginiamycin to control the growth of lactic acid bacteria during alcohol fermentation. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 284–291, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900381>

IAMANAKA, Beatriz Thie *et al.* *Aspergillus* section *Flavi* diversity and the role of *A. novoparasiticus* in aflatoxin contamination in the sugarcane production chain. **International Journal of Food Microbiology**, [S. l.], v. 293, n. December 2018, p. 17–23, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.024>

ISLAM, M.; TOLEDO, R.; HAMDY, M. .. Stability of virginiamycin and penicillin during alcohol fermentation. **Biomass and Bioenergy**, [S. l.], v. 17, n. 5, p. 369–376, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(99\)00052-5](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(99)00052-5). Acesso em: 27 out. 2015.

JAKIMSKA, A.; KOT-WASIK, A.; NAMIEŚNIK, J. The Current State-of-the-Art in the Determination of Pharmaceutical Residues in Environmental Matrices Using Hyphenated

Techniques. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 44, n. 3, p. 277–298, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408347.2013.835244>

JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 13–25, 2010.

JELIĆ, Aleksandra; PETROVIĆ, Mira; BARCELÓ, Damià. Multi-residue method for trace level determination of pharmaceuticals in solid samples using pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. **Talanta**, [S. l.], v. 80, n. 1, p. 363–371, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.06.077>

JIANG, Ze Pu *et al.* Effect of Long-Term Vinasse Application on Physico-chemical Properties of Sugarcane Field Soils. **Sugar Tech**, [S. l.], v. 14, n. 4, p. 412–417, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12355-012-0174-9>

KATAOKA, Hiroyuki; SAITO, Keita. Recent advances in column switching sample preparation in bioanalysis. **Bioanalysis**, [S. l.], v. 4, n. 7, p. 809–832, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.4155/bio.12.28>

KIM, Chansik *et al.* A review of analytical procedures for the simultaneous determination of medically important veterinary antibiotics in environmental water: Sample preparation, liquid chromatography, and mass spectrometry. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 217, p. 629–645, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.006>

KIM, Leesun *et al.* Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 22, p. e00063, 2019 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00063>

KIM, Sunghwan *et al.* PubChem 2019 update: Improved access to chemical data. **Nucleic Acids Research**, [S. l.], v. 47, n. D1, p. D1102–D1109, 2019 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>

KOSTIAINEN, Risto; KAUPPILA, Tiina J. Effect of eluent on the ionization process in liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1216, n. 4, p. 685–699, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.08.095>

KURODA, Keisuke *et al.* Assessment of groundwater pollution in Tokyo using PPCPs as sewage markers. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 46, n. 3, p. 1455–1464,

2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es202059g>

LAIQ UR REHMAN, Mian *et al.* Anaerobic digestion. **Water Environment Research**, [S. l.], v. 91, n. 10, p. 1253–1271, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/wer.1219>

LANÇAS, Fernando Mauro. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 35–61, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.4322/sc.2013.005>

LEHOTAY, S. J. *et al.* Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, [S. l.], v. 90, n. 2, p. 485–520, 2007. Disponível em: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-34250304405&partnerID=40&md5=f9135368aa896c497d83ef352c262608>

LEWIS, J. A.; SNYDER, L. R.; DOLAN, J. W. Initial experiments in high-performance liquid chromatographic method development II. Recommended approach and conditions for isocratic separation. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 721, n. 1, p. 15–29, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00771-7](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00771-7). Acesso em: 5 ago. 2016.

LEWIS, Kathleen A. *et al.* An international database for pesticide risk assessments and management. **Human and Ecological Risk Assessment**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 1050–1064, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>

LIMA GOMES, Paulo C. F. *et al.* Rapid determination of 12 antibiotics and caffeine in sewage and bioreactor effluent by online column-switching liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 407, n. 29, p. 8787–8801, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9038-y>

MALDANER, Liane; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel C. S. F. Fases estacionárias modernas para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. **Química Nova**, [S. l.], v. 33, n. 7, p. 1559–1568, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000700024>. Acesso em: 13 jan. 2017.

MARTI, Elisabet; VARIATZA, Eleni; BALCAZAR, Jose Luis. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. **Trends in Microbiology**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 36–41, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.11.001>

MARTÍNEZ-PIERNAS, A. B. *et al.* Determination of organic microcontaminants in agricultural soils irrigated with reclaimed wastewater: Target and suspect approaches. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 1030, p. 115–124, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.05.049>

MASSÉ, D. I. *et al.* Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 75, n. 3, p. 205–211, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00046-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00046-8)

MATTHIESSEN, Line *et al.* Increased momentum in antimicrobial resistance research. **The Lancet**, [S. l.], v. 388, n. 10047, p. 865, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31425-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31425-8)

MATUSZEWSKI, B. K.; CONSTANZER, M. L.; CHAVEZ-ENG, C. M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. **Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 75, n. 13, p. 3019–3030, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac020361s>

MCNAIR, Harold M.; MILLER, James M. Introduction. In: **BASIC GAS CHROMATOGRAPHY**. 2. ed. Hoboken, USA: Wiley, 2009. p. 1–13. *E-book*.

MILHOME, M. A. L. *et al.* Influence the use of pesticides in the quality of surface and groundwater located in irrigated areas. **Int. J. Environ. Res**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 255–262, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcp.25016>

MORAES, Bruna S. *et al.* Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy , environmental , and economic perspectives : Profit or expense ? **Applied Energy**, [S. l.], v. 113, p. 825–835, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.07.018>

MORAES, Bruna S.; ZAIAT, Marcelo; BONOMI, Antonio. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 44, p. 888–903, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.023>

MORENO-GONZÁLEZ, David *et al.* Validation of a new method based on salting-out assisted liquid-liquid extraction and UHPLC-MS/MS for the determination of betalactam antibiotics in infant dairy products. **Talanta**, [S. l.], v. 167, n. February, p. 493–498, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.02.045>

MORENO-GONZÁLEZ, David; GARCÍA-CAMPAÑA, Ana M. Salting-out assisted liquid–liquid extraction coupled to ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of tetracycline residues in infant foods. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 221, p. 1763–1769, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.107>. Acesso em: 23 nov. 2017.

MUTHAIYAN, Arunachalam; LIMAYEM, Alya; RICKE, Steven C. Antimicrobial

strategies for limiting bacterial contaminants in fuel bioethanol fermentations. **Progress in Energy and Combustion Science**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 351–370, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2010.06.005>. Acesso em: 13 mar. 2015.

NASCIMENTO, Diana. **Do vinho para o etanol**. [s. l.], 2015. Disponível em: <https://www.jallesmachado.com/pt/novidades/10410>. Acesso em: 5 jul. 2020.

NOGUEIRA, Lah *et al.* **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. [S. l.: s. n.]. *E-book*. Disponível em: http://www.cgee.org.br/publicacoes/conferencia_bioetanol.php

OBERACHER, Herbert *et al.* A European proposal for quality control and quality assurance of tandem mass spectral libraries. **Environmental Sciences Europe**, [S. l.], v. 32, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00314-9>

OLIVA-NETO, Pedro de; YOKOYA, Fumio. Susceptibility of *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria from the alcohol industry to several antimicrobial compounds. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 10–14, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822001000100003>. Acesso em: 27 out. 2015.

OLIVEIRA, Bruna Gonçalves De *et al.* Soil greenhouse gas fluxes from vinasse application in Brazilian sugarcane areas. **Geoderma**, [S. l.], v. 200–201, p. 77–84, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.02.005>

OLIVEIRA, Bruna Gonçalves De *et al.* Greenhouse gas emissions from sugarcane vinasse transportation by open channel: A case study in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 94, p. 102–107, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.02.025>

OLIVEIRA, Marcos de. **Alternative vinasse**. [s. l.], 2011. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/en/2011/08/01/alternative-vinasse-2/>. Acesso em: 9 abr. 2020.

OSTRY, Vladimir; MALIR, Frantisek; RUPRICH, Jiri. Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. **Toxins**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 1574–1586, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins5091574>

PAN, Hong Wei *et al.* Levels and distributions of organochlorine pesticides in the soil–groundwater system of vegetable planting area in Tianjin City, Northern China. **Environmental Geochemistry and Health**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 417–429, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10653-016-9899-9>

PENA, Angelina *et al.* Determination of tetracycline and its major degradation products by chemiluminescence. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 405, n. 1–2, p. 51–56, 2000.

Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00668-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00668-6)

PETRIE, Bruce; BARDEN, Ruth; KASPRZYK-HORDERN, Barbara. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, [S. l.], v. 72, p. 3–27, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>. Acesso em: 28 ago. 2014.

PETROVIC, Mira. Methodological challenges of multi-residue analysis of pharmaceuticals in environmental samples. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 1, p. e25–e33, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.teac.2013.11.004>

PHENOMENEX. **Fact: Strata-X outperforms Oasis HLB**. [s. l.], 2010. Disponível em: <https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/e62d67d8-eef5-42f0-b829-4e188661ab57.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2021.

POLSON, Cara *et al.* Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect in liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, [S. l.], v. 785, n. 2, p. 263–275, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00914-5](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00914-5)

POPOVA, Inna E.; MORRA, Matthew J.; PARIKH, Sanjai J. Pressurized liquid extraction of six tetracyclines from agricultural soils. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, [S. l.], v. 54, n. 1, p. 35–40, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1530547>

RASHID, A. *et al.* Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1217, n. 17, p. 2933–2939, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.060>

REAL QUÍMICA. **Controle das bactérias**. [s. l.], 2021. Disponível em: <http://www.quimicareal.com.br/qrhp/produtos/abrir/1>. Acesso em: 21 fev. 2021.

RIBAS, Maria Magdalena Ferreira *et al.* Microbial succession within an Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor (ASBBR) treating cane vinasse at 55°C. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. l.], v. 52, n. August, p. 1027–1036, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000400028>

RICHARDSON, Susan D.; KIMURA, Susana Y. Water analysis: Emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 92, n. 1, p. 473–505, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05269>

RÍOS LEAL, Elvira; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, Refugio; GALINDO, Tomás. Separation of phenolic compounds from sugarcane bagasse pith and their determination by hplc. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 369–382, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02773819408003103>

RODRIGUEZ-MOZAZ, Sara *et al.* Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. **Water Research**, [S. l.], v. 69, p. 234–242, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.021>

ROSSI, David T.; ZHANG, Nanyan. Automating solid-phase extraction: current aspects and future prospects. [S. l.], v. 885, p. 97–113, 2000.

SÁ, Lívian R. Vasconcelos de; CAMMAROTA, Magali C.; FERREIRA-LEITÃO, Viridiana S. Produção de hidrogênio via fermentação anaeróbia - aspectos gerais e possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais brasileiros. **Química Nova**, [S. l.], v. 388, p. 539–547, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140138>

SADEGHINEZHAD, Emad *et al.* Sustainability and environmental impact of ethanol as a biofuel. **REVIEWS IN CHEMICAL ENGINEERING**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 51–72, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/revce-2013-0024>

SANTOS, H. G. dos *et al.* **O novo mapa de solos do Brasil: legenda atualizada**. [S. l.], 2011. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/920267>. Acesso em: 7 maio. 2020.

SANZ, J. L. *et al.* The action of antibiotics on the anaerobic digestion process. **APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY**, 175 FIFTH AVE, NEW YORK, NY 10010, v. 46, n. 5–6, p. 587–592, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s002530050865>

SCHEEL, Guilherme Luiz; TEIXEIRA TARLEY, César Ricardo. Simultaneous microextraction of carbendazim, fipronil and picoxystrobin in naturally and artificial occurring water bodies by water-induced supramolecular solvent and determination by HPLC-DAD. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], v. 297, p. 111897, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111897>

SCHYMANSKI, Emma L. *et al.* Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence. **Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 48, n. 4, p. 2097–2098, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es5002105>

SEIFRTOVÁ, Marcela *et al.* An overview of analytical methodologies for the

determination of antibiotics in environmental waters. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 649, n. 2, p. 158–179, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.07.031>

SEKAR, Ramaiyan; WU, Hui-Fen. Quantitative Method for Analysis of Monensin in Soil, Water, and Urine by Direct Combination of Single-Drop Microextraction with Atmospheric Pressure Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 78, n. 18, p. 6306–6313, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac060123n>

SHARMA, Bhavisha *et al.* Agricultural utilization of biosolids: A review on potential effects on soil and plant grown. **Waste Management**, [S. l.], v. 64, p. 117–132, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.03.002>

SHARMA, Bhavisha *et al.* Recycling of Organic Wastes in Agriculture: An Environmental Perspective. **International Journal of Environmental Research**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 409–429, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s41742-019-00175-y>

SILVA, Carla Grazieli Azevedo da; COLLINS, Carol H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, [S. l.], v. 34, n. 4, p. 665–676, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000400020>. Acesso em: 21 ago. 2017.

SILVA, Josué J. *et al.* Aflatoxins in sugarcane production chain: what could be the source? **Current Opinion in Food Science**, [S. l.], v. 29, p. 94–98, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.08.010>

SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; DOLAN, J. W. Detection. *In: Introduction to modern liquid chromatography*. 3. ed. Hoboken, USA: [s. n.], 2010 a. p. 147–198. *E-book*.

SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; DOLAN, John W. Introduction. *In: Introduction to modern liquid chromatography*. 3. ed. Hoboken, USA: Wiley, 2010 b. p. 1–18. *E-book*.

SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; DOLAN, John W. Basic concepts and the control of separation. *In: Introduction to modern liquid chromatography*. 3 ed ed. Hoboken: Wiley, 2010 c. p. 20–86. *E-book*.

SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; DOLAN, John W. Normal-phase chromatography. *In: Introduction to modern liquid chromatography*. 3. ed. Hoboken, USA: [s. n.], 2010 d. p. 361–402. *E-book*.

SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; DOLAN, John W. Reversed-phase

chromatography for neutral samples. *In: Introduction to modern liquid chromatography*. 3. ed. Hoboken, USA: [s. n.], 2010 e. p. 253–302. *E-book*.

SPIRITO, Catherine M. *et al.* Redundancy in anaerobic digestion microbiomes during disturbances by the antibiotic monensin. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 84, n. 9, p. 1–18, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.02692-17>

SULEIMAN, Afnan Khalil Ahmad *et al.* Recycling organic residues in agriculture impacts soil-borne microbial community structure, function and N₂O emissions. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 631–632, p. 1089–1099, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.116>

SUPELCO. **Solid Phase Extraction Products**. [s. l.], [s. d.]. Disponível em: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/General_Information/t402150.pdf. Acesso em: 14 jan. 2021.

SVAHN, Ola; BJÖRKLUND, Erland. Thermal stability assessment of antibiotics in moderate temperature and subcritical water using a pressurized dynamic flow-through system. **International Journal of Innovation and Applied Studies**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 872–880, 2015.

THAVEESRI, J.; BOUCNEAU, G.; VERSTRAETE, W. Effect of monensin on UASB-reactor performance. **Environmental Technology**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 491–496, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09593339409385454>

TURNIPSEED, S. B. *et al.* LC/MS confirmation of ionophores in animal feeds. **Journal of AOAC International**, [S. l.], v. 84, n. 3, p. 640–647, 2001. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0035347343&partnerID=40&md5=18205ca391bb850d5889b8a9e1be17e7>

VALENTE, Inês Maria; GONÇALVES, Luís Moreira; RODRIGUES, José António. Another glimpse over the salting-out assisted liquid–liquid extraction in acetonitrile/water mixtures. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1308, p. 58–62, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.08.014>

VALSECCHI, Sara *et al.* On-line sample extraction and purification for the LC-MS determination of emerging contaminants in environmental samples. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 8, p. 27–37, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.teac.2015.08.001>

VAREL, V. H. *et al.* Effect of anaerobic digestion temperature on odour, coliforms and chlortetracycline in swine manure or monensin in cattle manure. **Journal of Applied**

Microbiology, [S. l.], v. 112, n. 4, p. 705–715, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05250.x>

VESSECCHI, Ricardo *et al.* **Nomenclaturas de espectrometria de massas em língua portuguesa**. [S. l.]: scielo, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422011001000025

WALTER, Audrey L. *et al.* Virginiamycin Thermal Degradation Kinetics in a Model Matrix Simulating Distillation Conditions within a Commercial Fuel Ethanol Production Facility. **Food and Bioproducts Processing**, [S. l.], v. 120, p. 1–7, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.12.003>

WATERS CORPORATION. **Hlb Product and Generic Method Information**. [s. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/oasis10-11.pdf>. Acesso em: 3 maio. 2018.

WILKIE, Ann C.; RIEDESEL, Kelly J.; OWENS, John M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 63–102, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(00\)00017-9](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(00)00017-9). Acesso em: 4 maio. 2015.

WISHART, David S. *et al.* HMDB 4.0: The human metabolome database for 2018. **Nucleic Acids Research**, [S. l.], v. 46, n. D1, p. D608–D617, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1089>

XIAO, Leilei *et al.* **Effect of Antibiotics on the Microbial Efficiency of Anaerobic Digestion of Wastewater: A Review**. [S. l.: s. n.] Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.611613>

XU, Mingfei *et al.* Simultaneous determination of florfenicol with its metabolite based on modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe sample pretreatment and evaluation of their degradation behavior in agricultural soils. **Journal of Separation Science**, [S. l.], v. 38, n. 2, p. 211–217, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jssc.201400919>

ZHANG, Jun *et al.* Salting-out assisted liquid/liquid extraction with acetonitrile: A new high throughput sample preparation technique for good laboratory practice bioanalysis using liquid chromatography-mass spectrometry. **Biomedical Chromatography**, [S. l.], v. 23, n. 4, p. 419–425, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/bmc.1135>

ZHANG, Quanguo; HU, Jianjun; LEE, Duu-Jong. Biogas from anaerobic digestion processes: Research updates. **Renewable Energy**, [S. l.], v. 98, p. 108–119, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.02.029>. Acesso em: 24 jan. 2017.

ZHANG, Wei. Fluorocarbon stationary phases for liquid chromatography applications. **Journal of Fluorine Chemistry**, [S. l.], v. 129, n. 10, p. 910–919, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2008.07.001>

ZHANG, Zhaohan *et al.* Enhancing anaerobic digestion and methane production of tetracycline wastewater in EGSB reactor with GAC/NZVI mediator. **Water Research**, [S. l.], v. 136, p. 54–63, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.025>

ZHOU, Li-Jun *et al.* Simultaneous determination of human and veterinary antibiotics in various environmental matrices by rapid resolution liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1244, p. 123–138, 2012. Disponível em: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.04.076>

ZHU, Zhou *et al.* Development of a Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometric Method for Simultaneous Determination of 15 Aminoglycoside Residues in Porcine Tissues. **Food Analytical Methods**, [S. l.], v. 9, n. 9, p. 2587–2599, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0446-1>